

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

**Composição volátil das uvas ao espumante da cv. Chardonnay
em diferentes condições de manejo no sul de Minas Gerais (Brasil)**

Naíssa Prévide Bernardo

Tese para obtenção do Título de
DOUTOR EM CIÊNCIAS

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Purgatto
Co-orientadora: Profa. Dra. Renata Vieira da Mota

São Paulo
2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

**Composição volátil das uvas ao espumante da cv. Chardonnay
em diferentes condições de manejo no sul de Minas Gerais (Brasil)**

Naíssa Prévide Bernardo

Versão Corrigida

Tese para obtenção do Título de
DOUTOR EM CIÊNCIAS

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Purgatto
Co-orientadora: Profa. Dra. Renata Vieira da Mota

São Paulo
2021

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

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

B518c Bernardo, Naissa Prévide
Composição volátil das uvas ao espumante da cv. Chardonnay em diferentes condições de manejo no sul de Minas Gerais (Brasil) / Naissa Prévide Bernardo. - São Paulo, 2021.
169 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Orientador: Purgatto, Eduardo
Coorientador: Mota, Renata Vieira da

1. Ciência dos alimentos. 2. Compostos voláteis. 3. Metabolismo secundário. 4. Ciência agrária. I. T. II. Purgatto, Eduardo, orientador. III. Mota, Renata Vieira da, coorientador.

Naïssa Prévêde Bernardo

Composição volátil das uvas ao espumante da cv. Chardonnay
em diferentes condições de manejo no sul de Minas Gerais (Brasil)

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Orientador

1º Examinador

2º Examinador

3º Examinador

4º Examinador

São Paulo, _____, 2021



**Às renovações ...
Aos meus pais
e irmã!**

NPB

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Roberto e Maria Angélica, por me apoiarem, incentivarem e entenderem as minhas ausências que foram bem mais frequentes, principalmente na última etapa.

Ao Prof. Eduardo, pela orientação, acolhimento, disposição em me ensinar e encorajar a buscar conhecimento nessa área de pesquisa e ao desenvolvimento de novas ideias e perspectivas.

À Profa. Renata Mota, pela coorientação, ensinamentos passados e contribuição para o meu aprendizado. Ademais, pela oportunidade de participar do Informe Agropecuário e por ter aberto as portas da EPAMIG-Caldas para o desenvolvimento desse projeto.

À minha irmã e ao meu cunhado, Isadora e Bruno, por me acolherem em Poços de Caldas durante as minhas idas e vindas a Caldas.

Às técnicas do laboratório, Aline e Tânia, sou muito grata por toda a ajuda, bem como agradeço aos professores e ao pessoal da secretaria do Departamento de Alimentos.

À toda a equipe da EPAMIG-Caldas, pesquisadores, funcionários e estagiários, por me receberem e pela disposição em explicar os processos e transmitir os conhecimentos. Gratidão ao Francisco Câmara, à Isabela Peregrino, à Dona Isa, à Cláudia Souza e ao Murillo.

Aos colegas e amigos do LQBQ, que estão no laboratório ou que já seguiram outros caminhos: muito obrigada pelos ensinamentos e ajuda, Eric, Florença, Hilton, Laís, Letícia, Lucas, Paola e Sílvia.

Aos professores Beatriz Cordenunsi, Inar Castro, João Carlos de Carvalho, Fábio Lenk e Isabel Massaretto, pelas generosas contribuições nas bancas de ingresso e no exame de qualificação.

Ao amigo Alessandro Pádua pelas aulas avançadas em Excel, me ensinando a transformar as tabelas em banco de dados.

Aos pesquisadores, professores, estudiosos, conhecedores dos mundos da viticultura e enologia, e aos locais vitivinícolas visitados ao longo da jornada. Obrigada, Gracias, Thank you, Grazie, Danke, Merci.

Gracias Prof. Juan del Aguila pela oportunidade em apresentar a palestra aos seus alunos e por me permitir participar das demais.

À amiga Kelly Isler, que mesmo em outro continente está bem perto, obrigada pelas conversas, risadas e incentivos. Aos amigos Cleide, Raphael e Angel, agradeço pelo apoio.

Às minhas tias Nair e Eunice, obrigada pelo exemplo de força e garra.

Aos supervisores da Farmacopeia Americana por flexibilizarem meu horário de trabalho para o cumprimento das atividades da pós-graduação. Aos colegas, em especial a Ana Cris, por me apresentar o departamento de Alimentos.

À Fapesp e à FAPEMIG, pelo apoio às estruturas de laboratório e dos vinhedos implantados para a realização desse trabalho.

**“É o tempo da travessia e, se não ousarmos fazê-la,
teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.”**

Fernando Teixeira de Andrade

RESUMO

BERNARDO, Naíssa Prévide. **Composição volátil das uvas ao espumante da cv. Chardonnay em diferentes condições de manejo no sul de Minas Gerais (Brasil)**. 2021. 169p. Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos – Área: Bromatologia) – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental – FCF, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

O aroma é um dos fatores mais importantes na determinação da qualidade e do caráter do vinho. Isso se deve à presença de compostos voláteis que estão associados às suas características organolépticas ou diferentes proporções entre estes compostos que podem ser influenciadas por fatores vitícolas (clima, solo, cultivar, manejo) e enológicos (maturação da uva, fermentação, tratamentos pós-fermentativos). A região do sul de Minas Gerais vem se destacando na produção de espumantes de qualidade, e, nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo conhecer a influência do manejo da videira no desenvolvimento do aroma, da baga até o espumante, a fim de estabelecer associações com a qualidade do produto final. Os experimentos foram realizados com a cultivar Chardonnay em diferentes condições de manejo, em que foram avaliados clones, porta-enxertos, sistemas de condução e densidades de plantio. Foram analisados os compostos voláteis livres por HS-SPME/GC-MS das bagas, mostos, vinhos base e espumantes nas safras 2016, 2017 e 2018. O trabalho foi dividido em quatro partes para a apresentação dos resultados. A primeira consistiu em verificar a influência do material genético na composição volátil da cv. Chardonnay com os experimentos de clones e porta-enxertos; a segunda parte avaliou a composição volátil do clone 809 até o espumante; a terceira, em analisar as vinificações dos diferentes sistemas de condução; e a quarta, em avaliar a evolução dos compostos voláteis da baga ao espumante e analisar os aromas que as densidades de plantio podem conferir ao espumante. As principais classes de compostos aromáticos identificados nas matrizes foram: C6-C9 aldeídos, álcoois superiores, aldeídos ramificados, benzenoides, monoterpenoides, norisoprenoides, sesquiterpenoides, cetonas e ácidos graxos. Os resultados mostraram que os clones e os porta-enxertos apresentaram perfis voláteis diferentes, indicando que a variabilidade entre os clones e que a enxertia têm influência no metabolismo da baga; o clone 809 apresenta maior abundância de compostos monoterpenoides, confirmando o seu caráter moscato, das uvas aos espumantes; os diferentes sistemas de condução e densidades de plantio alteram o metabolismo da

baga, refletindo no perfil volátil dos espumantes nas safras estudadas. Dessa forma, os dados indicam que a composição volátil sofre influência do manejo da videira ao espumante.

Palavras-chave: *Vitis vinifera*. Aroma. HS-SPME. GC-MS. Vinho. Baga. Sistema de Condução. Densidade. Clone. Porta-enxerto.

ABSTRACT

BERNARDO, Naíssa Prévêde. **Volatile composition from grapes to sparkling wine of Chardonnay vine in different management conditions in southern of Minas Gerais (Brazil)**. 2021. 169p. Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos – Área: Bromatologia) – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental – FCF, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Aroma is one of the most important factors in determining the quality and character of wine. This is due to the presence of volatile compounds that are associated with their organoleptic characteristics or different proportions among these compounds that can be influenced by viticultural (climate, soil, cultivar, management) and oenological factors (grape maturation, fermentation, post fermentation treatments). The southern region of Minas Gerais has been standing out in the production of quality sparkling wines, and in this context, the purpose of the present work was to learn about the influence of grapevine management on the development of aroma, from berry to sparkling wine, in order to establish associations with the quality of the final product. The experiments were carried out with the Chardonnay cultivar under different management conditions, in which clones, rootstocks, trellising systems and planting densities were evaluated. The free volatile compounds by HS-SPME/GC-MS of the berries, musts, base and sparkling wines in the 2016, 2017 and 2018 harvests were analyzed. The work was divided into four parts in order to present the results. The first part consisted of verifying the influence of genetic material on the volatile composition of the cv. Chardonnay with the experiments on clones and rootstocks; the second part evaluated the volatile composition of clone 809 up to the sparkling wine; the third one part analyzed the vinification of the different training systems; and the fourth part evaluated the evolution of the volatile compounds from the berry to the sparkling wine and analyzed the aromas that the planting densities can confer to the sparkling wine. The main classes of aromatic compounds identified in the matrices were: C6-C9 aldehydes, higher alcohols, branched aldehydes, benzenoids, monoterpenoids, norisoprenoids, sesquiterpenoids, ketones and fatty acids. The results showed that the clones and the rootstocks have different volatile profiles, indicating that variability among clones and that grafting have great relevance to the berry secondary metabolism; the 809 clone presents a greater abundance of monoterpenoid compounds, confirming its muscat character, from grapes to sparkling wines; the different training systems and planting densities alter the berry's metabolism, reflecting

in the volatile profile of sparkling wines in the studied harvests. The data indicate that the volatile composition is influenced by the management of the berry to the sparkling wine.

Keywords: *Vitis vinifera*. Aroma. HS-SPME. GC-MS. Wine. Berry. Training system. Planting density. Clone. Rootstock.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Evolução da produção mundial de espumantes..... | 28 |
| Figura 2. Produção e consumo de espumantes no Brasil em 2008 e 2018 | 28 |
| Figura 3. Sede da EPAMIG – uva e vinho em Caldas/MG | 29 |
| Figura 4. (A) Representação das principais alterações durante o desenvolvimento e amadurecimento das bagas. (B) Partes da uva e os principais compostos acumulados durante o desenvolvimento e amadurecimento..... | 31 |
| Figura 5. Cachos da cultivar Chardonnay (Caldas/MG) | 32 |
| Figura 6. Representação do sistema de sustentação para os quatro sistemas de condução adotados no Brasil: Latada (A), Espaladeira (B), Lira (C) e GDC (D) | 38 |
| Figura 7. Etapas do processo anteriores a vinificação: (A) Desengace, (B1 e B2) Prensagem e (C) Trasfega do mosto pós <i>débourbage</i> | 40 |
| Figura 8. Processo de <i>remuage</i> manual nos pupitres para ter o deslocamento dos sedimentos para o gargalo da garrafa..... | 42 |
| Figura 9. Processo de <i>dégorgement</i> ou degola..... | 42 |
| Figura 10. Procedimentos finais na elaboração do espumante: adição do licor de expedição (A), fechamento da garrafa (B) e o encaixe da gaiola (C)..... | 44 |
| Figura 11. Rotas biossintéticas em plantas à partir dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos | 47 |
| Figura 12. Principais compostos voláteis biossintetizados em uvas a partir do metabolismo dos ácidos graxos | 48 |
| Figuras 13. Biossíntese de (A) ácidos de cadeia curta, aldeídos, álcoois, ésteres e lactonas, e (B) metilcetonas..... | 49 |
| Figura 14. Biossíntese dos compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos em célula vegetal | 50 |
| Figura 15. Compostos voláteis biossintetizados a partir de aminoácidos..... | 53 |
| Figura 16. Representação de derivatização e síntese dos compostos aromáticos ativos a partir dos metabolismos dos açúcares, lipídeos, aminoácidos e compostos sulfurosos pelas leveduras do vinho | 55 |
| Figura 17. Dispositivo comercial de SPME com foco na fibra | 60 |
| Figura 18. Ilustração do acoplamento do cromatógrafo a gás ao detector de espectrometria de massas | 61 |
| Figura 19. Condições climáticas - pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2016 | 66 |
| Figura 20. Condições climáticas - pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2017 | 67 |
| Figura 21. Pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2018 | 68 |
| Figura 22. Radiação solar média (KJ/m ²) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita nas safras 2016, 2017 e 2018..... | 69 |
| Figura 23. Dados agrônômicos dos clones que são avaliados nesse trabalho | 72 |
| Figura 24. Dispositivo experimental dos clones..... | 73 |
| Figura 25. Espaladeira: dossel vegetativo não dividido e ramos verticais | 75 |
| Figura 26. Lira: dossel dividido na base e com os ramos voltados para cima | 75 |

| | |
|--|-----|
| Figura 27. GDC: dossel vegetativo dividido no topo com os ramos posicionados para baixo..... | 76 |
| Figura 28. Densidade de Plantio: dispositivo experimental do experimento | 77 |
| Figura 29. Fluxograma do processo desde a colheita (vindima) até o espumante... | 79 |
| Figura 30. Fluxograma do preparo das uvas e do mosto da cv. Chardonnay para a análise de voláteis livres | 82 |
| Figura 31. Fluxograma do preparo das amostras de vinho base e espumante da cv. Chardonnay para a análise de voláteis livres | 83 |
| Figura 1S. Cromatogramas dos testes de otimização da extração de voláteis por SPME para as bagas | 155 |
| Figura 2S. Cromatogramas com os testes de otimização da rampa de análise..... | 156 |
| Figura 3S. Cromatogramas dos testes de otimização da extração de voláteis por SPME para o vinho base..... | 157 |
| Figura 4S. Overlay dos cromatogramas com utilização das condições de extração descritas no Teste B da Figura 3S | 158 |
| Figura 5S. Cromatogramas dos testes para avaliar a eluição de picos tardios | 159 |

SEÇÃO 1:

| | |
|---|-----|
| Figura 1. Análise de componentes principais para os compostos voláteis das bagas de seis clones da cv. Chardonnay (A) e do clone 76 em dez porta-enxertos (B) na região sul de Minas Gerais (Caldas/MG) nas safras 2017 e 2018 | 88 |
| Figura 2. Análise de componentes principais, <i>biplots</i> e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a 0,25) para a diferenciação dos clones da cv. Chardonnay na safra 2017 no sul de Minas Gerais..... | 94 |
| Figura 3. Análise de componentes principais, <i>biplots</i> e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a 0,25) para a diferenciação dos clones da cv. Chardonnay na safra 2018 no sul de Minas Gerais..... | 95 |
| Figura 4. Análise de componentes principais, <i>biplots</i> e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a 0,25) para a diferenciação dos porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 na safra 2017 no sul de Minas Gerais..... | 98 |
| Figura 5. Análise de componentes principais, <i>biplots</i> e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a 0,25) para a diferenciação dos porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 na safra 2018 no sul de Minas Gerais..... | 99 |
| Figura 6. Rotas biossintéticas propostas por Boatright et al. (2004) dos compostos benzenoides em petúnia e identificados nesse trabalho | 103 |
| Figura 1S. Gráfico com a área média de cada classe de composto volátil para o experimento de clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018..... | 109 |
| Figura 2S. Gráfico com a área média de cada classe de composto volátil para o experimento de porta-enxertos nas safras 2017 e 2018 | 110 |

SEÇÃO 2:

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Gráfico em barras com a somatória de área dos compostos terpenoides em todas as matrizes para os clones 76 e 809 da cv. Chardonnay nas safras de 2017 e 2018 no sul de Minas Gerais..... | 113 |
| Figura 2. Compostos terpenoides presentes da baga ao espumante do clone 809 da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018 no sul de Minas Gerais | 116 |
| Figura 3. Análise de componentes principais e <i>loading plot</i> para os compostos voláteis dos clones 76 e 809 da cv. Chardonnay (<i>Vitis vinifera</i>) na região sul de Minas Gerais (safras 2017 e 2018) | 119 |
| Figura 1S. Possíveis rotas biossintéticas dos compostos terpenoides identificados no estudo do clone 809 da cv. Chardonnay da uva ao espumante em vinhedos de altitude | 121 |

SEÇÃO 3:

| | |
|---|-----|
| Figura 1. Dendograma dos vinhos base (VB) e espumantes (E) da cv. Chardonnay (clone 76) conduzida em espaldeira (Trel), GDC e lira nas safras de 2017 e 2018 na Serra da Mantiqueira..... | 126 |
| Figura 2. Gráficos de componentes principais e de agrupamentos (<i>heatmap</i>) do perfil volátil das fermentações da cv. Chardonnay (clone 76) em três sistemas de condução (espaldeira, lira e GDC) na Serra da Mantiqueira, MG (safra 2017) – Análise das variáveis significativas..... | 130 |
| Figura 3. Gráficos de componentes principais e de agrupamentos (<i>heatmap</i>) do perfil volátil das fermentações da cv. Chardonnay (clone 76) em três sistemas de condução (espaldeira, lira e GDC) na Serra da Mantiqueira, MG (safra 2018) – Análise das variáveis significativas..... | 131 |
| Figura 1S. Cromatogramas representativos do TIC para uma amostra de vinho base e uma amostra de espumante (amostras de uma das vinificações do sistema GDC na safra 2017) | 137 |

SEÇÃO 4:

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Evolução das classes dos compostos aromáticos da baga ao espumante da cv. Chardonnay (clone 76) conduzida em espaldeira na densidade de 4000 plantas ha ⁻¹ , em Caldas (MG), nas safras de 2016, 2017 e 2018..... | 140 |
| Figura 2. Média das áreas dos compostos que apresentam maior área da baga ao espumante da cv. Chardonnay (clone 76) conduzida em espaldeira na densidade de 4000 plantas ha ⁻¹ , em Caldas (MG), nas safras 2016, 2017 e 2018 | 141 |
| Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) e de agrupamentos (<i>heatmap</i>) do perfil volátil dos espumantes da cv. Chardonnay (clone 76) em cinco densidades de plantio no sul de Minas Gerais (Brasil) nas safras 2016, 2017 e 2018..... | 146 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Tipo de espumante com o seu respectivo teor de açúcares totais, expresso em gramas de glicose por litro (BRASIL, 2014; BRASIL, 1988)..... | 43 |
| Tabela 2. Descrição dos clones utilizados nos ensaios pela EPAMIG | 71 |
| Tabela 3. Descrição dos porta-enxertos utilizados, espécies parentais e suas características | 74 |
| Tabela 4. Densidades de plantio e as respectivas nomenclaturas e espaçamentos | 77 |

SEÇÃO 1:

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Composição do mosto de seis clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 (colheita em 10/01/2017) e 2018 (colheita em 08/01/2018)..... | 89 |
| Tabela 2. Composição do mosto da cv. Chardonnay clone 76 enxertadas em dez porta-enxertos e o vigor dos porta-enxertos. Safras 2017 (colheita em 11/01/2017) e 2018 (colheita em 09/01/2018), Caldas (MG)..... | 91 |
| Tabela 3. Resultado dos testes de Fisher para avaliar as classes de compostos voláteis significativas para diferenciar os clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018 | 92 |
| Tabela 4. Testes de Fisher para avaliar as variáveis significativas para os porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 nas safras 2017 e 2018..... | 96 |
| Tabela 1S. Compostos voláteis identificados por classes nas bagas da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, experimento e safra, número CAS, avaliação e precursores biossintéticos..... | 105 |

SEÇÃO 2:

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Compostos voláteis identificados por classes nas bagas dos clones 76 e 809 da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, número CAS, as matrizes identificadas/safra, avaliação e descritores (análise por HS-SPME/GCMS) | 112 |
|---|-----|

SEÇÃO 3:

| | |
|--|-----|
| Tabela 1. Compostos voláteis identificados nos vinhos da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, número CAS, tempo de retenção, índice de retenção Kovats modificado da literatura e o obtido e descritor aromático (análise por HS-SPME/GCMS) | 124 |
| Tabela 2. Resultados dos testes de Fisher para mensurar as variáveis significativas para as safras 2017 e 2018 dos espumantes da cv. Chardonnay produzidos a partir de plantas conduzidas nos sistemas espaldeira, lira e GDC..... | 128 |
| Tabela 3. Compostos aromáticos que diferenciaram as vinificações dos sistemas de condução espaldeira, lira e GDC nas safras 2017 e 2018 dos espumantes da cv. Chardonnay (clone 76) na Serra da Mantiqueira (Brasil) | 133 |

SEÇÃO 4:

Tabela 1. Classes dos compostos voláteis que diferenciaram os espumantes produzidos com as uvas em diferentes densidade de plantio da cv. Chardonnay (clone 76) nas safras 2016, 2017 e 2018 na Serra da Mantiqueira (Brasil) 147

Tabela 1S. Lista dos compostos voláteis livres identificados nas bagas, mostos, vinhos base e espumante da cv. Chardonnay (clone 76) em cinco densidades de plantio, de 2000 a 8000 plantas ha⁻¹, e em três safras consecutivas (2016, 2017 e 2018) 150

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------|--|
| AAT | Álcool acil-CoA transferase |
| ACP | Proteína carreadora de acil |
| BA2H | Ácido benzóico 2-hidroxilase |
| CAS | <i>Chemical Abstract Service</i> (do inglês) |
| cv. | cultivar |
| DMAPP | Difosfato de dimetilalila |
| DXP | 1-deoxi-D-xilose-5-fosfato |
| DXR | 1-deoxi-D-xilose-5 redutase |
| DXS | 1-deoxi-D-xilose-5 sintase |
| EI | <i>Electron ionization</i> (do inglês) |
| ENTAV-INRA | <i>Etablissement National Technique pour l'Amelioration de la Viticulture-Institut National de la Recherche Agronomique</i> (do francês) |
| EPAMIG | Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais |
| FPP | Pirofosfato de farnesila |
| FPPS | Pirofosfato de farnesila sintase |
| G3P | Gliceraldeído 3-fosfato |
| GC | <i>Gas chromatography</i> (do inglês) |
| GDC | <i>Geneve double curtain</i> (do inglês) |
| GGPP | Pirofosfato de geranil geranila |
| GGPPS | Pirofosfato de geranil geranila sintase |
| GLV | <i>Green leaf volatiles</i> (do inglês) |
| GPP | Difosfato de geranila |
| GPPS | Pirofosfato de geranila sintase |
| HMGCoA | 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA |
| HMGR | Hidroximetilglutaril-CoA reductase |
| HS | <i>Headspace</i> (do inglês) |
| IAC | Instituto Agronômico de Campinas |
| INMET | Instituto Nacional de Meteorologia |
| IPP | Difosfato de isoprenila |
| LQBQ | Laboratório de Química e Bioquímica |
| LOX | Lipoxigenase |
| MEP | Metileritrol fosfato |
| MG | Minas Gerais |
| MKS | Metilcetona sintase |
| MS | <i>Mass spectrometry</i> (do inglês) |

| | |
|---------|---|
| MVA | Ácido Mevalônico |
| OIV | Organização Internacional da Vinha e do Vinho |
| PAL | Fenilalanina amônia-liase |
| PC | <i>Principal component</i> (do inglês) |
| SAMT | Ácido salicílico carboximetiltransferase |
| SPE | <i>Solid phase microextraction</i> (do inglês) |
| SPME | <i>Solid phase micro extraction</i> (do inglês) |
| SRS | <i>Sulfate reduction sequence</i> (do inglês) |
| TCH | Trimetilciclohexanona |
| TDN | 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno |
| TPB | 4-(2,3,6-trimetilfenil)buta-1,3-dieno |
| var. | variedade |
| Z,Z-FPP | Z,Z-pirofosfato |

Índice

| | |
|---|-----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 27 |
| 1.1 Produção e consumo de espumantes | 27 |
| 1.2 Histórico da região produtora | 29 |
| 1.3 Do vinhedo à vinificação | 30 |
| 1.3.1 Desenvolvimento e amadurecimento das bagas | 30 |
| 1.3.2 Cultivar Chardonnay | 32 |
| 1.3.3 Manejo do vinhedo..... | 33 |
| 1.3.3.1 Seleção clonal..... | 33 |
| 1.3.3.2 Porta-enxertos | 35 |
| 1.3.3.3 Sistemas de condução..... | 36 |
| 1.3.3.4 Densidade de plantio | 38 |
| 1.3.4 Vinificação | 39 |
| 1.4 Compostos voláteis..... | 44 |
| 1.4.1 Principais vias biossintéticas dos compostos voláteis nas uvas | 45 |
| 1.4.2 Compostos voláteis provenientes das fermentações..... | 54 |
| 1.5 Extração e análise dos compostos voláteis..... | 59 |
| 2. OBJETIVOS..... | 63 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 65 |
| 3.1 Material vegetal - uvas e condições climáticas..... | 65 |
| 3.1.1 Experimento 1: Clones..... | 70 |
| 3.1.2 Experimento 2: Porta-enxertos..... | 73 |
| 3.1.3 Experimento 3: Sistemas de Condução | 75 |
| 3.1.4 Experimento 4: Densidade de plantio..... | 76 |
| 3.2 Vinificação | 78 |
| 3.3 Reagentes e padrões para análise de compostos voláteis..... | 80 |
| 3.4 Equipamentos e acessórios para análises de compostos voláteis | 80 |
| 3.5 Extração e métodos cromatográficos para a avaliação dos compostos voláteis livres ... | 81 |
| 3.6 Tratamento dos dados | 83 |
| 4. DESCRIÇÃO DAS SEÇÕES DE RESULTADOS E DISCUSSÕES | 85 |
| 4.1 SEÇÃO 1 – Influência do material genético (clones e porta-enxertos) no perfil aromático das bagas da cultivar Chardonnay no sul de Minas Gerais (Brasil)..... | 86 |
| 4.1.1 Resultados e discussão | 87 |
| 4.1.2 Considerações..... | 104 |
| 4.1.3 Material Suplementar..... | 105 |
| 4.2 SEÇÃO 2 – Perfil aromático do clone 809 da cv. Chardonnay: da baga ao espumante em vinhedo na Serra da Mantiqueira | 111 |
| 4.2.1 Resultados e discussão | 111 |
| 4.2.2 Considerações..... | 120 |
| 4.2.3 Material Suplementar..... | 121 |
| 4.3 SEÇÃO 3 – Composição volátil dos espumantes da cv. Chardonnay cultivada em diferentes sistemas de condução na Serra da Mantiqueira (Brasil)..... | 123 |
| 4.3.1 Resultados e discussão | 123 |
| 4.3.2 Considerações..... | 136 |

| | |
|---|-----|
| 4.3.3 Material Suplementar..... | 137 |
| 4.4 SEÇÃO 4 – Evolução dos aromas durante a elaboração e influência da densidade de plantio no perfil volátil de vinhos espumantes do sudeste brasileiro..... | 139 |
| 4.4.1 Resultados e discussão | 139 |
| 4.4.2 Considerações..... | 148 |
| 4.4.3 Material Suplementar..... | 149 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 150 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 153 |
| 7. DADOS SUPLEMENTARES..... | 155 |
| 7.1 Otimização do método de extração dos compostos voláteis das bagas e dos mostos. | 155 |
| 7.2 Otimização do método cromatográfico para a análise dos compostos voláteis nas bagas e mostos | 156 |
| 7.3 Otimização do método de extração dos compostos voláteis dos vinhos base e espumantes | 157 |
| 7.4 Otimização do método cromatográfico para a análise dos compostos voláteis nos vinhos base e espumante | 158 |
| 8. REFERÊNCIAS | 160 |

1. INTRODUÇÃO

O vinho, além de sua importância econômica e cultural, é objeto de fascinação para consumidores ao redor do mundo, despertando o interesse e a emoção deles pela variedade de sensações atribuída a diversidade de compostos que compõe a sua qualidade sensorial (MARCHAL et al., 2014).

O estudo de aromas em matrizes enológicas é complexo e estão presentes centenas de moléculas que conferem o *bouquet* de um vinho. De acordo com Welke et al. (2014), o aroma é um dos fatores mais importantes na determinação da qualidade, do caráter e da tipicidade do vinho. A presença, ausência ou diferentes proporções dos compostos voláteis são o resultado de interações complexas entre diversos fatores: localização geográfica do vinhedo, que está relacionado com as características do solo e do clima; variedade da uva; levedura e condições técnicas da vinificação, como a temperatura usada na maceração da uva, frequência e intensidade dos procedimentos (WELKE et al., 2013); além dos tratamentos pós-fermentativos (envelhecimento e estocagem) (SOARES et al., 2015).

Com relação aos espumantes, Caliari et al. (2014) apontam que a composição química constitui um importante fator na produção de espumantes de alta qualidade e que a presença dos compostos voláteis pode ser influenciada por diversos fatores, como as características do vinho base, as leveduras e o estágio de envelhecimento. Embora diferentes fatores possam influenciar a composição do espumante, os autores ressaltam que a variedade da uva usada na vinificação pode ser considerada uma das mais importantes.

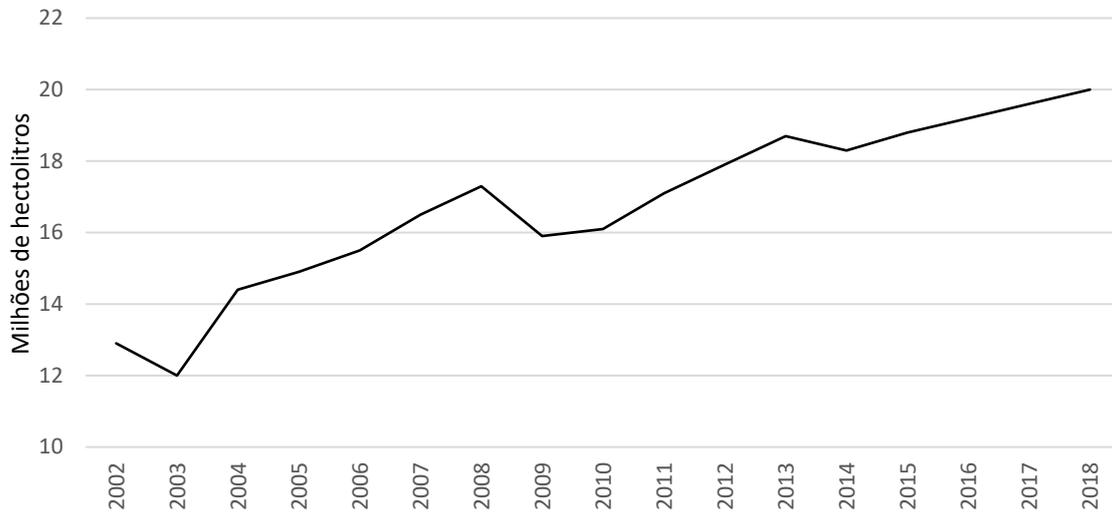
1.1 Produção e consumo de espumantes

Relativo à produção e ao consumo de vinhos espumantes no Brasil e no mundo, a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) apresentou dados de 2002 a 2018 (Figuras 1 e 2), que apontam uma evolução expressiva na produção mundial (Figura 1).

Na Figura 2 estão os dados de produção e consumo de espumantes no Brasil entre 2008 e 2018 (OIV, 2020). Embora a maior produção e consumo estejam em alguns países do hemisfério norte, entre os países emergentes o Brasil está em

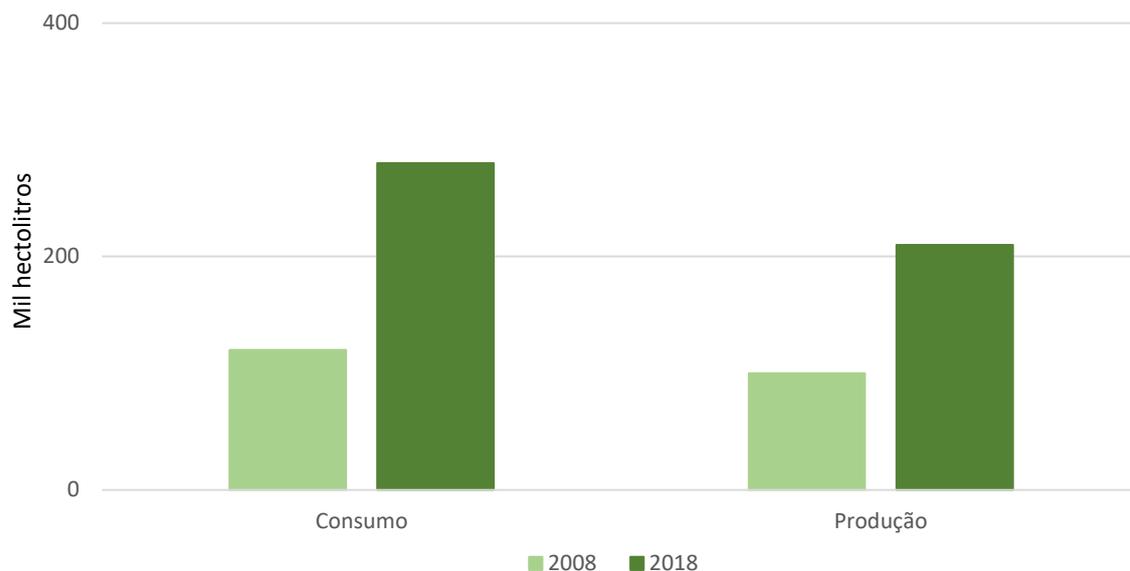
segunda posição na produção e em quarta no consumo. Esses dados representam um crescimento de produção de 7% ao ano e no consumo, crescimento médio de 8%.

Figura 1. Evolução da produção mundial de espumantes



Fonte: Adaptado do relatório da OIV (2020).

Figura 2. Produção e consumo de espumantes no Brasil em 2008 e 2018



Fonte: Adaptado do relatório da OIV (2020).

A estimativa da produção de espumantes em Minas Gerais está em 50 mil litros/ano (PEREIRA et al, 2020).

1.2 Histórico da região produtora

Em trabalho que resgata o patrimônio vitivinícola no sul de Minas Gerais, Chelotti e Medeiros (2019) pontuam que essa tradição na região se iniciou no final do século XIX com a chegada dos imigrantes italianos, destacando-se as cidades de Andradas e Caldas. Entretanto, devido a concorrência com outras produções agrícolas, ao surgimento de novas técnicas, ao estabelecimento de normas e requisitos e à alteração do padrão de consumo, algumas fazendas que produziam uvas de mesa e vinhos coloniais foram fechadas entre os anos 40 e 70, fazendo com que a produção dessa região se tornasse escassa.

Chelotti (2019) destacou a importância da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), especificamente a unidade de Caldas, para a retomada e desenvolvimento da vitivinicultura na região e a expansão do cultivo para novos centros. Além da seleção de clones da cultivar Bordô e a produção de mudas de videiras com a técnica da enxertia de mesa, nos últimos 25 anos a empresa está contribuindo para o fortalecimento e expansão do cultivo de videiras finas, inicialmente com a inclusão da cultivar Chardonnay em 1995 (SOUZA et al., 2020) e desenvolvimento das técnicas de manejo para a produção de espumantes e, posteriormente, com a introdução e adaptação da técnica da dupla poda para cultivares viníferas tintas e brancas, caracterização das regiões produtoras e seleção de porta-enxertos (EPAMIG, 2020).

A Figura 3 apresenta a foto da sede da EPAMIG – uva e vinho em Caldas/MG.

Figura 3. Sede da EPAMIG – uva e vinho em Caldas/MG



1.3 Do vinhedo à vinificação

1.3.1 Desenvolvimento e amadurecimento das bagas

Durante seu desenvolvimento, os frutos da videira (*Vitis sp*) passam por diversas fases até atingir o amadurecimento. Três fases principais do desenvolvimento das bagas são mencionadas por DEGU et al. (2014) e COSME et al. (2016):

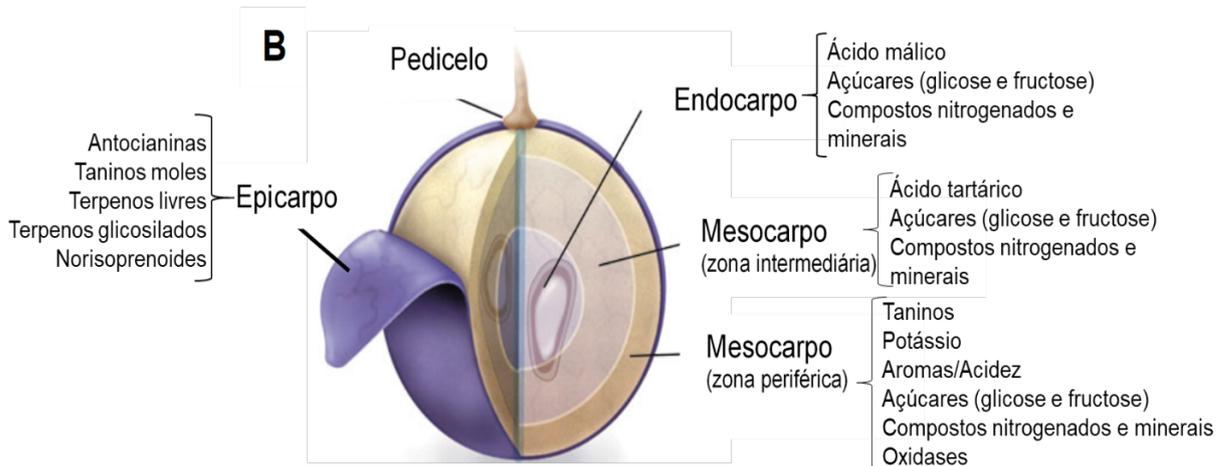
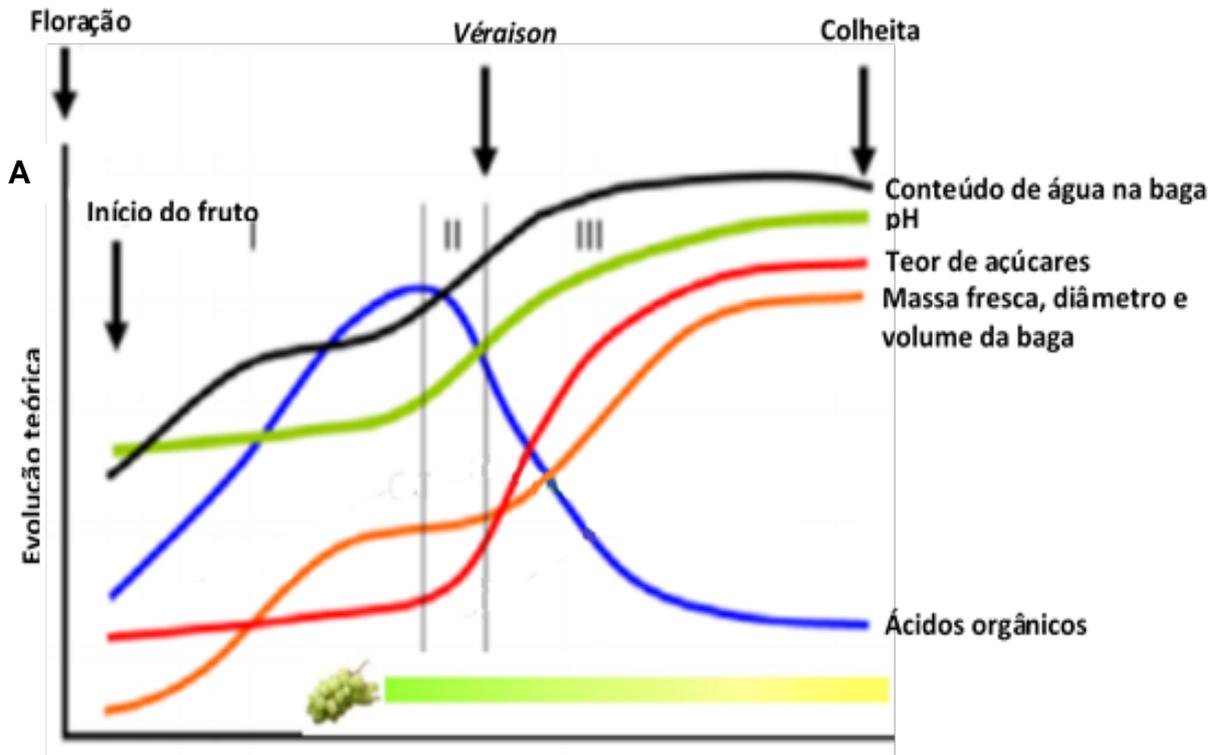
- a) Fase I – desenvolvimento herbáceo: caracterizada pelo crescimento e multiplicação celular juntamente com o acúmulo de ácidos orgânicos, hidróxicinâmico, aminoácidos e taninos;
- b) Fase II - a expansão da baga cessa e os açúcares começam a acumular, elevando o pH da baga. Essa fase é rápida e marca o início do amadurecimento (*véraison* ou pintor);
- c) Fase III - amadurecimento: segunda fase de crescimento e estágio de fundamental alteração metabólica com o acúmulo de açúcares (principalmente glicose e frutose), precursores de aroma, pigmentos e outras classes de metabólitos.

Na Figura 4A encontram-se as principais alterações das bagas durante o desenvolvimento e amadurecimento; na Figura 4B, os principais compostos que são acumulados durante a maturação (CURY, 2019).

Para a uva branca o *véraison* é marcado pela leve alteração de cor das bagas, passando de verde para amarelo pálido (KELLER, 2015), uma vez que não produzem antocianinas (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Assim, de acordo com Degu et al. (2014), uma complexa interação entre genótipo, macro e micro-clima e vigor das plantas definirá o metabolismo da baga e, eventualmente, a qualidade do vinho.

Figura 4. (A) Representação das principais alterações durante o desenvolvimento e amadurecimento das bagas. **(B)** Partes da uva e os principais compostos acumulados durante o desenvolvimento e amadurecimento



Fonte: Figura (A) adaptada de Borghezán (2017).

1.3.2 Cultivar Chardonnay

A cultivar (cv.) Chardonnay (Figura 5) é originária da região de Borgonha (França) e é uma das uvas brancas mais populares do mundo, pois adaptou-se bem a várias regiões. No vinhedo, ela é de fácil condução e na vinícola, bastante maleável, podendo-se dela fazer vinhos brancos secos, espumantes, vinhos doces, ou compor mistura com outras cultivares (PLANTGRAPE, 2020).

Figura 5. Cachos da cultivar Chardonnay (Caldas/MG)



Mendonça (2015) relata que em estudos voltados à avaliação da adaptação de cultivares de videiras destinadas à elaboração de espumantes, pôde-se verificar que a cultivar Chardonnay, referência mundial por apresentar alta acidez que favorece a refrescância de espumantes, encontra-se bem adaptada às condições edafoclimáticas de Minas Gerais. Nas regiões de altitude, como Caldas, as temperaturas noturnas mais baixas contribuem para um bom equilíbrio de açúcares e ácidos orgânicos. Na Serra da Mantiqueira, essa cultivar é mais utilizada na elaboração de espumante do tipo *Nature* ou *Brut* (SOUZA et al., 2020).

A cultivar Chardonnay origina um vinho branco equilibrado, com pouco aroma varietal, porém, de elevada complexidade (MENDONÇA, 2015). Os aromas

apresentados por essa cultivar lembram abacaxi, maçã verde e frutas cítricas maduras; no paladar, tem acidez e boa estrutura (RIZZON et al., 2000).

1.3.3 Manejo do vinhedo

Vários autores descrevem que a produção de um vinho de qualidade começa no vinhedo, com a combinação de clima, solo e das cultivares de uvas, conceito conhecido como *terroir*. Carbonneau (1984) já descrevia que, além dos fatores naturais, têm-se as práticas agrônômicas que são adotadas, como escolha do clone e porta-enxerto, sistema de condução, densidade de plantio e práticas culturais, entre elas desponte, desfolha e raleio de cachos.

De acordo com a OIV (2010), *terroir* é “o espaço no qual está se desenvolvendo um conhecimento coletivo das interações entre o ambiente físico e biológico e as práticas vitivinícolas aplicadas, proporcionando características distintas aos produtos originários deste espaço”. Segundo a definição aplicada pela OIV, os componentes naturais são relevo, clima, microorganismo e solo; e dentro dos fatores humanos, encaixam-se as práticas enológicas (estilo do vinho, métodos de vinificação, maturação, correções) e as práticas aplicadas à videira (escolha de cultivar, porta-enxerto, sistema de condução, densidade de plantio, produtividade).

1.3.3.1 Seleção clonal

OIV (2017) expõe que o clone é a descendência vegetativa de uma única videira. Sendo assim, é o resultado de mutações somáticas de ocorrência natural acumuladas e propagadas ao longo do tempo. Ocorre em regiões onde determinada variedade é tradicionalmente cultivada, resultando em grande variabilidade que pode ser expressa no tamanho das folhas, composição das bagas e peso dos cachos (CAMARGO; BERND; REVERS, 2009).

Os clones são selecionados em áreas de produção, em vinhedos com idade superior a 25 anos (REGINA, 2004) e, para a sua seleção, são levadas em consideração a identidade varietal, as características fenotípicas e a sanidade da planta (OIV, 2017; RODRÍGUEZ; SANZ; VALLES, 2018). Busca-se, pela observação, a identificação de plantas com características culturais desejáveis, como baixo vigor, alto rendimento, bagas menores ou maiores, cachos bem formados, pigmentação do

fruto diferente ou outros atributos de qualidade percebidos e/ou resistência à determinada doença (KELLER, 2015).

Embora apresente as características descritas na seleção, Keller (2015) relatou que a viabilidade de um clone em um determinado local é fortemente influenciada pelo ambiente (solo, condições climáticas, práticas adotadas no manejo) e depende do uso final das uvas produzidas e de circunstâncias regulatórias (exemplo: restrição de rendimento). Por esse motivo, são importantes os estudos relacionados à competição de clones em novas áreas de cultivo.

A cultivar Chardonnay originou-se do cruzamento natural das uvas Pinot e Gouais blanc (PLANTGRAPE, 2020), em que a hibridização ocorre pela polinização e fertilização de flores de diferentes plantas, geneticamente distintas, e dá origem a um terceiro indivíduo.

Para a cv. Chardonnay, Jones et al. (2014) reportaram que os clones disponíveis para serem utilizados na região de Champagne: são os 75, 76, 95, 96 e 121 (clones certificados e autorizados pelo ENTAV-INRA). Além disso, os autores apresentaram o resultado de uma pesquisa realizada na Califórnia com 13 clones dessa cultivar, em que foram identificadas variações de rendimento, bagas por cacho, peso de baga e peso de cacho para todos os clones, concluindo que a seleção clonal implica diretamente na obtenção de frutos com bom rendimento e balanço ácido:açúcar para a elaboração de um espumante.

Além das diferenças agronômicas e de acidez e açúcares dos clones, outro papel importante está ligado às características organolépticas, complexidade aromática, e que são apreciadas pelos consumidores. Nos últimos anos, clones das cultivares aromáticas Traminer aromática (Gewürztraminer), Moscato giallo e Müller Thurgau são estudados para avaliar a adaptação, o comportamento a determinadas regiões e o aporte que cada clone oferece de compostos livres e/ou precursores nas bagas e, posteriormente, nos vinhos (NICOLINI et al., 2013; NICOLINI et al., 2016; NICOLINI et al., 2019).

Para a cv. Chardonnay, os seguintes clones estão descritos no catálogo do site Plantgrape por apresentarem e conferirem caráter de uva moscato aos vinhos: 809, 1068, 1145 e 1146.

1.3.3.2 Porta-enxertos

A enxertia é uma prática antiga, porém, na viticultura, foi aplicada após o ataque da filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*, inseto que se fixa nas raízes da videira, alimentando-se da seiva) que devastou grande parte das videiras viníferas na Europa, principalmente na França, no final do século XIX. Consiste no enxerto de uma cultivar *Vitis vinifera* e um porta-enxerto de *Vitis* americanas ou híbridos de uma ou mais espécies (HIDALGO, 2002; DIAS et al., 2015). Warschefsky et al. (2016) complementam que a enxertia une dois órgãos de indivíduos diferentes (o sistema radicular e a copa), formando uma conexão vascular, de modo a ter uma relação simbiótica.

O sistema radicular das plantas obtém água e nutrientes do solo, serve como órgão armazenador e é a primeira zona de contato com os organismos do solo. Os porta-enxertos variam na arquitetura e função, na mesma espécie e entre espécies, sendo um ponto crucial para coordenar as respostas das plantas aos estresses biótico e abiótico (WARSCHEFSKY et al., 2016). Dessa forma, são utilizados pela tolerância e/ou resistência aos parasitas da raiz (filoxera, nematoides) e pela habilidade em influenciar o vigor do dossel, a maturação dos frutos, ou adaptação a condições adversas do solo (seca, alagamento, salinidade, acidez, entre outros) (KELLER, 2015).

Vitis rupestris, *V. riparia* e *V. berlandieri* são as espécies mais utilizadas como porta-enxertos (HIDALGO, 2002; DIAS et al., 2015). Os autores Câmara (2020) e Gutiérrez-Gamboa et al. (2020) descreveram as principais características encontradas em cada espécie:

- *Vitis rupestris*: moderada tolerância a solos calcáreos, alto vigor, ciclo vegetativo longo;
- *Vitis riparia*: baixa tolerância a solos calcáreos, baixo vigor (raízes não aprofundam), ciclo vegetativo curto, tolerante à filoxera;
- *Vitis berlandieri*: alta tolerância a solos calcáreos e secos, alto vigor, ciclo vegetativo longo, muito resistente à filoxera.

De acordo com Loureiro et al. (2016), inicialmente a enxertia era realizada com porta-enxerto de uma única espécie, entretanto, os estudos com os cruzamentos foram realizados a fim de se obter porta-enxertos resistentes ou tolerantes ao estresse

ambiental (abiótico) e efeitos diferentes na fenologia, nos parâmetros agronômicos e enológicos do enxerto.

O Instituto Agronômico de Campinas (IAC) realizou grandes avanços na viticultura brasileira com a pesquisa de porta-enxertos híbridos para regiões de clima tropical, chamados de “Tropicais”. Entre eles está o IAC-766 (Ripária do Traviú x *Vitis caribae*), sendo utilizado para variedades de mesa, no sudeste brasileiro e em estudos com cultivares empregadas na dupla poda (CÂMARA, 2020). É um material que apresenta elevado vigor vegetativo, compatibilidade com diversas variedades de copa, se adapta a vários tipos de solos, resistentes às principais doenças fúngicas, sendo de fácil multiplicação (IAC, 2021).

Entre os porta-enxertos mais empregados para a produção de espumantes no Brasil estão: Rupestris du Lot (*Vitis rupestris*); 101-14 e 3309 (*Vitis riparia* x *Vitis rupestris*); Kober 5 BB e SO4 (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*); Richter 99, Richter 100, 1103 Paulsen e 1045 Paulsen (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*); e Gravesac (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* x *Vitis rupestris*) (SOUZA et al., 2020).

Keller (2015) afirma que a enxertia não afeta diretamente a cor ou o perfil aromático das uvas produzidas na variedade do enxerto, uma vez que as substâncias responsáveis pela qualidade-características relevantes são produzidas na baga e, portanto, são determinadas pelo genótipo do enxerto. Entretanto pode causar um efeito indireto na composição da fruta, especialmente na acidez devido à influência do porta-enxerto no vigor do enxerto, na configuração do dossel vegetativo, rendimento e, possivelmente, na absorção de nutrientes.

De acordó com Bascuñán-Godoy et al. (2017), a enxertia pode alterar a duração dos estágios fenológicos, a estrutura e crescimento do dossel vegetativo, rendimento e a qualidade da baga devido às características estruturais, morfológicas e moleculares dos porta-enxertos. Os autores complementam que a combinação enxerto-porta-enxerto depende da afinidade e compatibilidade entre eles e da adaptação às condições edafoclimáticas, sendo muito específica.

1.3.3.3 Sistemas de condução

A videira é uma planta sarmentosa, de hábito trepador e que se adapta às mais diversas formas de condução. O sistema de condução da videira (estrutura de crescimento do dossel vegetativo) é uma das técnicas aplicadas que contribuem para

definir a forma da planta, modificando, assim, as condições microclimáticas (temperatura do ar, umidade e intensidade de radiação) no interior da copa (NORBERTO, 2006; DEGU et al., 2014).

O sistema de condução adotado deve permitir boa iluminação, insolação e aeração das folhas e dos cachos, com a finalidade de maximizar a captação da energia solar e reduzir a incidência de doenças (SPAYD et al., 2002). Além disso, apresenta influência direta no metabolismo secundário das bagas (KELLER, 2015).

A orientação dos ramos e a divisão do dossel vegetativo em relação ao solo classifica os sistemas de condução das videiras. Os principais sistemas adotados no Brasil são:

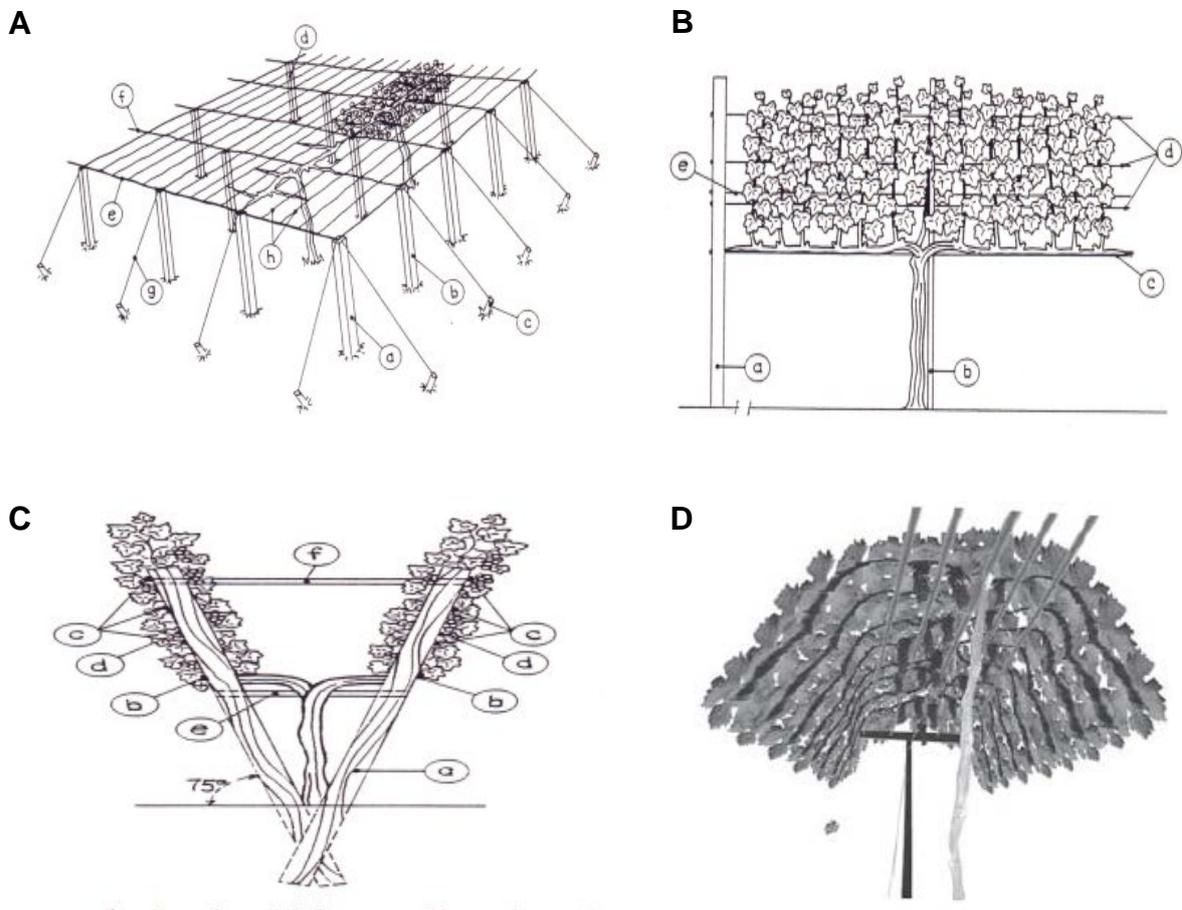
- latada ou pérgola ou caramanchão: consiste em induzir a planta a subir até dois metros para, depois, conduzi-la horizontalmente por uma pérgola. Neste sistema, os ramos crescem horizontalmente, e o dossel vegetativo não é dividido. De modo geral, forma uma trama de folhas e ramos que reduz a exposição aos raios de sol e dificulta a aeração, porém, em regiões muito quentes, as folhas protegem os cachos da insolação excessiva (Figura 6A);

- espaldeira: as videiras são plantadas em sentido vertical, em fileiras paralelas, e o dossel vegetativo não é dividido. Os cachos recebem luz direta, que contribui para o melhor amadurecimento das bagas (Figura 6B);

- lira: desenvolvido pelo INRA-Centro de Pesquisas de Bordeaux, França, caracteriza-se por ter dois planos oblíquos levemente inclinados para o lado de fora, portanto, com duas zonas de produção. Apresenta uma maior área de superfície foliar (Figura 6C);

- GDC (do inglês: *Geneva Double Curtin*): caracteriza-se por apresentar duas cortinas verticais paralelas, com as bases na parte superior e os ramos posicionados para baixo (vertical prostrado é a orientação). Para que este sistema de condução funcione bem, é imperativo que o espaço entre as cortinas permaneça aberto, permitindo a entrada dos raios solares (Figura 6D). É o sistema recomendado para regiões mais quentes, visando proteger os cachos da incidência solar direta (FAVERO et al., 2010).

Figura 6. Representação do sistema de sustentação para os quatro sistemas de condução adotados no Brasil: Latada (A), Espaladeira (B), Lira (C) e GDC (D)



Fonte: Representações (A) e (B) (EMBRAPA, 2019a), (C) Andretta (2011); e (D) Favero et al. (2010).

1.3.3.4 Densidade de plantio

De acordo com Mendonça (2015) e Almeida (2017), a densidade de plantio é definida como o número de plantas por unidade de área e é outro fator que pode influenciar no desenvolvimento da planta e qualidade dos frutos, pois ela modifica diretamente a fisiologia da planta, alterando o seu desenvolvimento em função do maior ou menor grau de competição de fotoassimilados entre as inflorescências e a vegetação.

O estudo de densidade de plantio compreende a colonização do solo pelo sistema radicular e o ar pela parte aérea da planta, que são os troncos, os braços, os brotos e as folhas.

Mendonça (2015) e Almeida (2017) colocam que quando se tem uma alta densidade de plantio, as raízes das plantas competem por água e outros nutrientes,

contribuindo dessa forma para reduzir o crescimento vegetativo, pois assim as plantas desviam os nutrientes para os frutos atingirem a maturidade adequada. Já com uma baixa densidade, haverá competição entre a inflorescência e a parte vegetativa, alterando o equilíbrio hormonal da planta e conseqüentemente a maturação e qualidade da baga.

Com relação à parte aérea (vegetativa) da planta, Almeida (2017) descreve que o controle de gemas é importante para que os ramos tenham o vigor adequado, ou seja, para atingir o equilíbrio entre o crescimento vegetativo e o desenvolvimento produtivo, a fim de obter uma matéria-prima de qualidade. O alto vigor vegetativo também influencia no número de camadas de folhas no vinhedo, promovendo um sombreamento dos cachos e, conseqüentemente, a composição da baga.

Alguns autores, citados por Almeida (2017), enfatizam que a densidade de plantio afeta a qualidade dos vinhos espumantes, uma vez que controla a exposição à luz e o vigor da planta, interferindo no aroma do fruto, no conteúdo de ácidos e nos níveis de açúcar da baga. Assim, para se ter o balanço hormonal e teor de açúcar adequados, deve-se ter uma razão satisfatória entre vigor/área foliar pelo peso do fruto.

1.3.4 Vinificação

A vinificação é a transformação do suco de uvas em vinho compreendendo mecanismos microbiológicos e químicos (MARCHAL et al., 2014). Durante o amadurecimento, os açúcares são acumulados nas bagas na forma de glicose e frutose e, posteriormente, serão convertidos em álcool pelas leveduras durante a fermentação alcoólica (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Assim, após a colheita, para se obter um espumante as etapas abaixo são realizadas e definidas de acordo com legislação brasileira (BRASIL, 2014; BRASIL 1988):

- Obtenção do mosto: “Mosto simples de uva é o produto obtido pelo esmagamento ou prensagem da uva sã, fresca e madura, com a presença ou não de suas partes sólidas”. A Figura 7 ilustra as etapas de preparação do mosto (fotos de um processo em escala industrial): desengace (A), prensagem (B1 e B2) e trasfega do mosto pós-*débourbage* (C);

Figura 7. Etapas do processo anteriores a vinificação: (A) Desengace, (B1 e B2) Prensagem e (C) Trasfega do mosto pós *débourbage*



- Obtenção do vinho base: “Vinho é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples da uva sã, fresca e madura, que se tenha no máximo 11,5% de álcool”;

- Obtenção do espumante: “Vinho cujo anidrido carbônico seja resultante, unicamente, de uma segunda fermentação alcoólica do vinho base, em garrafas ou em grandes recipientes, com graduação alcoólica de 10 a 13% em volume, com pressão mínima de 4 atm a 20°C”.

Em uma descrição mais detalhada (STEFENON et al., 2014; WELKE et al., 2014a) da elaboração dos espumantes, temos:

- Primeira fase: a primeira fermentação transforma o mosto da uva em vinho tranquilo (para espumantes, chamado de vinho base);
- Segunda fase: nova fermentação, com liberação de dióxido de carbono, pode ser conduzida através de dois métodos:
 - Método Charmat: a segunda fermentação e o envelhecimento sobre as borras ocorre em tanques isobáricos (projetados para suportar altas pressões) após a adição de leveduras e açúcar. Esse método facilita a operação de remoção das leveduras, porém o produto resultante tem aromas e sabores menos complexos do que os obtidos pelo método tradicional.
 - Método Tradicional, similar ao método *Champenoise* usado na produção do Champagne (na região de Champagne, no norte da França): a segunda fermentação e envelhecimento sobre as borras (*sur lie*) acontecem na garrafa com a adição de uma suspensão de leveduras e açúcar (licor de tiragem), aumentando o conteúdo de álcool e a pressão interna da garrafa para acima de 5-7 atmosferas.

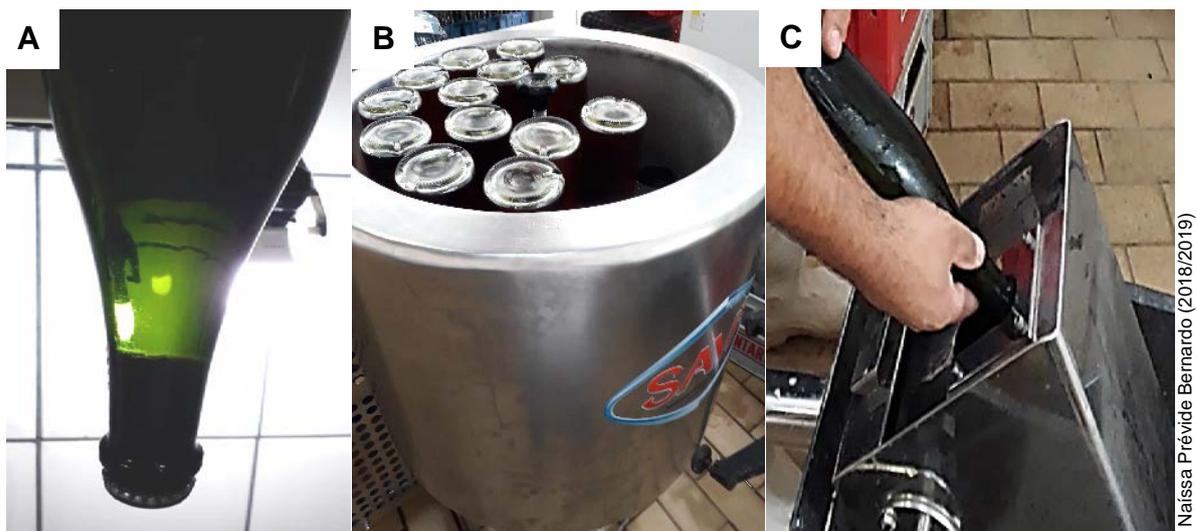
No processo tradicional, após o fim da segunda fermentação e autólise das leveduras (duração de três meses a anos, dependendo da intensidade desejada de aromas terciários), permanecem nas garrafas sedimentos deixados pelas leveduras. Para retirar os sedimentos, as garrafas são colocadas em pupitres, com rotações periódicas e inclinações progressivas até assumir posição vertical. Os sedimentos, então, vão descendo progressivamente e se acumulam no gargalo. Essa operação de rotacionar e inclinar a garrafa nos pupitres para ter o acúmulo dos sedimentos no gargalo é chamada *remuage* (Figura 8), operação que pode ser feita manualmente ou com máquinas chamadas *gyropalettes*.

Figura 8. Processo de *remuage* manual nos pupitres para ter o deslocamento dos sedimentos para o gargalo da garrafa



Quando todo o sedimento foi deslocado para o gargalo (A) é feito o *dégorgement* ou degola (Figura 9), processo de resfriar o gargalo das garrafas (B) a -25°C, que congela o líquido no local e faz com que, assim que a garrafa seja destampada (C), o resíduo saia por diferença de pressão e deixe o vinho limpo.

Figura 9. Processo de *dégorgement* ou degola



Após a degola, deve-se adicionar o licor de expedição para preencher o espaço deixado pela parte congelada que foi retirada, bem como recompor o teor

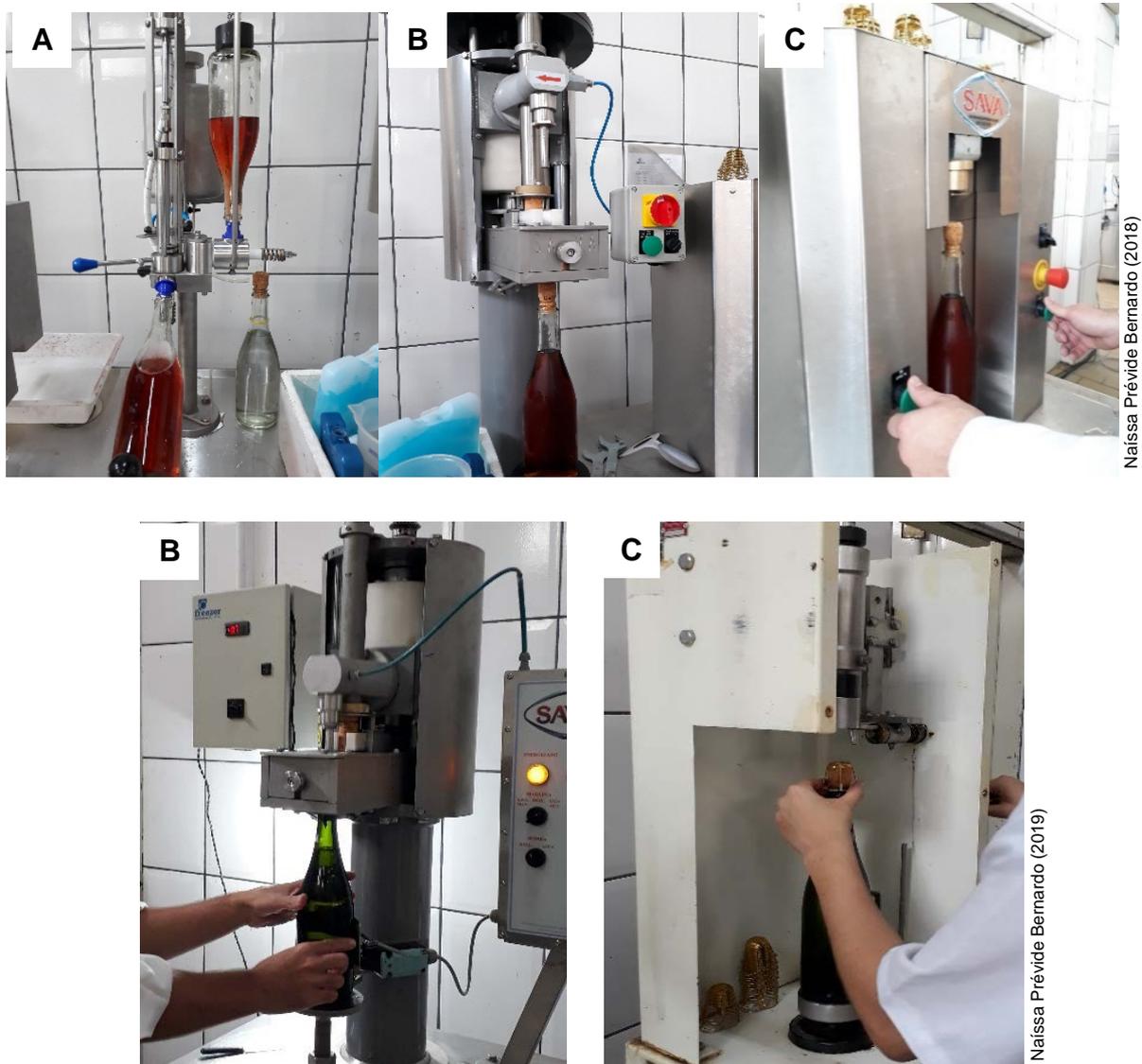
de açúcar residual conforme o tipo de vinho desejado (Tabela 1) e do teor de conservante. O espumante é classificado na legislação de acordo com a quantidade de açúcares totais (BRASIL, 1988; BRASIL, 2014).

Tabela 1. Tipo de espumante com o seu respectivo teor de açúcares totais, expresso em gramas de glicose por litro (BRASIL, 1988; BRASIL, 2014)

| Classificação | Teor de Açúcares Totais |
|-----------------------------|---------------------------------|
| <i>Nature</i> | até 3 g L ⁻¹ |
| <i>Extra Brut</i> | 3 a 8 g L ⁻¹ |
| <i>Brut</i> | 8 a 15 g L ⁻¹ |
| <i>Sec (seco)</i> | 15 a 20 g L ⁻¹ |
| <i>Demi Sec (meio-doce)</i> | 20 a 60 g L ⁻¹ |
| <i>Doux (doce)</i> | superior a 60 g L ⁻¹ |

Adicionado o licor de expedição, procede-se ao fechamento da garrafa com rolha de cortiça e gaiola de arame. Os passos finais do processo, adição do licor de expedição (A), fechamento da garrafa (B) e o encaixe da gaiola (C), estão representados na Figura 10.

Figura 10. Procedimentos finais na elaboração do espumante: adição do licor de expedição (A), fechamento da garrafa (B) e o encaixe da gaiola (C)
Fotos superiores de um espumante produzido em escala industrial. Fotos inferiores referentes aos lotes experimentais desse estudo (safra 2018).



Da baga ao espumante ocorrem processos químicos, bioquímicos, e microbiológicos dependentes de enzimas, cofatores, nutrientes, precursores que resultam na composição volátil da baga e no *bouquet* aos vinhos.

1.4 Compostos voláteis

Voláteis são compostos de baixo peso molecular, que vaporizam facilmente à temperatura ambiente. Conferem a sensação aromática quando atingem o epitélio olfativo e se ligam aos receptores (DUNLEVY et al., 2009).

A composição volátil dos vinhos é complexa porque várias estruturas orgânicas e de diversas origens contribuem para o aroma (DUNLEVY et al., 2009): a baga, responsável pelo aroma primário ou pré-fermentativo, específico de cada variedade de uva; as leveduras durante a primeira e a segunda fermentação (aroma secundário ou fermentativo) e práticas enológicas de maturação/envelhecimento (aroma terciário ou pós-fermentativo) (BOSCH-FUSTÉ et al., 2007; CALIARI et al., 2014). Esta complexidade é multiplicada pela transformação molecular, que pode ser catalisada por enzimas (DUNLEVY et al., 2009) e transformações químicas espontâneas (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019).

Mais de 800 compostos podem compor a fração volátil de um vinho, mas apenas algumas dezenas constituem odor-ativo e devem ser considerados para efeitos de diferenciação. Esses compostos pertencem a grupos muito heterogêneos, como monoterpenos, álcoois de cadeia longa, aldeídos, cetonas, ésteres e ácidos graxos (CÂMARA; ALVES; MARQUES, 2006).

Com relação aos compostos dos aromas primários ou varietal, Zacalain et al. (2007) descrevem que eles aportam uma grande contribuição para o vinho e estão intimamente relacionados com a qualidade dos vinhos brancos e podem ser utilizados para diferenciar os vinhos monovarietais. Entre esses compostos voláteis estão: terpenos, tais como limoneno, linalool, α -terpinol, β -citronelol, nerol, geraniol, nerolidol; compostos C₆, tais como *trans*-2-hexanal, 1-hexanol, *cis*-3-hexen-1-ol, *trans*-2-hexen-1-ol; e C₁₃-norisoprenoides tais como β -damascenona, α e β -ionona.

Segundo Jaffré et al. (2011) mais de 140 compostos voláteis foram identificados em uvas Chardonnay por análise de *headspace* e desses, ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e fenóis são considerados importantes para o aroma. Além desses compostos, Welke et al. (2014a) reportaram também C₁₃-norisoprenoides e ácidos como compostos voláteis que mais contribuíram para as diferenças observadas entre vinho base e espumante.

1.4.1 Principais vias biossintéticas dos compostos voláteis nas uvas

Os compostos voláteis são metabólitos secundários sintetizados pela planta para atrair polinizadores, dispersores de sementes, proteger contra o estresse biótico e/ou abiótico e constituem os maiores contribuintes para odores específicos, cor e

gosto (AHMED et al., 2017), além de contribuírem com a adaptação da planta a um determinado ambiente (POTT; OSORIO; VALLARINO, 2019).

Segundo Dunvely et al. (2009), o aroma das uvas é atribuído às classes de compostos: aldeídos, álcoois, ésteres, hidrocarbonetos, cetonas e furanos, além de outros ainda não identificados.

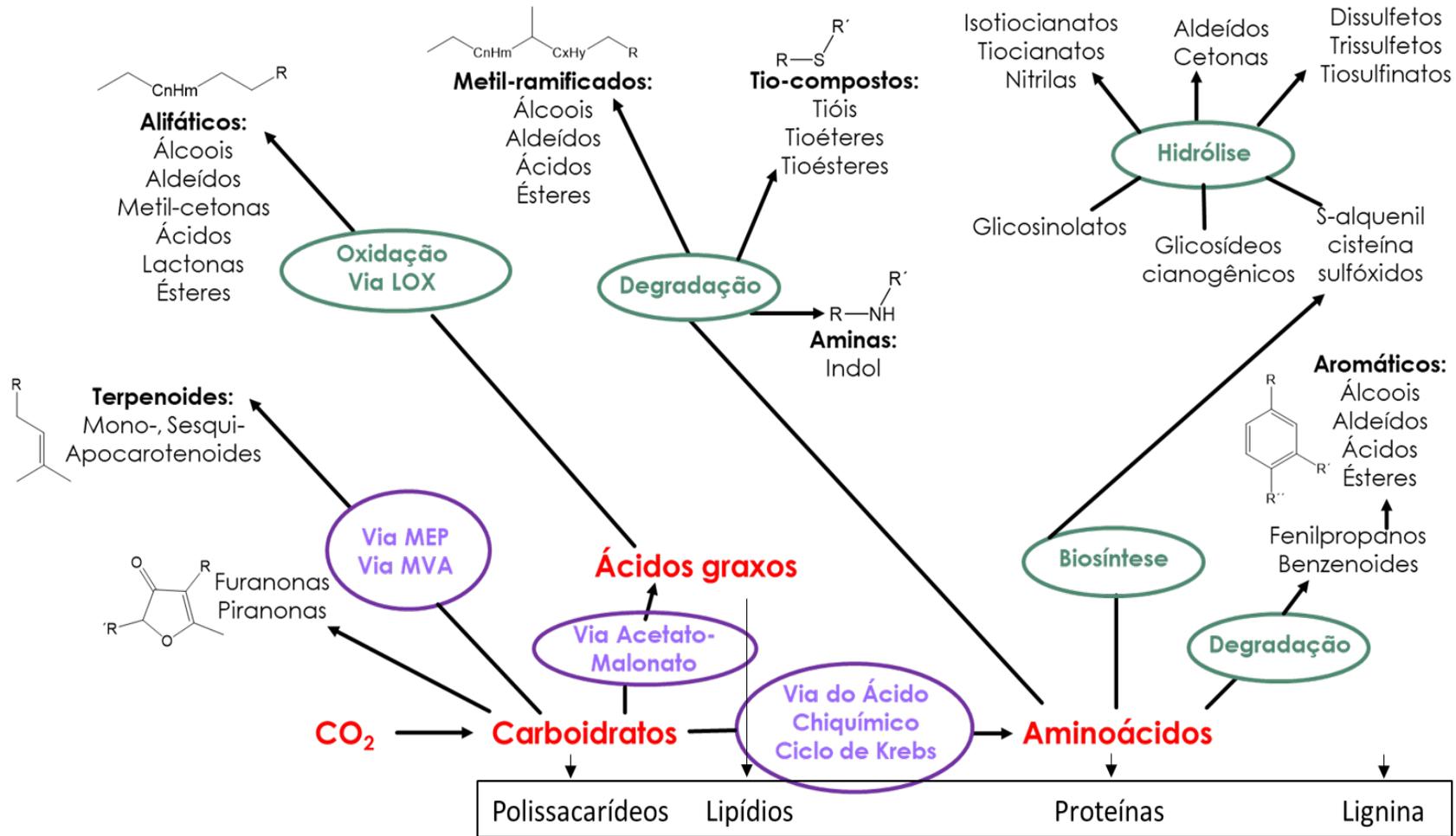
Quatro vias biossintéticas formadas a partir de compostos primários como carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos são responsáveis pelo metabolismo secundário das plantas: rota do ácido chiquímico, rota do ácido mevalônico (MVA), rota do ácido malônico e rota do metileritrol fosfato (MEP) (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008). A Figura 11 ilustra essas rotas e as principais classes dos compostos voláteis sintetizados em plantas.

Os ácidos graxos formam compostos voláteis (álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres e lactonas) através do seu catabolismo pelas vias de β -oxidação, α -oxidação e lipoxigenases (LOXs) (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008).

Os principais ácidos graxos insaturados, precursores aromáticos do vinho, são os ácidos linoleico e linolênico (BAUMES, 2009), que, quando sofrem degradação oxidativa pela via da LOX geram a maioria dos álcoois, aldeídos, ácidos e ésteres. A maioria dos processos que ocorrem nessa via e as enzimas responsáveis pela catalisação das reações que formarão os compostos voláteis está representada na Figura 12. Segundo Xu et al. (2015), várias enzimas dessa via foram reportadas em uva. Os principais compostos alifáticos voláteis C6 e C9 da uva são formados por caminhos similares derivados do metabolismo dos ácidos graxos (DUNLEVY et al., 2009). Baumes (2009) reporta que as atividades enzimáticas desses processos dependem mais da maturação da baga do que da cultivar.

Os aldeídos e álcoois C6 e C9 formados por essa via também estão envolvidos nas respostas de feridas e estratégias de defesa das plantas (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019). Além do processo de defesa, Pott, Osorio e Vallarino (2019) reportaram a atuação desses compostos nos processos de germinação de sementes e amadurecimento do fruto.

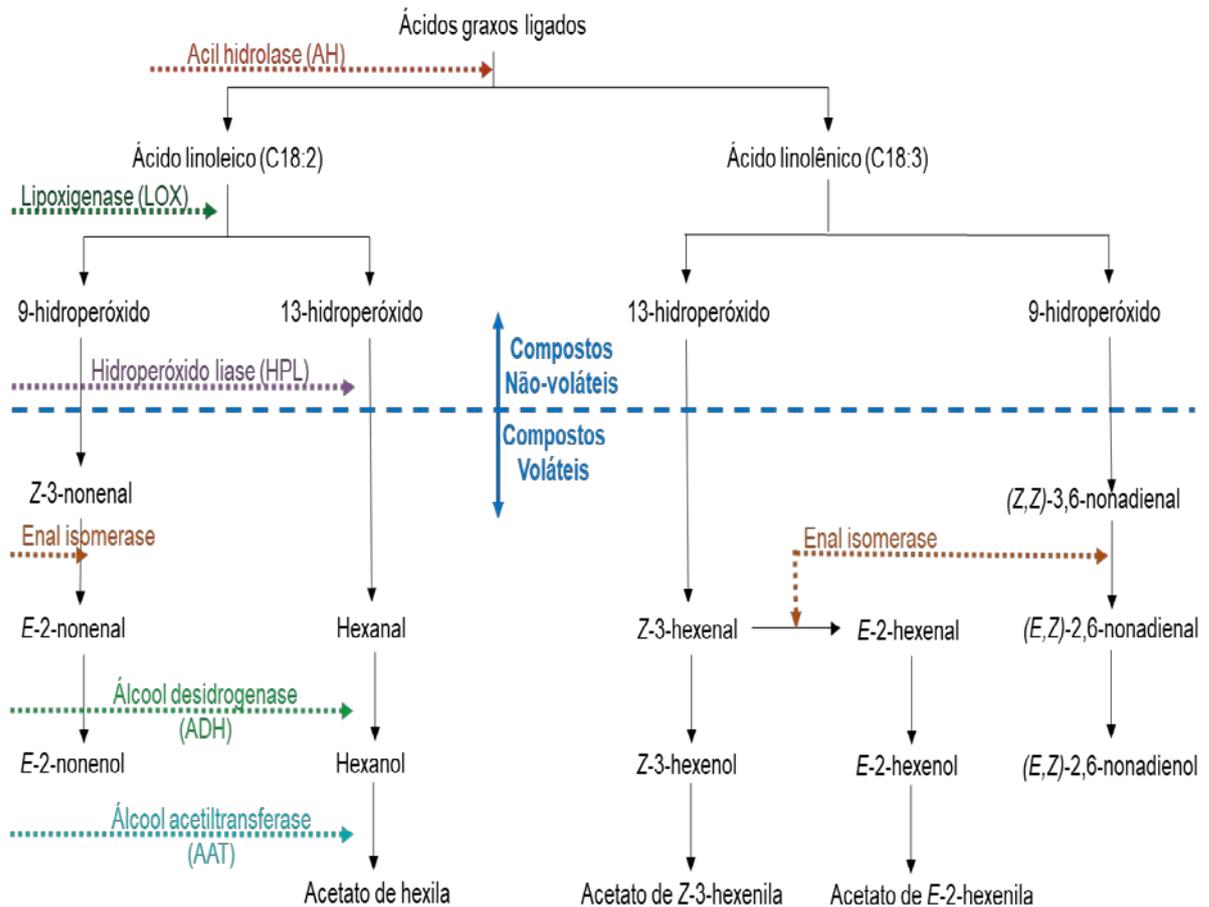
Figura 11. Rotas biossintéticas em plantas à partir dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos



Fonte: Adaptado de Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008) e Magalhães (2017).

MEP: metileritrol fosfato; MVA, ácido mevalônico; LOX: lipoxigenase.

Figura 12. Principais compostos voláteis biossintetizados em uvas a partir do metabolismo dos ácidos graxos



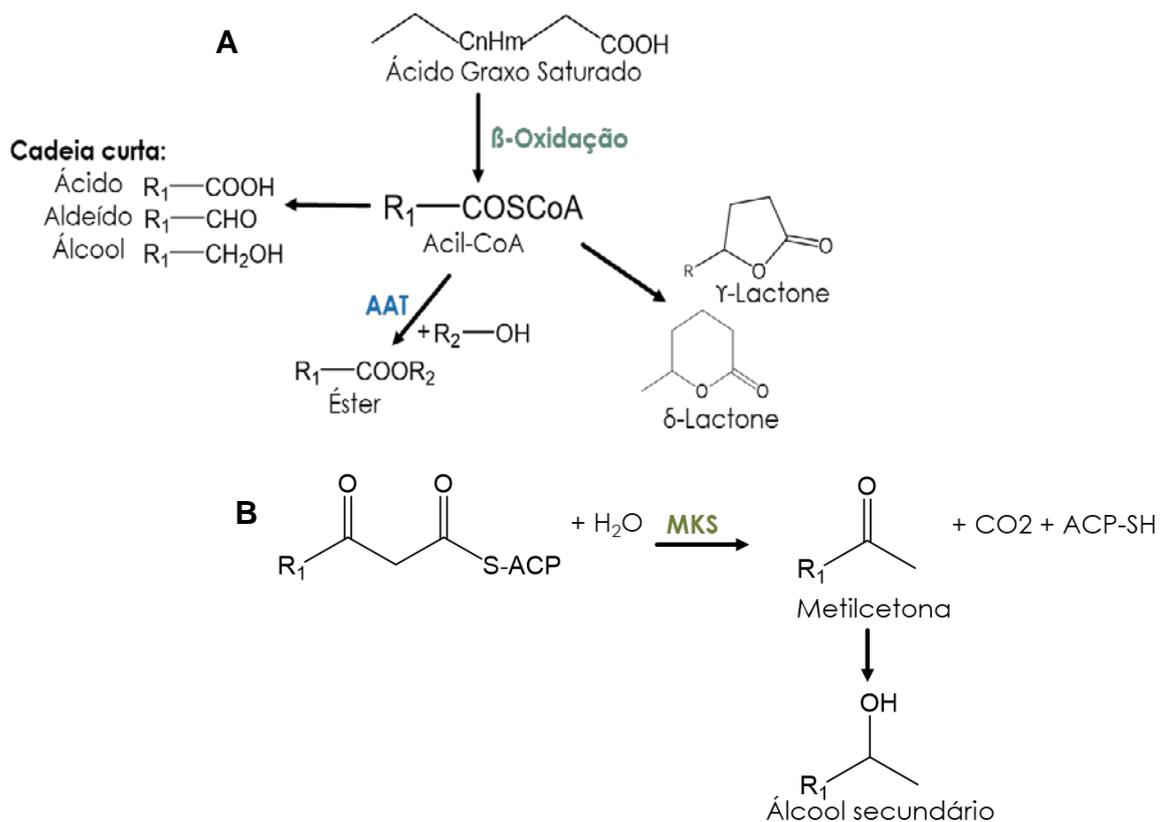
Fonte: Adaptado de Dunlevy et al. (2009).

A biossíntese de compostos C5 é menos estabelecida, entretanto já foi identificado em tomates que é catalisada em parte pela enzima 13-lipoxygenase (LOX), também responsável pela síntese de voláteis C6 (SHEN et al., 2014).

Ainda relativo ao metabolismo dos ácidos graxos, outro grupo de moléculas que têm importância sensorial são as lactonas, algumas apresentando aroma marcante em determinadas variedades de frutas. Todas as lactonas se originam do seu ácido carboxílico correspondente e podem ser formadas pela redução de oxo-ácidos oxo por NAD redutases, hidratação de ácidos graxos insaturados, epoxidação e hidrólise de ácidos graxos insaturados ou redução de hidroperóxido (Figura 13A) (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008).

Outra classe de compostos derivada do metabolismo de ácidos graxos é a das metilcetonas, que se originam da degradação β -oxidativa através de intermediários β -cetoacil-CoA, a partir dos quais se formam os álcoois secundários, que são aromáticos, como 2-pentanol e 2-heptanol (Figura 13B).

Figuras 13. Biossíntese de **(A)** ácidos de cadeia curta, aldeídos, álcoois, ésteres e lactonas, e **(B)** metilcetonas



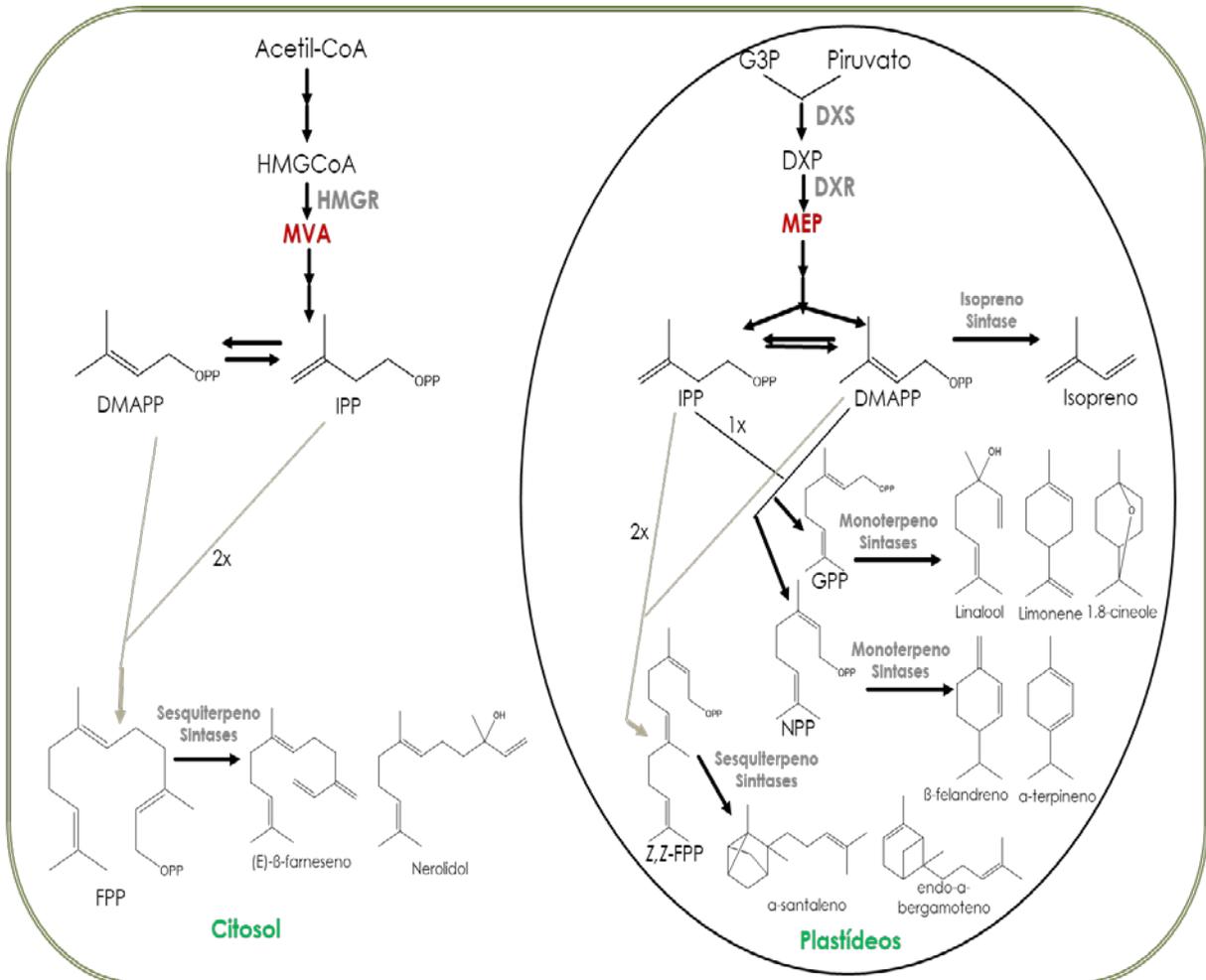
Fonte: Adaptada de Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008).

AAT, álcool acil-CoA transferase; MKS, metilcetona sintase; ACP, proteína carreadora de acil.

O metabolismo dos carboidratos dá origem aos compostos voláteis terpenoides pela via dos isoprenoides (Figura 14). Esses compostos têm relevância ecológica nas plantas por possuírem aroma floral e, dessa forma, atraem tanto os polinizadores adequados, garantindo a reprodução, como os dispersores de sementes, além de exercerem papel de defesa contra patógenos (DUNLEVY et al., 2009). Para o vinho são de grande relevância devido aos atributos sensoriais (aromas florais e frutados) e estão presentes nas uvas na forma livre ou glicosilada (BORGHEZAN, 2017). Segundo Dunlevy et al. (2009), os terpenoides desenvolvidos nas bagas sofrem

pouquíssima ou nenhuma alteração pela ação das leveduras durante a fermentação (DUNLEVY et al., 2009).

Figura 14. Biossíntese dos compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos em célula vegetal



Fonte: Adaptado de Chen et al. (2011), Kutchan et al. (2015), Magalhães (2017).

DMAPP: difosfato de dimetilalila; FPP: pirofosfato de farnesila; GPP: difosfato de geranila; IPP: difosfato de isoprenila; MEP: metileritrol fosfato; MVA, ácido mevalônico; G3P, gliceraldeído 3-fosfato; DXP: 1-deoxi-D-xilose-5-fosfato; DXS: 1-deoxi-D-xilose-5-sintase; DXR: 1-deoxi-D-xilose-5-redutase; Z,Z-FPP: Z,Z-pirofosfato; HMGR: hidroximetilglutaril-CoA redutase; HMGCoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA.

A via dos isoprenoides dá origem as unidades isoprênicas, C5 difosfato de isoprenila (IPP) e o seu isômero difosfato de dimetilalila (DMAPP), podendo ser formados tanto no citosol das plantas como nos plastídeos. Em plantas, o IPP é sintetizado por duas vias: via do ácido mevalônico (MVA), que é ativa no citosol e inicia-se com a condensação de três moléculas de acetil-CoA; e nos plastídeos,

formada a partir de uma via MVA independente com piruvato e gliceraldeídos 3-fosfato como precursores diretos e fostato de metileritritol (MEP) como intermediário. Nos plastídeos, o DMAPP é sintetizado pela via do MEP, que utiliza isopreno sintases para a formação do isopreno (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008; CHEN et al., 2011; AHMED et al., 2017; MAGALHÃES, 2017).

No citosol e nos plastídeos, IPP e DMAPP são alvos das enzimas prenil transferases, que produzem difosfato de prenil. No citosol, a condensação de duas moléculas de IPP e uma de DMAPP, catalisada pela enzima pirofostato de farnesila sintase (FPPS), resulta na formação de pirofostato de farnesila (FPP) (C15), o precursor de sesquiterpenos. Nos plastídeos, a condensação de uma molécula de DMAPP catalisada por pirofostato de geranila sintase (GPPS) forma o pirofostato de geranila (GPP) (C10), que é o precursor dos monoterpenos. Já a condensação de uma molécula de DMAPP com três moléculas de IPP, pela ação de pirofostato de geranil geranila sintase (GGPPS), produz pirofostato de geranil geranila (GGPP), que é o precursor de diterpenos. A terceira fase da biossíntese dos terpenos envolve a conversão das prenildifosfatos em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos pelas enzimas terpeno sintases (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008; CHEN, 2011; MAGALHÃES, 2017).

Ainda na via dos isoprenoides, os carotenoides são pigmentos tetraterpênicos (40C) que têm funções na fotossíntese, estabilidade da membrana, nutrição, fotoproteção e como antioxidantes, além de atuarem como precursores de vários compostos aromáticos (DUNLEVY et al., 2009). Eles são sintetizados nos plastídeos através da via do MEP e têm como passo limitante para a biossíntese o compartilhamento da enzima DXS (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019), ponto que pode ser observado no esquema da Figura 14. Dunlevy et al. (2009) descrevem que o perfil de carotenoides nas bagas depende da cultivar, assim como de fatores ambientais, como luz e estado hídrico da planta. Ebeler e Thorngate (2009) complementam que a maturação é importante e todos esses fatores têm efeitos significativos nos níveis de C13-norisoprenoides.

Na maturação das uvas, os níveis de carotenoides diminuem após o *véraison* e os níveis dos C13-norisoprenoides aumentam (DUNLEVY et al., 2009), tanto por formação não enzimática ou catalisados por enzimas oxidativas (como as dioxigenases) (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019); se estiverem glicosilados na baga

podem ser liberados na fermentação (BORGHEZAN, 2017). Os norisoprenoides estão entre os quais conferem os mais marcantes aromas no vinho e colaboram com atributos de flores e frutos. A β -ionona, β -damascenona, vitispirano, actinidol, 4-(2,3,6-trimetilfenil)buta-1,3-dieno (TPB), 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN) e 2,2,6-trimetilciclohexanona (TCH) são os representantes mais frequentemente relatados dessa classe (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019).

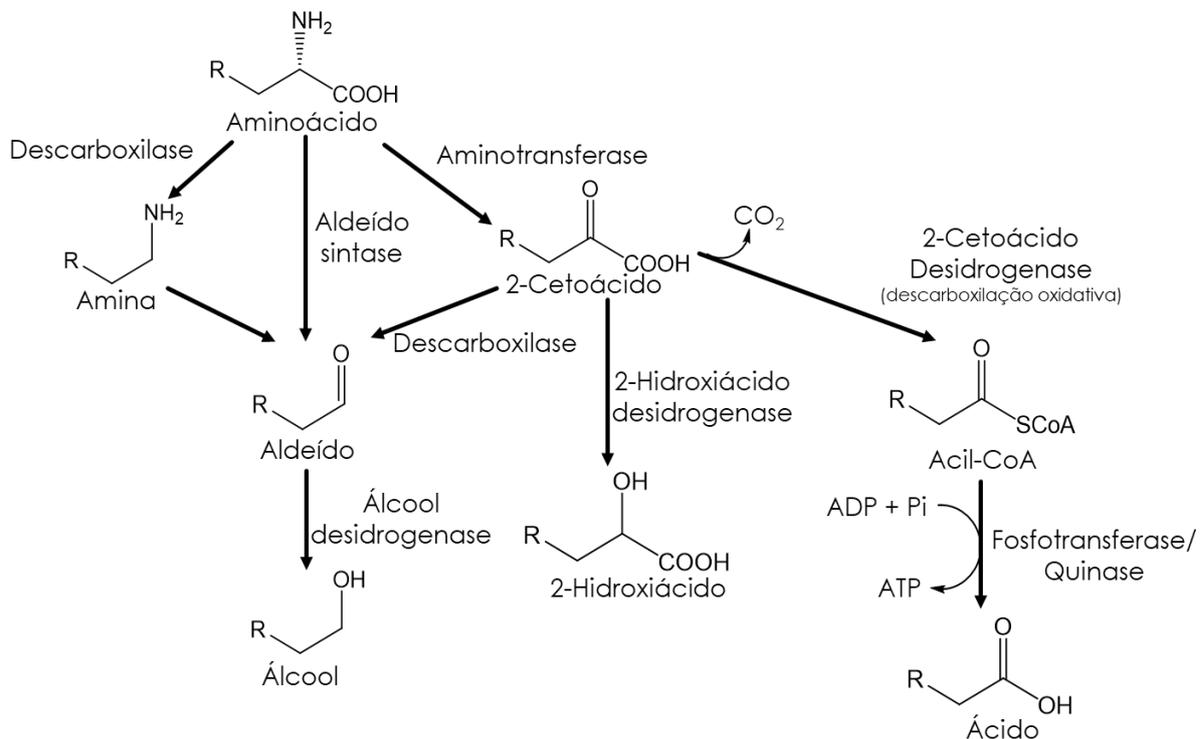
Os carboidratos também dão origem às furanonas por vias secundárias, como o ciclo das pentoses-fosfato (MAGALHÃES, 2017). Alañón et al. (2013) relataram que as furanonas têm origem da degradação térmica das hexoses e pentoses, e as notas aromáticas desses compostos são caramelo, tostado e doce. Waterhouse, Sacks e Jeffery (2016) descrevem a formação dos compostos carbonil-furanos (furfural, sotolon, 5-hidroximetilfurfural) no vinho através de reações não-enzimáticas da degradação do açúcar em condições ácidas a altas temperaturas.

O terceiro precursor de destaque da Figura 15 são os aminoácidos, de cadeia ramificada ou cíclica. Álcoois, aldeídos, ácidos e ésteres de cadeia ramificada são derivados do catabolismo de aminoácidos ramificados, e os compostos aromáticos derivam da degradação dos aminoácidos aromáticos. Segundo Kaminaga et al. (2006) e Tieman et al. (2006), essas rotas não estão totalmente esclarecidas.

Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008) citam que alguns compostos derivados de aminoácidos são abundantes em várias frutas, inclusive em variedades de uvas. Os compostos 3-metilbutanal, 3-metilbutanol e ácido 3-metil butanoico são derivados do aminoácido leucina, e dentre os derivados da fenilalanina estão os compostos fenilacetaldeído e feniletanol. Os ácidos e os álcoois derivados de aminoácidos podem ser esterificados a compostos com grande impacto no aroma de frutos. Tadmor et al. (2002) sinaliza que a modulação dessas duas substâncias (fenilacetaldeído e 2-feniletanol) é importante pois exercem efeito duplo, ou seja, em baixa concentração tem odor agradável com notas de flores, enquanto em alta concentração, o odor é desagradável, nauseante.

Os compostos voláteis fenilpropanoides e benzenoides, derivados da fenilalanina, são biossintetizados por várias enzimas que foram isoladas e caracterizadas, entretanto a rota biossintética ainda precisa ser esclarecida (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008).

Figura 15. Compostos voláteis biossintetizados a partir de aminoácidos



Fonte: Adaptada de Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008).

Os aminoácidos metionina e cisteína originam os compostos voláteis contendo enxofre, que são responsáveis pelo odor de alho e cebola. A via biossintética envolve a alquilação da cisteína em glutationa, seguida pela quebra e oxidação para formar sulfóxidos ou tioalquilação da cisteína ou *O*-acetil-serina. Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008) descrevem que, quando o tecido da planta é danificado, precursores de aroma são clivados enzimaticamente pela alinase e dão origem a uma série de compostos de enxofre voláteis que passam por transformação química em fase de vapor.

1.4.2 Compostos voláteis provenientes das fermentações

No processo de vinificação ocorre a transformação dos açúcares glicose e frutose em piruvato (glicólise) (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016) e, posteriormente, em álcool e gás carbônico. As leveduras utilizam a glicólise para gerar energia e produzir compostos para o seu crescimento e outras funções fisiológicas, bem como para a produção de metabólitos voláteis e não-voláteis (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

De acordo com Ugliano e Henschke (2009), nesse processo conhecido como fermentação alcoólica, há a participação de várias enzimas e a presença ou ausência de determinados nutrientes modulam as reações e a produção de determinados compostos aromáticos.

Compostos da uva que podem entrar na célula de levedura, seja por difusão da molécula lipofílica não-dissociada ou por transporte mediado por transportadores de membrana, estão potencialmente sujeitos a transformações bioquímicas por funções enzimáticas (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

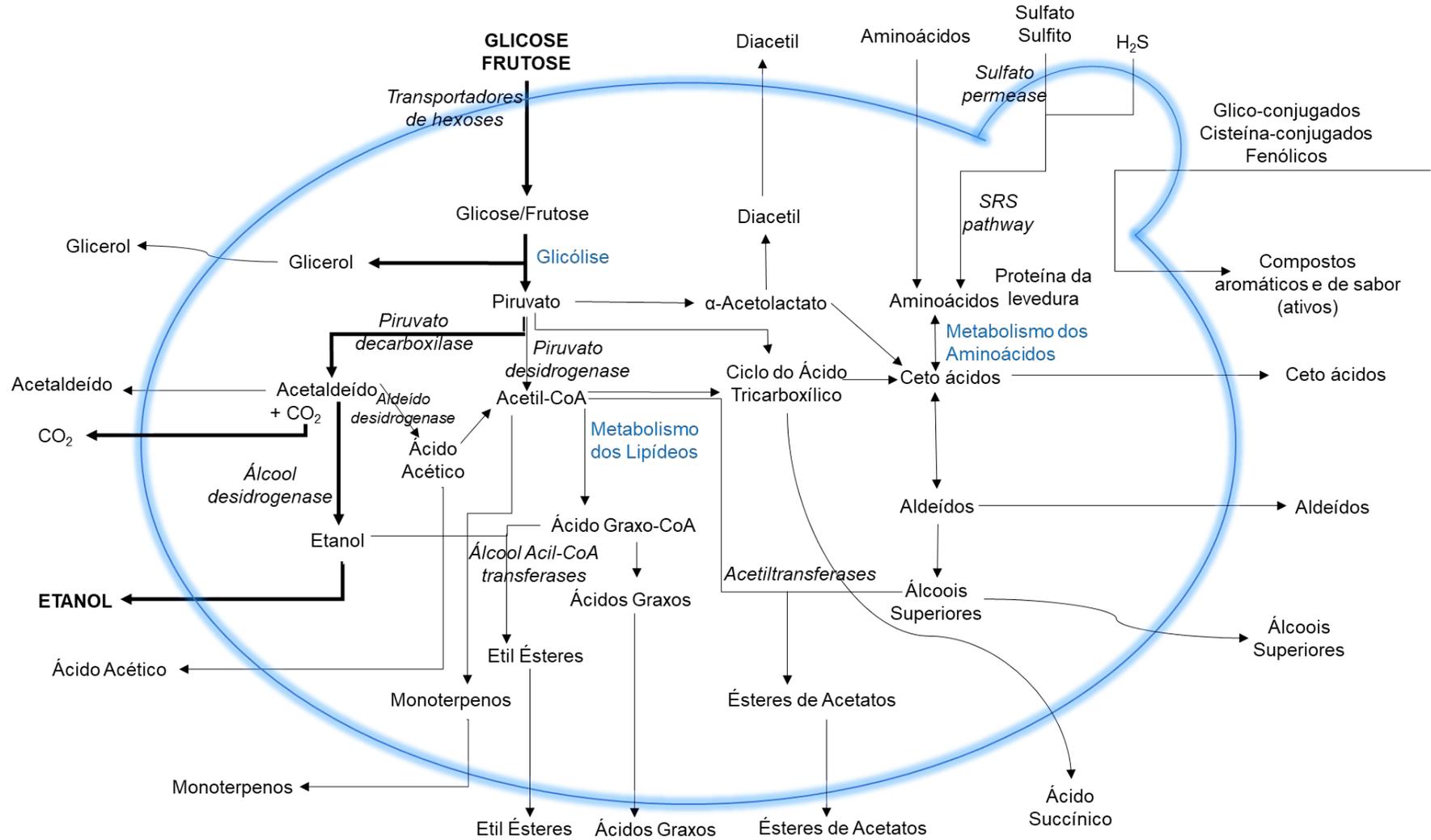
Baseado em Ugliano e Henschke (2009), da interação da levedura com os compostos da uva, os seguintes processos serão desenvolvidos:

1) Vias anabólicas/catabólicas – os compostos formados por essas vias são considerados o aroma fermentativo: 1a) metabolismo dos açúcares (através das vias da glicólise e ciclo de Krebs) e dos 1b) lipídeos, produzindo ésteres, álcoois superiores, ácidos, carbonilas; 1c) metabolismo do nitrogênio/aminoácidos (álcoois superiores, ácidos, carbonilas e compostos sulfurosos voláteis;

2) Biotransformações – reações que ocorrem com os aromas varietais: hidrólise (monoterpenos, norisoprenoides, derivados benzênicos), clivagem não hidrolítica, redução, esterificação, descarboxilação.

Na Figura 16 está a representação de derivatização e síntese dos compostos pelas leveduras.

Figura 16. Representação de derivatização e síntese dos compostos aromáticos ativos a partir dos metabolismos dos açúcares, lipídeos, aminoácidos e compostos sulfurosos pelas leveduras do vinho



Fonte: Adaptado de Swiegers et al. (2005), Ugliano e Henschke (2009) e Waterhouse, Sacks e Jeffery (2016).

1a) Metabolismo dos carboidratos (glicólise):

Além dos principais produtos formados durante a fermentação, a saber, álcool e gás carbônico pela *Saccharomyces*, também são formados, como parte do processo, glicerol e ácido acético (parte da fermentação gliceropirúvica). O acetaldeído formado a partir do piruvato será reduzido a etanol e gás carbônico (principais produtos da fermentação dos açúcares das uvas pela *Saccharomyces cerevisiae*) (UGLIANO; HENSCHKE, 2009; WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Do catabolismo dos açúcares, compostos presentes na baga/mosto e do metabolismo das leveduras são formados: álcoois superiores, etil ésteres, acetatos, carbonilas, ácidos graxos voláteis, fenóis, voláteis sulfurosos e monoterpenoides (SWIEGERS et al., 2005; DUNLEVY et al., 2009). O acúmulo destes compostos no vinho depende da cepa da levedura, da composição do mosto (composição química, física e de nutrientes) e das condições de fermentação.

1b) Metabolismo dos lipídeos:

Através do metabolismo dos ácidos graxos, pela via da Acetil-CoA, tem-se a formação dos ácidos graxos e dos etil ésteres correspondentes.

O Acetil-CoA e o Malonil-CoA são substratos para a formação dos ácidos graxos, alongando a cadeia em dois carbonos para produzir ácido palmítico. Essa formação é sintetizada no complexo ácido graxo sintase, e, após a formação do ácido palmítico (C16), este pode ser usado para produzir outros ácidos graxos. A maior fonte de Acetil-CoA durante a fermentação provém do ácido acético, formado pela oxidação do acetaldeído. Como não pode ocorrer a desaturação em condições anaeróbias, a síntese dos fosfolipídeos para, resultando no acúmulo de ácidos graxos saturados que inibirão os passos iniciais da formação da Acetil-CoA, e, assim, os ácidos graxos de cadeia média serão liberados (SWIEGERS et al., 2005; ZAMORA, 2009; WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Os ésteres etílicos são formados através da esterificação de um ácido graxo de cadeia média (ácido graxo condensado a CoA) com o etanol ou através de reações não enzimáticas. A reação com o ácido graxo condensado a Acetil-CoA é favorável, se comparada com o ácido graxo livre (UGLIANO; HENSCHKE, 2009; WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016). A formação dos etil ésteres é dependente dos precursores, principalmente da concentração de ácidos graxos (ILC et al., 2016a).

Anteriormente Noguero-Pato et al. (2009) reportaram que essa formação também está ligada à cepa de levedura, temperatura de fermentação e grau de aeração.

1c) Metabolismo dos aminoácidos:

Os aminoácidos são a maior fonte de nitrogênio para o crescimento das leveduras durante a fermentação, e a falta de nitrogênio é um fator limitante para o crescimento da levedura e para a taxa de fermentação. A levedura pode sintetizar todos os aminoácidos necessários para sua função e crescimento, se forem fornecidas fontes de carbono, nitrogênio e cofatores necessários (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

A síntese dos álcoois superiores primeiramente envolve a síntese dos α -ceto ácidos, que são formados através da via de Ehrlich ou uma via anabólica envolvendo a síntese de aminoácidos de cadeia ramificada a partir da glicose. O primeiro passo no catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada é a transaminação, formando os respectivos α -ceto ácidos. A piruvato descarboxilase converte o α -ceto ácido ao aldeído ramificado correspondente, e a álcool desidrogenase catalisa a redução deste aldeído ao álcool superior correspondente. Por outro lado, o aldeído pode ser oxidado ao ácido equivalente (SWIEGERS et al., 2005).

Os ésteres de acetato são formados através da condensação de álcoois superiores com Acetil-CoA, catalisados na célula pelas enzimas álcool acetiltransferase (UGLIANO; HENSCHKE, 2009; WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016). A concentração final desses compostos é o resultado do equilíbrio entre as enzimas álcool acetiltransferase do álcool que promovem a síntese e as enzimas esterases que promovem a hidrólise.

Os ésteres derivados da fermentação são amplamente responsáveis pelo aroma frutado do vinho e, portanto, desempenham um papel importante na composição sensorial dos vinhos tintos e brancos jovens. Os dois principais grupos de ésteres derivados da fermentação que estão associados ao frutado do vinho são os ésteres de acetato, acetato de etila, acetato de isobutila, acetato de isoamila, entre outros, e os etil ésteres de ácidos graxos (normalmente de C3 a C12), hexanoato de etila, octanoato de etila e outros (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

2) Biotransformações:

Duas biotransformações realizadas pelas leveduras sobre compostos que são considerados precursores na baga incluem:

- a hidrólise dos glicosídeos durante a fermentação devido a enzimas, como glicosidases e glucanases (UGLIANO; HENSCHKE, 2009);
- redução de compostos, por exemplo, a redução do geraniol a citronelol (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Tratando-se de um espumante produzido pelo método clássico/*Champenoise*, que realiza duas fermentações (a segunda ocorrendo na garrafa), nessa segunda etapa, além da fermentação alcoólica, ocorre o envelhecimento sobre as borras (“*sur lie*”). A característica mais marcante desse tipo de vinho é a efervescência durante o processo de degustação; e, as propriedades espumantes e outras propriedades sensoriais dependem do processo de autólise (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009), que irão conferir equilíbrio e características aromáticas e de sabor a esses vinhos (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006).

De acordo com Alexandre e Guilloux-Benatier (2006), o processo de autólise (lise das leveduras) natural somente começa a ocorrer de dois a quatro meses após a conclusão da segunda fermentação. Esse processo depende da composição do vinho base, do envelhecimento e da cepa, e os principais fatores que podem afetar a autólise são temperatura, pH e a concentração de etanol.

No processo de autólise são liberados para o meio vários compostos como aminoácidos, ácidos graxos, peptídeos e manoproteínas que alteram a composição final de um espumante significativamente. Os ácidos graxos liberados podem afetar a composição volátil e dar origem a outros compostos, como ésteres, cetonas e aldeídos (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ; PUEYO, 2009).

Assim, de acordo com Martínez-Rodríguez e Pueyo (2009), vários compostos voláteis são formados ou liberados durante a autólise, alguns com baixos níveis de percepção, sendo os ésteres a principal classe. Em sua revisão, informam que outros autores relacionam a qualidade dos vinhos espumantes à concentração de ésteres, como caproato de isoamila, acetato de octila, acetato de feniletila, caprato de feniletila, linoleato de etilo e succinato de dietila.

1.5 Extração e análise dos compostos voláteis

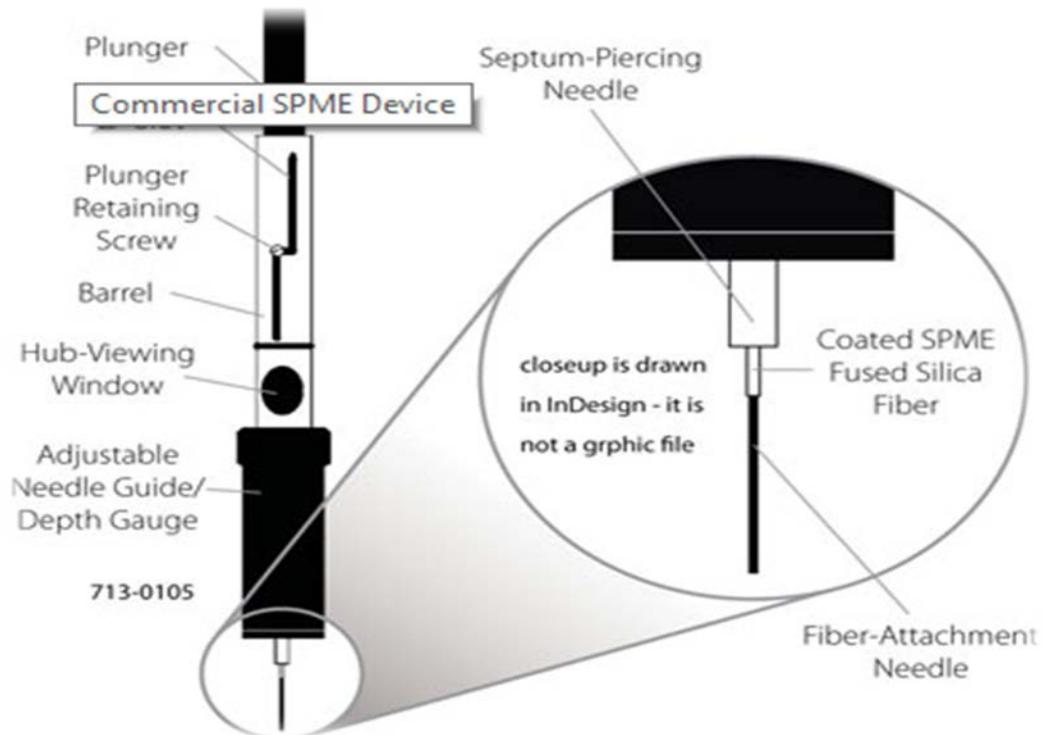
Vários autores já descreveram a análise de compostos voláteis em vinho base e espumante com a finalidade de avaliar o perfil aromático produzido durante a segunda fermentação e envelhecimento. As técnicas mais citadas são via HS-SPME/GCxGC (HS – *headspace*; SPME – do inglês, *solid phase micro extraction*; GC - do inglês, *gas chromatography*) (WELKE et al., 2013; WELKE et al., 2014a e ; SOARES et al., 2015), por SBSE-LD/GC (SBSE-LD – do inglês, *stir bar sorptive extraction – liquid desorption*) (COELHO et al., 2009) e por SPE/GC (SPE - do inglês, *solid phase extraction*) (CALIARI et al., 2014).

A SPME foi desenvolvida no início da década de 90 e tem sido aplicada em vários tipos de matrizes. É uma técnica de preparação de amostra baseada na sorção (absorção e/ou adsorção), usada para simultaneamente amostrar, extrair e pré-concentrar os analitos. É uma técnica bastante utilizada para avaliação de aromas, e dentre as matrizes que essa técnica pode ser aplicada, estão incluídos: produtos relacionados às videiras, como uvas, mostos, vinhos de mesa, fortificados, e vinhos espumantes.

A amostragem por SPME pode ser feita por imersão ou extração direta (IM-SPME), em que a fibra revestida é inserida na amostra e os analitos são transportados diretamente da amostra para a fase de extração ou *headspace* (HS-SPME). A eficiência da extração e reprodutibilidade da técnica de SPME são dependentes de vários parâmetros como revestimento da fibra de SPME, temperatura e tempo de extração, quantidade de amostra, tipo e uniformidade da matriz de amostra, composição química da amostra, efeito da agitação, adição de sal (efeito *salting-out*), entre outros.

No mercado, existem fibras revestidas com diversos materiais, com diferentes polaridades, espessuras de filme e tipos de interação com o analito (absorção e adsorção). A Supelco® possui um portfólio de fibras/revestimentos para vários tipos de analitos a serem analisados. A Figura 17 apresenta a ilustração de um dispositivo comercial de SPME com foco na fibra.

Figura 17. Dispositivo comercial de SPME com foco na fibra



Fonte: Lord et al. (2016).

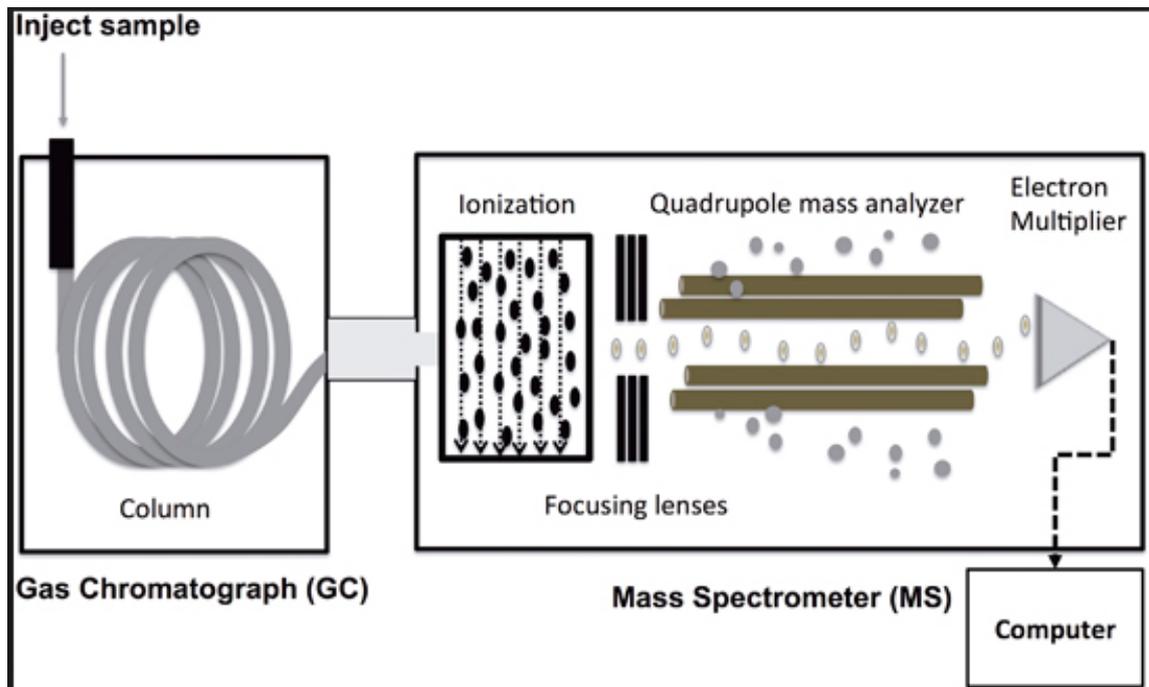
Após a amostragem, extração e concentração dos compostos por SPME, a fibra será exposta no injetor do cromatógrafo a gás que separará os componentes da mistura, e o espectrômetro de massas caracterizará cada um dos componentes individualmente com base em uma biblioteca de dados.

A cromatografia a gás é uma das técnicas de separação universal mais utilizadas em análises de alimentos, principalmente em estudos de composição volátil e semi-volátil, aromas e pesticidas (LUYKX e VAN RUTH, 2008). A separação por cromatografia a gás baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa). A eluição dos analitos na coluna ocorre de acordo com a dispersão e interações específicas entre analitos e coluna, permitindo que compostos de diferentes polaridades sejam espalhados pelo espaço total de eluição. Quando acoplado a um espectrômetro de massas, passa a ser chamado de GC-MS (do inglês, *gas-chromatography-mass spectrometry*).

Com a finalidade de serem analisados por GC-MS, os compostos devem ser suficientemente voláteis e termicamente estáveis. Os íons requeridos para a análise de massas são geralmente formados pela ionização via impacto de elétrons. A fonte

de ionização de elétrons (EI, *electron ionization*) consiste em um filamento aquecido emitindo elétrons a 70 eV: dessa forma, eles são acelerados em direção a um ânodo e colidem com a molécula no estado gasoso. Os fragmentos formados e carregados positivamente (cátions e cátions radicais) são direcionados através do quadrupolo até o detector (Figura 18).

Figura 18. Ilustração do acoplamento do cromatógrafo a gás ao detector de espectrometria de massas



Fonte: Kim et al. (2016).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi verificar como diferentes condições de manejo no campo, como escolha de clone, porta-enxerto, sistema de condução ou densidade de plantio alteram o perfil aromático da uva Chardonnay cultivada e dos vinhos espumantes produzidos no sul de Minas Gerais.

Os objetivos específicos foram:

- padronizar o método de análise para a avaliação dos compostos voláteis na uva (aromas primários), mosto (aromas pré-fermentativos), vinho base (aromas secundários) e espumante (aromas terciários);
- identificar os aromas presentes nas matrizes (baga, mosto, vinho base e espumante) em diferentes manejos da videira (sistema de condução, densidade de plantio, clones e porta-enxertos);
- avaliar o perfil dos compostos aromáticos durante a vinificação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal - uvas e condições climáticas

As uvas são provenientes de vinhedos da cultivar Chardonnay instalados no Núcleo Tecnológico Uva e Vinho da EPAMIG, em Caldas – MG na Serra da Mantiqueira, localizado a 21°55'S e 46°23'O, a uma altitude de 1.100 m. O clima predominante é o tropical de altitude, registrando temperaturas médias entre 18°C e 22°C e índice pluviométrico anual entre 1.000 e 1.500 mm. O solo é argiloso e os vinhedos não são irrigados devido ao regime de chuvas na região.

A poda adotada é o duplo cordão esporonado, realizada no final de julho ou início de agosto com colheita realizada na primeira quinzena de janeiro (ciclo de 140 a 150 dias). Os vinhedos passam por tratamentos fitossanitários quinzenais após a brotação, e, com o início das chuvas, os tratamentos passam a ser semanais devido à suscetibilidade desta cultivar ao míldio e podridões-do-cacho (SOUZA et al., 2020). Outros tratos culturais adotados são: quebra da dormência após a poda, desbrota no início da brotação e desponte a 20 cm do terceiro fio.

Os dados climáticos das safras 2016, 2017 e 2018 foram registrados pela estação automática do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), instalada nas dependências do Núcleo (Figuras 19, 20, 21 e 22).

Figura 19. Condições climáticas - pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2016

Colheita: 12/01/2016 (densidades de plantio)

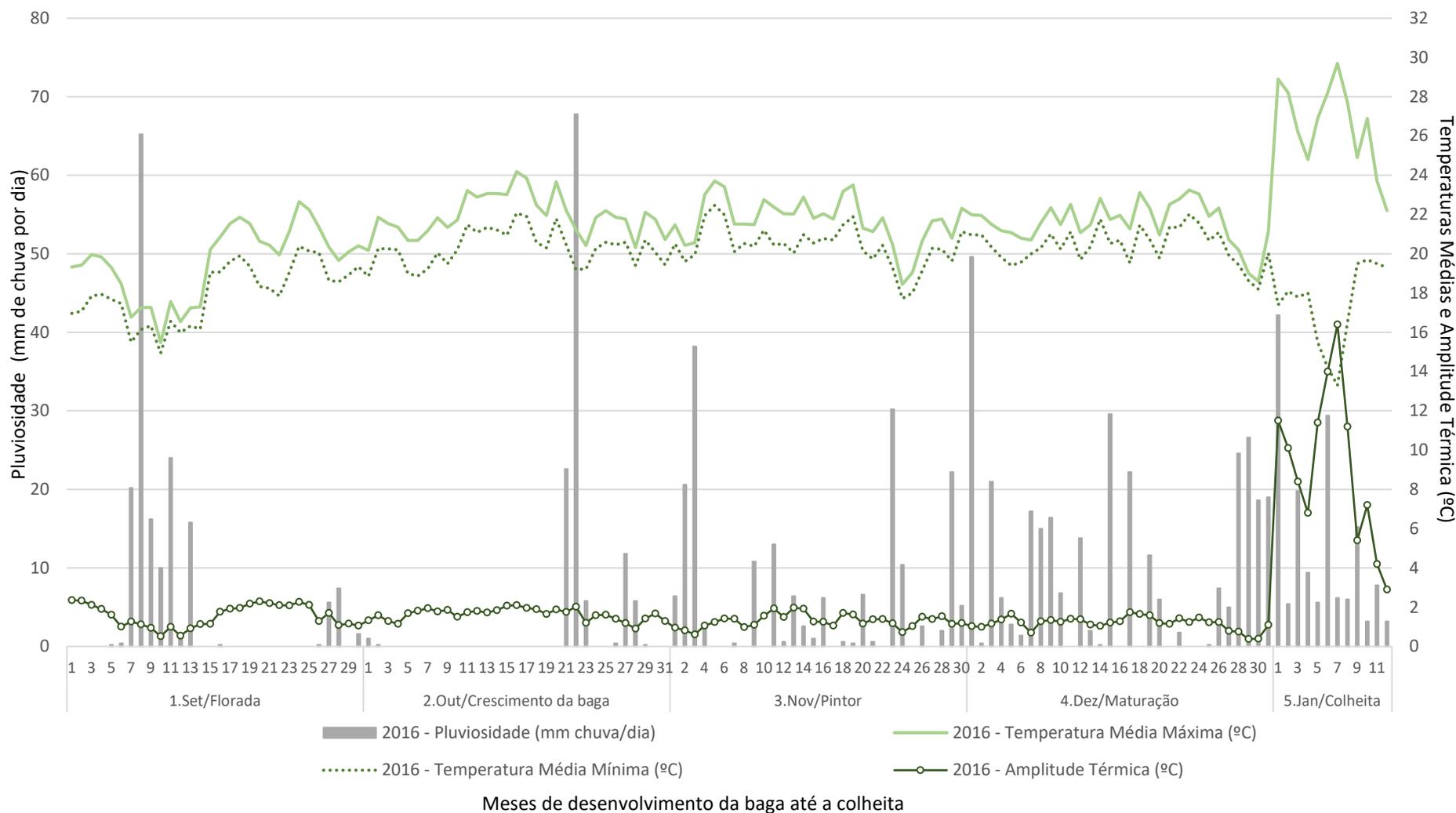


Figura 20. Condições climáticas - pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2017

Colheita: 09/01/2017 (densidades de plantio), 10/01/17 (clones e sistemas de condução) e 11/01/2017 (porta-enxertos)

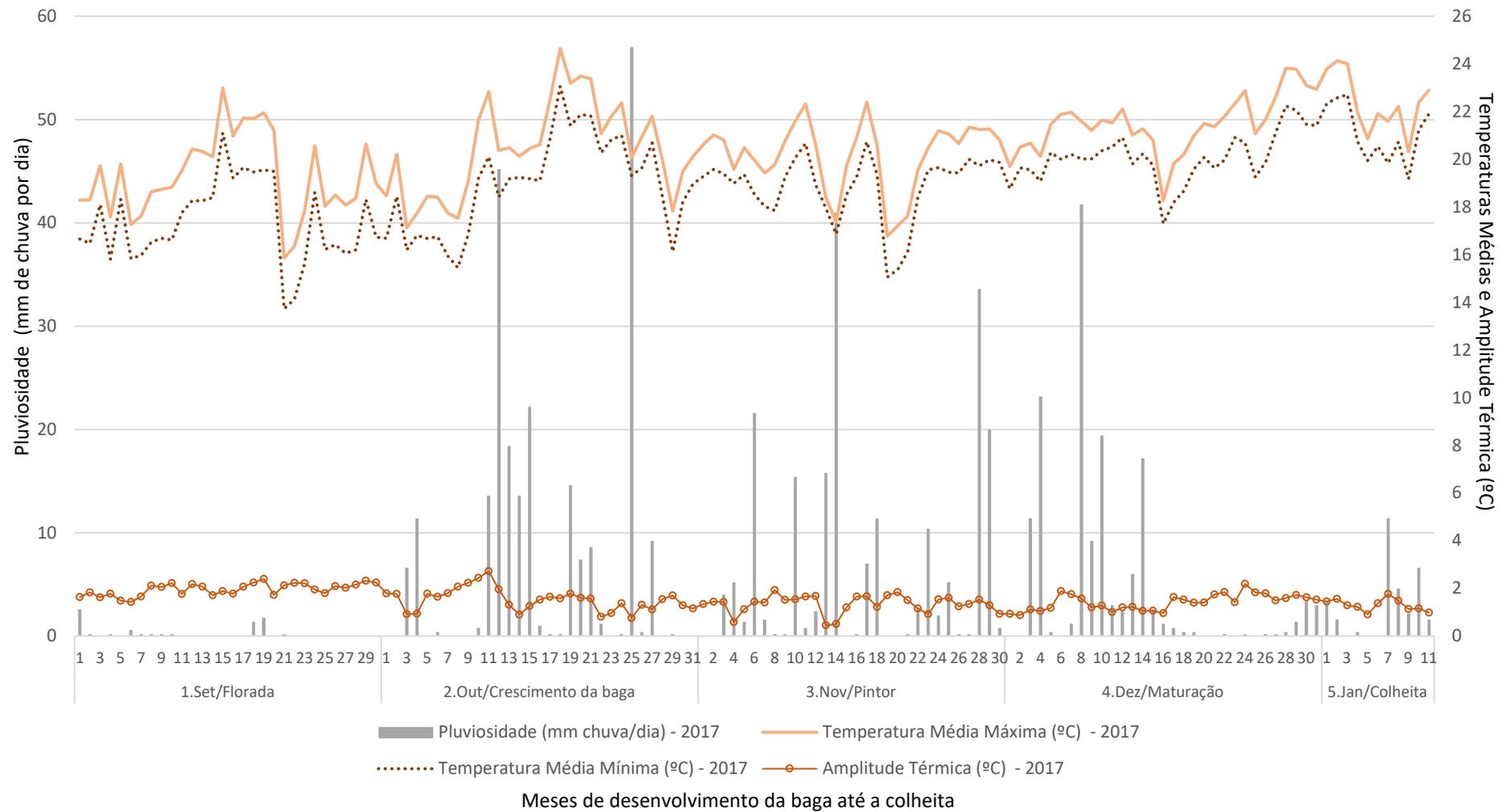


Figura 21. Pluviosidade (mm de chuva/dia), temperatura média mínima e máxima (°C) e amplitude térmica (°C) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita na safra de 2018

Colheitas: 08/01/2018 (clones e porta-enxertos), 10/01/2018 (sistemas de condução) e 24/01/2018 (densidades de plantio)

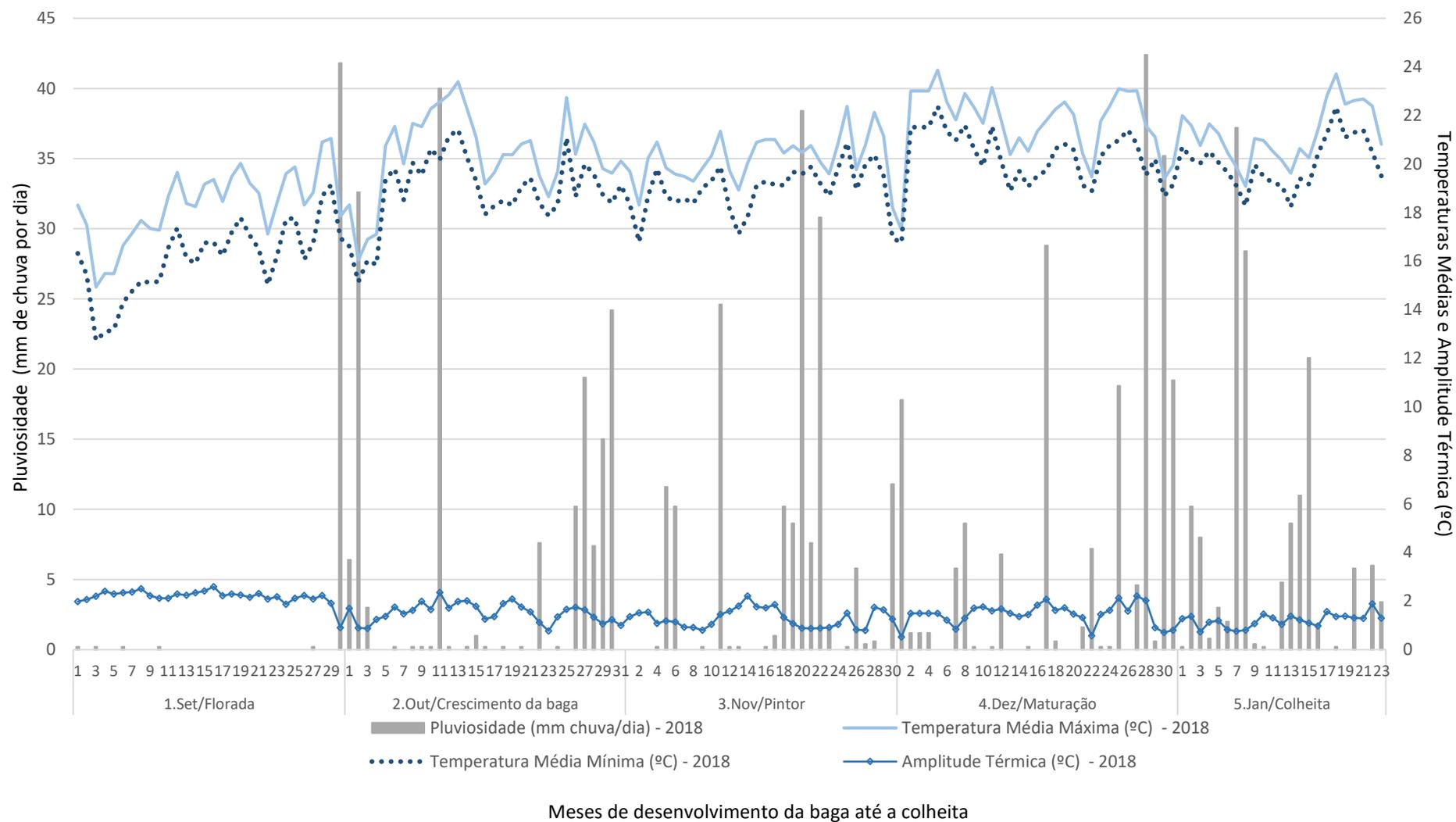
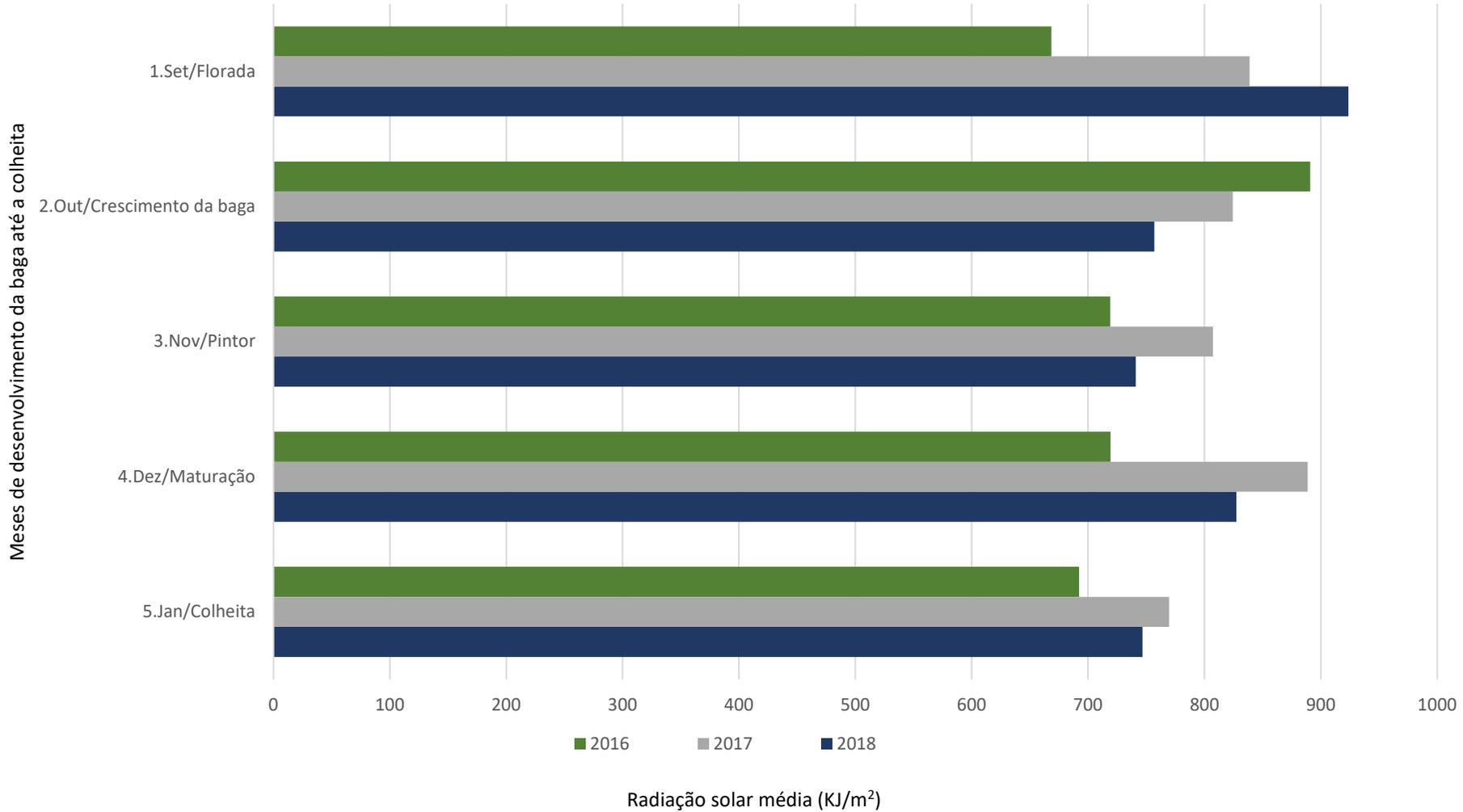


Figura 22. Radiação solar média (KJ/m²) nos meses de desenvolvimento da baga até a colheita nas safras 2016, 2017 e 2018



Em todos os experimentos, a data da colheita foi determinada pelo acompanhamento da maturação tecnológica das bagas por amostragens semanais de 100 bagas por tratamento, sendo avaliados os teores de sólidos solúveis (°Brix) em refratômetro digital portátil (modelo PAL 1, ATAGO); acidez total titulável (expresso em g L⁻¹ de ácido tartárico) pela titulação com NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína como indicador a pH 8,2; pH em medidor de pH Micronal modelo B474 calibrado com padrões 4,0 e 7,0. Estas análises foram realizadas logo após a amostragem, no Laboratório de Enoquímica do Núcleo Tecnológico Uva e Vinho da EPAMIG.

Na colheita, todas as análises foram realizadas em quadruplicata.

Para produzir um bom vinho espumante que contenha em torno de 11,5% de álcool (v/v) o vinho base, a maturação da baga com relação a acidez deve estar em torno de 7,5 a 9,75 g L⁻¹ de ácido tartárico, pH entre 3,2 e 3,4, e o teor de sólidos solúveis totais de 16 a 20°Brix (WEBINÁRIOS EPAMIG, 2020).

Para a avaliação dos compostos voláteis nas uvas, fez-se um *pool* das bagas coletadas por experimento que foram congeladas e mantidas em ultrafreezer a -80°C até o momento do preparo das amostras para SPME.

3.1.1 Experimento 1: Clones

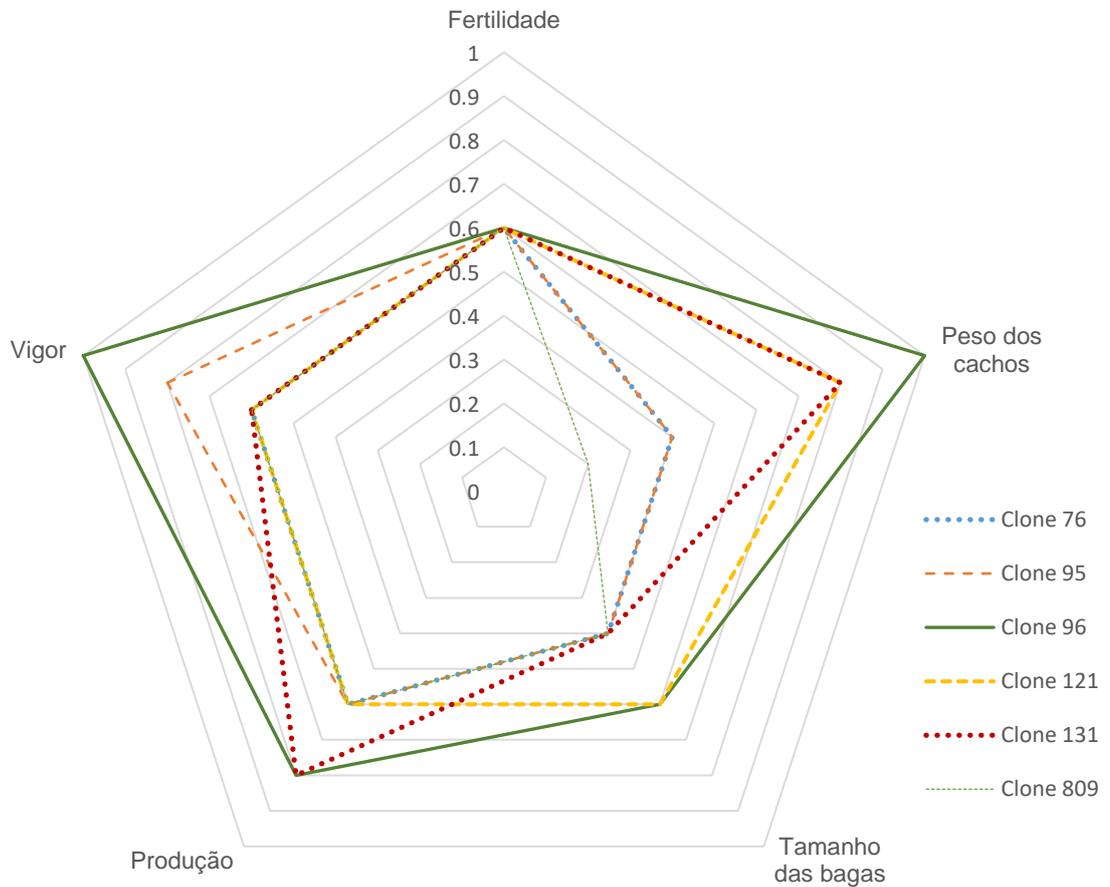
Os institutos ENTAV-INRA (*Etablissement National Technique pour l'Amelioration de la Viticulture-Institut National de la Recherche Agronomique*) possuem 31 clones selecionados e aprovados da cultivar Chardonnay (PLANTGRAPE, 2020). As mudas dos clones utilizados nesse estudo foram fornecidas pela Vitacea Brasil, viveiro certificado pelos institutos franceses. Os dados extraídos do site Plantgrape estão reportados na Tabela 2 (identidade e viabilidade dos clones e os dados técnicos) e na Figura 23 (dados agronômicos).

O experimento de competição de clones, instalado em 2011, é composto por seis clones denominados 76, 95, 96, 121, 131 e 809 (ou Muscat) enxertados sobre 1103Paulsen na densidade de 4000 plantas ha⁻¹ e conduzidos em espaldeira com três fios de arame com poda curta (duas gemas) em duplo cordão esporonado.

Tabela 2. Descrição dos clones utilizados nos ensaios pela EPAMIG

| Descrição | Clone 76 | Clone 95 | Clone 96 | Clone 121 | Clone 131 | Clone 809 |
|---------------------------------|---|--|--|--|-----------------------|--|
| Identidade e viabilidade | | | | | | |
| Origem | Côte-d'Or | Côte-d'Or | Côte-d'Or | Côte-d'Or | Côte-d'Or | Saône-et-Loire |
| Aprovação | 1971 | 1971 | 1971 | 1971 | 1971 | 1985 |
| Seleção | ENTAV | ENTAV | ENTAV | INRA | INRA | ENTAV |
| Referência Agronômica | Borgonha Champagne Languedoc | Borgonha Champagne Languedoc | Borgonha Champagne Languedoc Val-de-Loire | Borgonha Champagne | Borgonha Champagne | Borgonha |
| Dados técnicos | | | | | | |
| Conteúdo de açúcar | médio a alto | médio a alto | médio a alto | médio | médio a alto | alto |
| Acidez total | médio | baixo a médio | médio a alto | médio | médio | alto |
| aptidão enológica | vinhos refinados e muito distintos, aromáticos e equilibrados | aromas refinados, estrutura rica e equilibrada | vinhos frescos | vinhos aromáticos, refinados, distintos e equilibrados | vinhos frescos | muscaté e vinhos refinados com estrutura equilibrada |

Figura 23. Dados agrônômicos dos clones que são avaliados nesse trabalho (A escala variando de 0,2 a 1 significa potencial de baixo a alto, respectivamente)



Os clones estudados foram selecionados pelas características agrônômicas que apresentam (fertilidade, produção, tamanho das bagas, peso dos cachos, vigor), pelos dados técnicos (conteúdo de açúcar e acidez total da baga) e nas aptidões enológicas para a produção de espumantes (apresentam frescor, aromas refinados e vinhos com estrutura e balanceados). O clone 809 apresenta uma particularidade, que é o caráter moscato ou seja, aromas frutados e florais proeminentes.

A Figura 24 ilustra a distribuição dos clones no campo.

Figura 24. Dispositivo experimental dos clones



3.1.2 Experimento 2: Porta-enxertos

O experimento de competição de porta-enxertos foi instalado em 2011 com a cultivar Chardonnay clone 76, na densidade de 4000 plantas ha⁻¹, conduzido em espaldeira com três fios de arame com poda curta (duas gemas) em duplo cordão esporonado. Os porta-enxertos avaliados foram: Rupestre du Lot (*Vitis rupestris*); Kober 5 BB, SO4 (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*); 99 Richter, 110 Richter, 1103 Paulsen, 1045 Paulsen (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*); 101-14 Millardet et de Grasset (*Vitis riparia* x *Vitis rupestris*); IAC-766 ((*Vitis riparia* x *Vitis cordifolia*) x *Vitis caribea*); e Ripária do Traviú ((*Vitis rupestris* x *Vitis cordifolia*) x *Vitis riparia*).

Os dados de espécies parentais, resistência a doenças, tolerância aos tipos de solo, suscetibilidade à deficiência de minerais e condições de enxertia estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos porta-enxertos utilizados, espécies parentais e suas características

| Porta-Enxertos | Espécies Parentais | Resistência a doenças | | | | Tolerância | | | | | | Suscetível | | Enxertia | | | |
|----------------------------------|---|-----------------------|------------|----------------|--------------|------------|------------|----------|------------|--------|---------------|--------------|-------------------|------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| | | Filoxera | Nematoides | Galha de Coroa | Phytophthora | Seca | Alagamento | Calcário | Salinidade | Acidez | Solo argiloso | Solo arenoso | Deficiência de Mg | Deficiência de K | Maturação dos frutos | Facilidade de enxertar | Facilidade de enraizar |
| Rupestris du Lot ⁽¹⁾ | <i>V. rupestris</i> | | ☹️ | | | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | | ☹️ | ☹️ | | | R | 😊 | 😊 |
| Kober ⁽¹⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i> | 😊 | ☹️ | | | ☹️ | ☹️ | ☹️ | | ☹️ | ☹️ | S | S | R | | ☹️ | ☹️ |
| SO ₄ ⁽¹⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i> | 😊 | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | S | N | | | ☹️ | ☹️ |
| 99 Richter ⁽¹⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i> | 😊 | ☹️ | ☹️ | | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | S | S | R | | 😊 | ☹️ |
| 110 Richter ⁽¹⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i> | 😊 | ☹️ | ☹️ | ☹️ | 😊 | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | S | S | R | | | ☹️ |
| 1103 Paulsen ⁽¹⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i> | 😊 | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | 😊 | ☹️ | ☹️ | N | S | R | | ☹️ | ☹️ |
| 1045 Paulsen ⁽²⁾ | <i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i> | | | | | ☹️ | | 😊 | | ☹️ | | | | | | | |
| 101-14 MDG ⁽¹⁾ | <i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i> | 😊 | ☹️ | 😊 | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | ☹️ | | | A | | ☹️ | ☹️ |
| Ripária do Traviú ⁽³⁾ | (<i>Vitis rupestris</i> x <i>Vitis cordifolia</i>) x <i>Vitis riparia</i> | ☹️ | | | | | | | ☹️ | | | | | | | 😊 | 😊 |
| IAC-766 ⁽⁴⁾ | Ripária do Traviú x <i>Vitis caribea</i> | 😊 | 😊 | | | | | | 😊 | 😊 | 😊 | | | | | | 😊 |

Significado dos símbolos: 😊 Excelente, 😊 Alto, 😐 Bom, ☹️ Ruim, ☹️ Péssimo, S (Sim), N (Não), A (Avançado), R (Retardado).

Fontes: Tabela adaptada e dos dados retirados de: ⁽¹⁾Keller (2015), ⁽²⁾Dias (2015), ⁽³⁾IAC, 2019, ⁽⁴⁾EMBRAPA, 2019b.

3.1.3 Experimento 3: Sistemas de Condução

O vinhedo dos sistemas de condução foi implantado em 2009 com a cultivar Chardonnay clone 76 enxertado sobre 1103Paulsen, conduzido nos sistemas Espaladeira, Lira e GDC no espaçamento 1 m entre plantas e 2,5 m entre filas (Figuras 25, 26 e 27, respectivamente).

Figura 25. Espaladeira: dossel vegetativo não dividido e ramos verticais



Figura 26. Lira: dossel dividido na base e com os ramos voltados para cima



Figura 27. GDC: dossel vegetativo dividido no topo com os ramos posicionados para baixo



3.1.4 Experimento 4: Densidade de plantio

Área experimental instalada em 2009 com a cv. Chardonnay clone 76 enxertado sobre 1103Paulsen e conduzido em espaldeira com três fios de arame com poda curta (duas gemas) em duplo cordão esporonado, nas seguintes densidades de plantio: 2000, 2666, 4000, 5333 e 8000 plantas ha^{-1} , sem controle de gemas e com o distanciamento entre as filas de 2,5 m. O dispositivo experimental empregado (Figura 28) foi em blocos, com cinco densidades e quatro repetições constituídas de quatro linhas de plantio para cada tratamento.

A Tabela 4 apresenta as densidades utilizadas, respectivas nomenclaturas e espaçamentos.

Tabela 4. Densidades de plantio e as respectivas nomenclaturas e espaçamentos

| Densidades (plantas ha ⁻¹) | Nomenclaturas | Espaçamentos (m) |
|--|---------------|------------------|
| 2000 | D1 | 2 |
| 2666 | D2 | 1,5 |
| 4000 | D3 | 1 |
| 5333 | D4 | 0,75 |
| 8000 | D5 | 0,5 |

Figura 28. Densidade de Plantio: dispositivo experimental do experimento

3.2 Vinificação

As uvas foram microvinificadas na Vinícola Experimental Aminthas Assis Laje da EPAMIG (Caldas/MG) para os seguintes experimentos do campo: Clone 809, Sistemas de condução (experimento 3) e densidades de plantio (experimento 4).

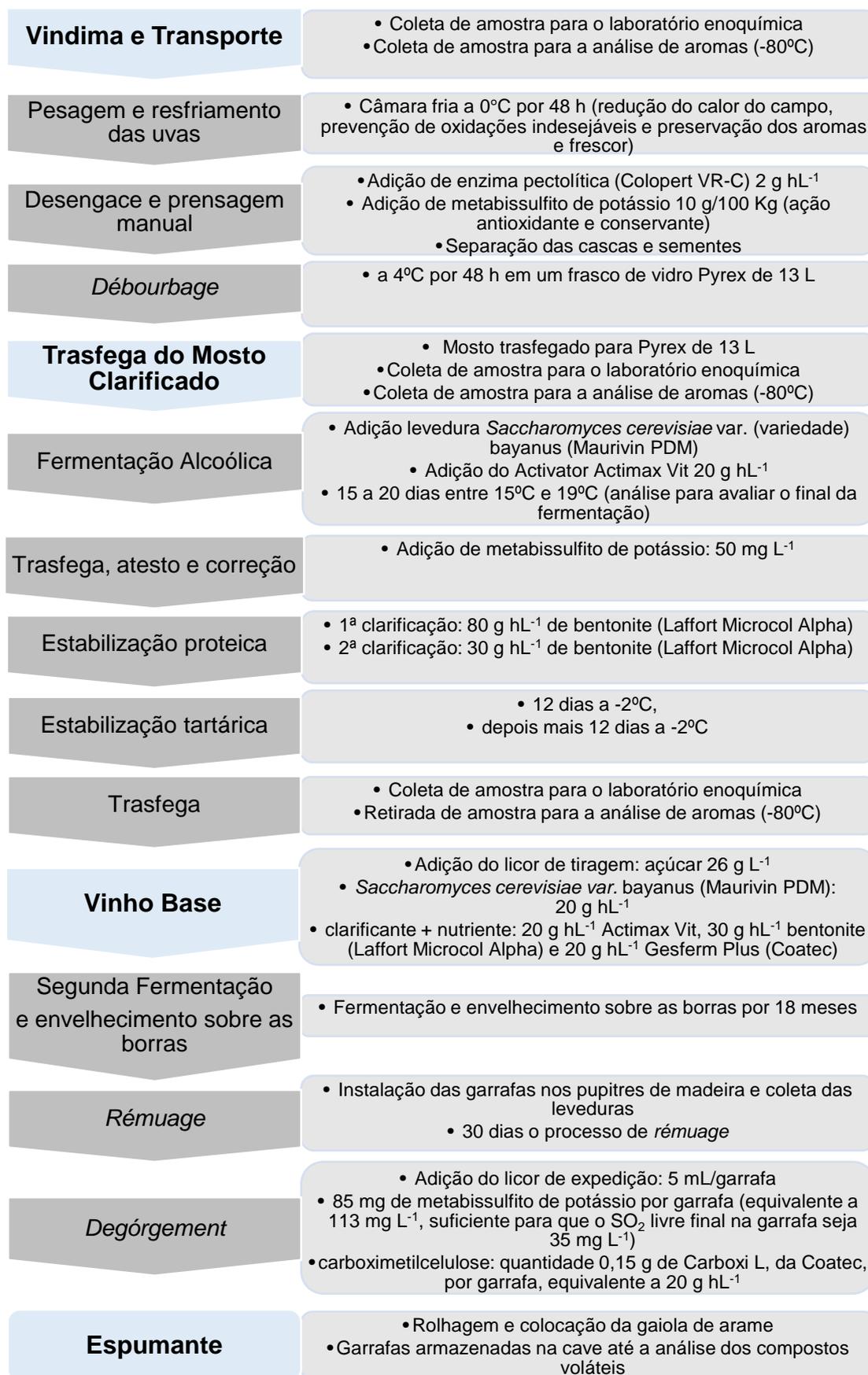
As vinificações dos experimentos Clone 809 e densidades de plantio foram realizadas em unicata. Para o experimento dos sistemas de condução, as vinificações do vinho base foram realizadas em triplicata, exceto para o sistema espaldeira.

Foram feitas amostragens do mosto pós-*débourbage* e do vinho base estabilizado. O material foi congelado e mantido a -80°C para as avaliações do perfil aromático das matrizes.

O espumante foi mantido na cave até o momento da análise, a fim de manter as condições de temperatura e umidade.

O fluxograma do processo desde a colheita das uvas até a finalização do espumante pelo método tradicional, bem como a retirada de amostras para as análises de compostos voláteis está ilustrado na Figura 29.

Figura 29. Fluxograma do processo desde a colheita (vindima) até o espumante



Para proceder com as etapas de vinificação foram analisadas amostras do mosto pós-*débourbage* e do vinho base durante o processo. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Enoquímica do Núcleo Tecnológico Uva e Vinho da EPAMIG.

Para o mosto pós-*débourbage* foram determinados os teores de sólidos solúveis (°Brix) em refratômetro digital portátil (modelo PAL 1, ATAGO); acidez total titulável (expresso em g L⁻¹ de ácido tartárico) pela titulação com NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína como indicador a pH 8,2; pH em medidor de pH Micronal modelo B474 calibrado com padrões 4,0 e 7,0; densidade a 20°C através do densímetro.

Para as análises do vinho base foram avaliadas as concentrações de acidez volátil (expressa em g L⁻¹ de ácido acético), acidez total (expressa em g L⁻¹ de ácido tartárico), SO₂ livre, densidade a 20°C, álcool (%), pH e açúcares residuais.

3.3 Reagentes e padrões para análise de compostos voláteis

- cloreto de sódio: grau ACS, fabricante Sigma-Aldrich;
- mistura de alcanos saturados C7 – C30: material de referência certificado, fabricante Supelco;
- 4-metil-2-pentanol 98%: material de referência certificado, fabricante Sigma-Aldrich.

3.4 Equipamentos e acessórios para análises de compostos voláteis

- cromatógrafo a gás, Agilent (modelo 6890);
- detector de massas, Agilent (modelo MSD 5975C);
- resina de divinilbenzeno/carboxeno em polidimetilsiloxano em uma fibra StableFlex 50/30 µm de espessura da Supelco (50/30 DVB/CAR/PDMS StableFlex de 2 cm);
- coluna: Carbowax 30m x 0.25mm x 0.25µm;
- vial de *headspace* de 20 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/Silicone;
- vial de *headspace* de 40 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/Silicone.

3.5 Extração e métodos cromatográficos para a avaliação dos compostos voláteis livres

Para realizar as análises dos compostos voláteis livres, o primeiro passo foi a escolha da fibra de SPME, baseado na recomendação do fabricante Supelco e em artigos publicados relacionados à composição volátil de uva e vinho (SUN et al.; 2011; WELKE et al., 2014a). Dessa forma, a fibra de 50/30 DVB/CAR/PDMS StableFlex foi empregada para as análises dos compostos voláteis e semi-voláteis (C3-C20, PM 40-275). Inicialmente as fibras foram ativadas a 270°C por 1 h e a utilização média foi de 80 a 100 injeções (variando de acordo com o sangramento da fibra e a avaliação da reprodutibilidade das injeções). Empregou-se a mesma referência de fibra para todas as matrizes.

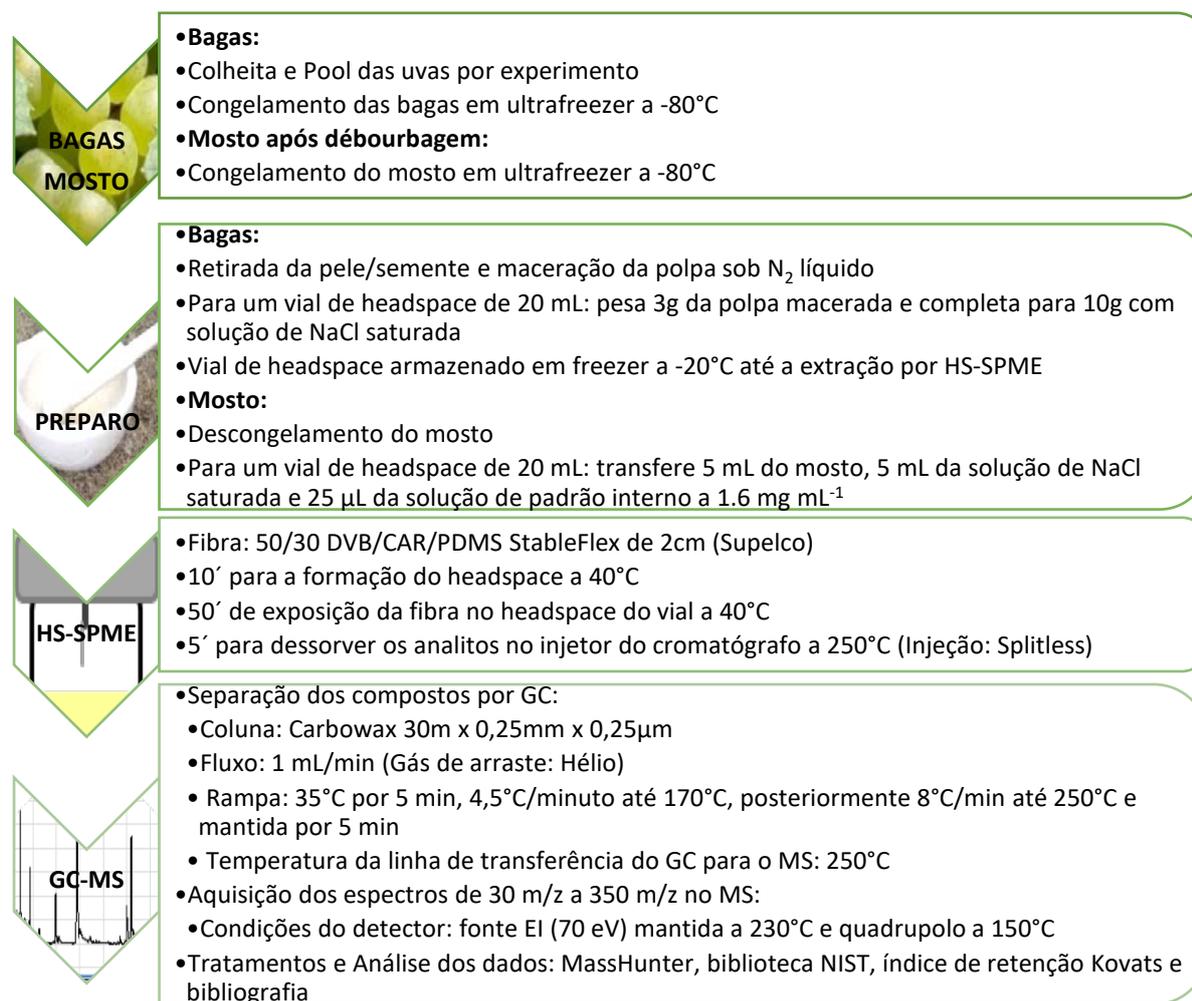
Foram realizados testes preliminares para estabelecer o procedimento de extração para a caracterização do perfil aromático das bagas, baseado no método descrito por Sun et al. (2011), sendo otimizado o tempo de equilíbrio entre a amostra e os voláteis no headspace do vial e o tempo de exposição da fibra. Trabalhou-se com a temperatura de formação do headspace e de extração dos compostos voláteis a 40°C, temperatura preconizada por Sun et al. (2011) e também estabelecida por Soares et al. (2015) com a finalidade de prevenir reações de degradação de alguns compostos monoterpênicos. Os testes de extração estão descritos em dados suplementares (Figura 1S).

Para a análise do perfil aromático do mosto, avaliou-se se o tempo de equilíbrio entre a amostra e os voláteis no headspace do vial, se o tempo de exposição da fibra das bagas se aplicam ao mosto, bem como o volume de mosto e de solução salina a ser utilizado a fim de se ter uma extração representativa. Os tempos de extração e temperatura foram mantidos iguais aos da baga.

Uma vez estabelecidas as condições de extração para as bagas e, posteriormente, aplicado para o mosto pós-*débourbage*, o método cromatográfico foi adaptado a partir do método descrito por Sun et al. (2011). Os passos da otimização da rampa de temperatura estão descritos em dados suplementares (Figura 2S).

As condições estabelecidas para as bagas e os mostos estão descritas na Figura 30, e as análises foram realizadas em triplicata para as variáveis de cada experimento.

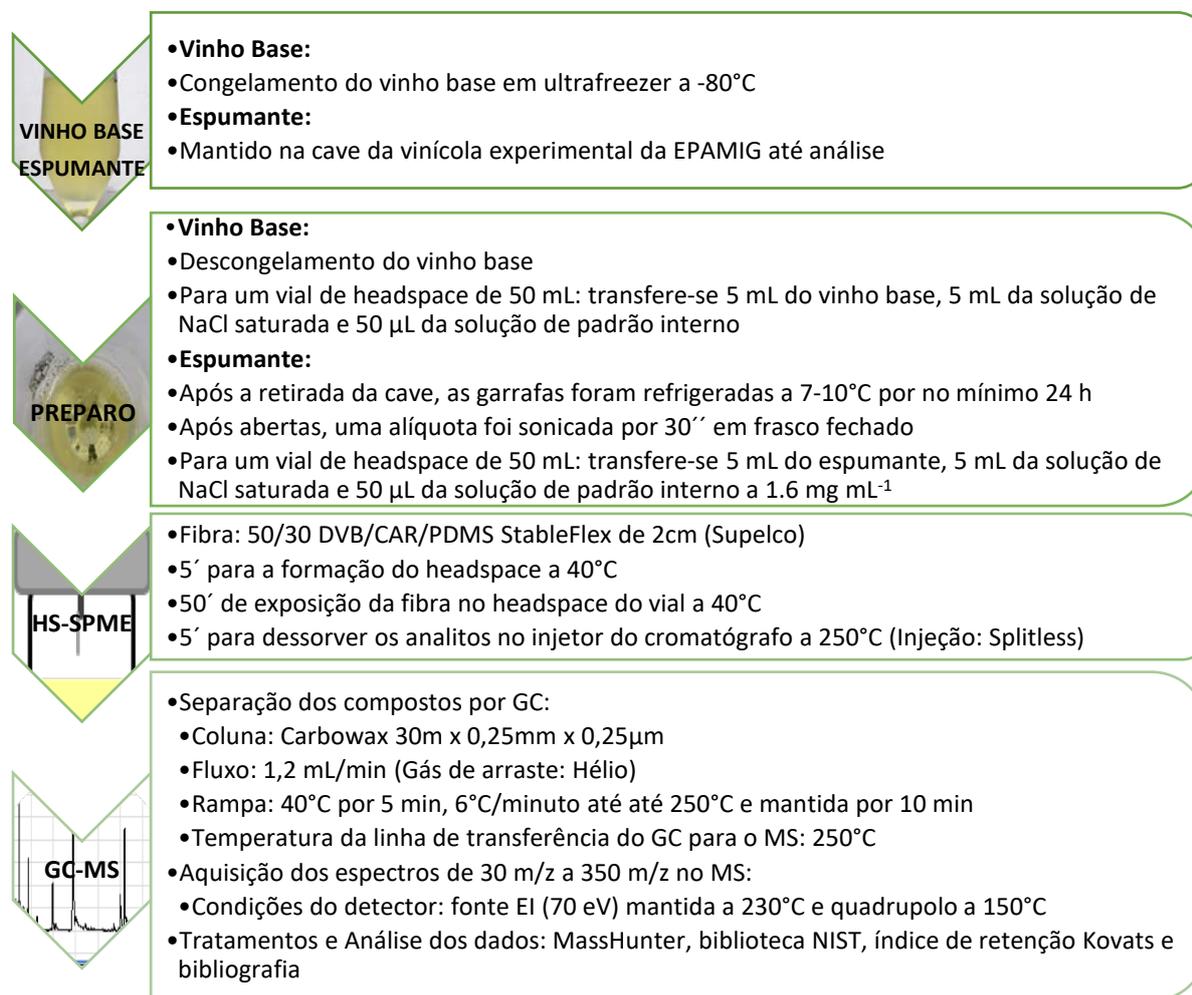
Figura 30. Fluxograma do preparo das uvas e do mosto da cv. Chardonnay para a análise de voláteis livres



Para a extração dos compostos voláteis dos vinhos base e espumante, otimizaram-se o tempo de formação do headspace e o volume de amostra e de solução salina, estando os testes de extração descritos em dados suplementares (Figura 3S). O método cromatográfico foi adaptado de Carlin et al. (2016), sendo realizadas alterações no tempo isocrático inicial e no tempo final e a avaliação da eluição de picos tardios. Os dados estão reportados em dados suplementares (Figuras 4S e 5S).

As condições estabelecidas para os vinhos base e espumante estão descritas na Figura 31, e as análises foram realizadas em triplicata para as variáveis de cada experimento.

Figura 31. Fluxograma do preparo das amostras de vinho base e espumante da cv. Chardonnay para a análise de voláteis livres



3.6 Tratamento dos dados

Os espectros de massas obtidos foram tratados com o software MassHunter Qualitative Analysis (versão: B.07.00, Agilent Technologies, Inc. 2014) e comparados com os espectros da biblioteca NIST 2014.

Para a confirmação dos compostos voláteis pelo Índice de Retenção de Kovats modificado, utilizou-se um padrão de n-alcanos saturados (C7 a C30) nas mesmas condições dos métodos de análise, estabelecendo o tempo de retenção dos alcanos. Aplicou-se a fórmula do índice de retenção Kovats modificado, aplicado aos métodos com rampa de temperatura, para obter o índice de retenção observado para cada composto e comparou-se com o índice de retenção Kovats da literatura, obtido

através da base de dados online (NIST Chemistry Webbook) e de acordo com a polaridade da coluna capilar utilizada.

Para a avaliação de qual aroma considerar para as análises multivariadas, os seguintes critérios foram adotados: atender ao critério de similaridade com a biblioteca NIST, a diferença do índice de retenção Kovats obtido ser menor que 50 em relação ao descrito na literatura (ILC et al, 2016a) e o composto estar descrito na literatura (artigos, no site Good Scents e Flavor Ingredient Library; e no livro escrito por Burdock (2010)).

Aplicou-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey com nível de significância de 5%, utilizando o Software Minitab 19 para comparar diferentes grupos. O teste de Tukey foi aplicado para determinar diferenças entre os clones e os porta-enxertos para os parâmetros de pH, °Brix e acidez total.

Os perfis de compostos voláteis foram comparados em relação aos experimentos de cada vinhedo e safra, empregando a análise de componentes principais (PCA), de agrupamentos (*heatmaps* e dendogramas) e teste de Fisher pelo programa MetaboAnalyst 5.0 (www.metaboanalyst.ca) (XIA et al., 2015). Os dados foram normalizados pela mediana, tratados na escala logarítmica e escalonados segundo a escala de Pareto. A finalidade da análise multivariada é analisar várias variáveis e se há correlação entre elas.

4. DESCRIÇÃO DAS SEÇÕES DE RESULTADOS E DISCUSSÕES

A apresentação dos Resultados e Discussões foi dividida em seções que correspondem às partes que comporão artigos a serem submetidos para publicação. No resumo de cada seção estão descritos os experimentos e as matrizes que foram avaliadas.

SEÇÃO 1 – Influência do material genético (clones e porta-enxertos) no perfil aromático das bagas da cultivar Chardonnay no sul de Minas Gerais (Brasil)

O foco dessa seção é apresentar os resultados da composição volátil das bagas de uva Chardonnay nos experimentos de clones e porta-enxertos e, assim, discuti-los com relação à influência do material genético em duas safras de verão consecutivas (2017 e 2018) na região de Caldas (sul de Minas Gerais).

SEÇÃO 2 – Perfil aromático do clone 809 da cv. Chardonnay: da baga ao espumante em vinhedo na Serra da Mantiqueira

Nessa seção o objetivo é apresentar a composição volátil do Clone 809 da cv. Chardonnay devido ao seu caráter de uva moscato, em que há a biossíntese de um maior número e maior quantidade de compostos terpenoides pelas bagas e avaliar sua presença durante o processo até o espumante, comparando-o com o Clone 76 da cv. Chardonnay. As avaliações foram realizadas em duas safras de verão consecutivas (2017 e 2018) em Caldas (MG).

SEÇÃO 3 – Composição volátil dos espumantes da cv. Chardonnay cultivada em diferentes sistemas de condução na Serra da Mantiqueira (Brasil)

O objetivo dessa seção é avaliar o perfil volátil de espumantes elaborados pelo método tradicional a partir de uvas cultivadas em diferentes sistemas de condução (espaldeira, lira e GDC).

Para esse estudo, analisou-se o perfil volátil dos vinhos base e espumantes no vinhedo implantado na EPAMIG/Caldas-MG, sendo avaliados os vinhos elaborados em duas safras de verão consecutivas (2017 e 2018).

SEÇÃO 4 – Evolução dos aromas e influência da densidade de plantio no perfil volátil de vinhos espumantes do sudeste brasileiro

Este experimento teve como objetivo avaliar a influência da densidade de plantio no perfil aromático da cv. Chardonnay (clone 76) da baga ao vinho espumante.

Foram analisadas amostras de bagas, mosto, vinho base e espumante em três safras de verão consecutivas (2016, 2017 e 2018) em cinco densidades de plantio que variaram de 2000 a 8000 plantas ha⁻¹. A Tabela 4 (item 3.1.4) apresenta as densidades utilizadas, respectivas nomenclaturas e espaçamentos.

4.1 SEÇÃO 1 – Influência do material genético (clones e porta-enxertos) no perfil aromático das bagas da cultivar Chardonnay no sul de Minas Gerais (Brasil)

4.1.1 Resultados e discussão

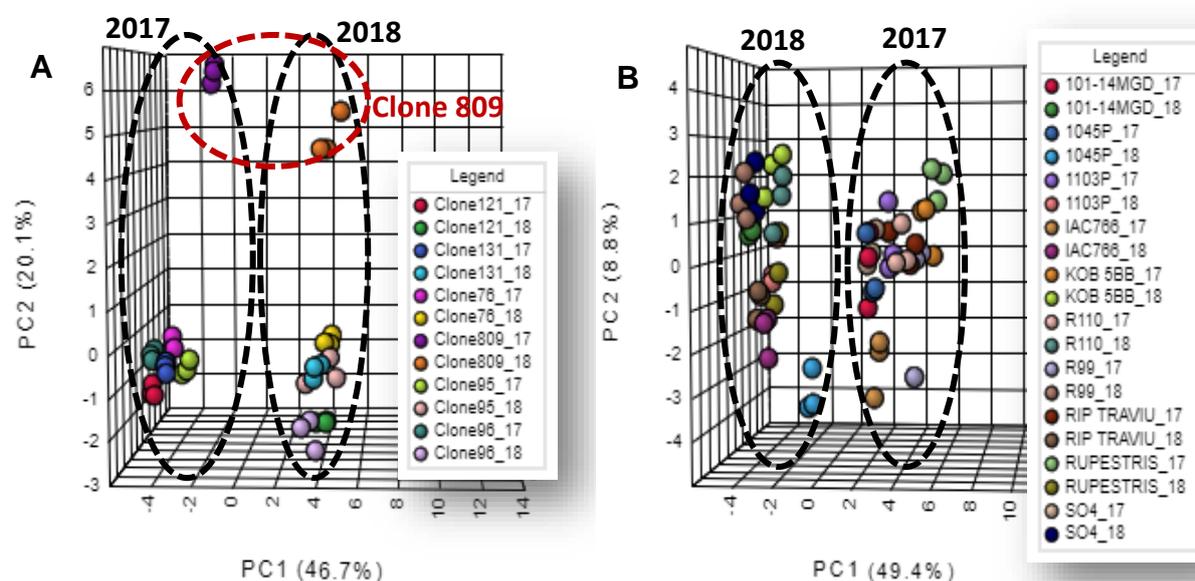
O material genético de clones e porta-enxertos, bem como a interação entre a variedade copa e o porta-enxerto, influenciam nas características agrônômicas (vigor da planta, peso de cachos, tamanho das bagas e outros), na composição e maturação das bagas (por exemplo, conteúdo de ácidos e sólidos solúveis totais), na adaptação a uma determinada região (condições edafoclimáticas, respostas ao estresse, suscetibilidade a doenças), sendo fatores que impactarão na composição das bagas e no perfil volátil (KELLER, 2015; CARRASCO-QUIROZ et al., 2019; NICOLINI et al., 2019).

Acerca do experimento dos clones da cv. Chardonnay, 60 e 65 compostos aromáticos foram identificados na forma livre nas bagas em 2017 e 2018, respectivamente. A análise de componentes principais indica perfis diferenciados entre as safras em 46,7% (PC 1) e a discriminação do Clone 809 dos demais nas duas safras em 20,1% (PC 2). Os demais clones apresentaram padrão semelhante na composição volátil na mesma safra (Figura 1A).

Em relação à influência dos porta-enxertos, foram identificados nas bagas 57 e 62 compostos voláteis nas safras de 2017 e 2018, respectivamente. Na Figura 1B observa-se o efeito do ambiente na composição volátil, com discriminação das safras em 49,4% (PC 1) e entre os porta-enxertos 8,8% (PC 2).

Os compostos identificados por HS-SPME/GC-MS estão descritos na Tabela 1S (material suplementar), separados por classes de acordo com a estrutura química e/ou biossíntese (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008; ILC et al., 2016a).

Figura 1. Análise de componentes principais para os compostos voláteis das bagas de seis clones da cv. Chardonnay (A) e do clone 76 em dez porta-enxertos (B) na região sul de Minas Gerais (Caldas/MG) nas safras 2017 e 2018



O efeito ambiental (safra) é significativo para a composição volátil, sendo superior a 45% nos dois experimentos, como já descrito por Coelho et al. (2009) e Welke et al. (2014). Ebeler & Thorngate (2009) relataram que Caldwell (1925) descreveu uma relação clara entre as condições ambientais (temperatura, radiação solar e precipitação anual) e a composição química das uvas (açúcares, ácidos, taninos).

Rienth et al. (2014) descreveram que a fase do *véraison* é caracterizada por um amolecimento brusco da baga dentro de 24 horas e que muitas mudanças transcritômicas são desencadeadas nesse curto intervalo para posteriormente retomar o crescimento.

Drappier et al. (2017) mostraram que a temperatura afeta a expressão gênica e a atividade enzimática dos metabolismos primário e secundário, impactando o amadurecimento da uva e as características do vinho.

Em trabalho publicado recentemente, van Leeuwen et al. (2020) descrevem como os aromas do vinho são influenciados pelas condições do clima e do solo, e pontuam como cada fator afeta a baga. Por exemplo, a radiação solar influencia na fotossíntese e na formação dos metabólitos secundários nas uvas, a condição de água do solo que afetará o desenvolvimento do broto, rendimento, maturação e

composição do fruto, a temperatura atuando na fenologia e no amadurecimento da baga, bem como, a quantidade de nitrogênio do solo.

Desse modo, avaliando os trabalhos citados acima e os dados das condições climáticas durante o período experimental (Figuras 20, 21 e 22 - em Materiais e Métodos), sugere-se que, dentre as possíveis variáveis, as diferenças de temperatura, amplitude térmica, radiação solar e pluviosidade contribuíram significativamente para variações na composição volátil das bagas de Chardonnay nas safras estudadas.

Na safra de 2018, a pluviosidade foi mais alta durante a fase da maturação (média de 6,5 mm ao dia) e colheita (média de 6,7 mm ao dia) e a radiação solar menor quando comparada à de 2017, o que ocasionou a colheita com menor índice de maturação das bagas (Tabelas 1 e 2) e pode ter contribuído para a variação observada na composição de voláteis nos dois experimentos.

Outro parâmetro influenciado pela diferença de temperatura entre safras é o conteúdo de açúcar (LUO et al., 2019). O aumento da temperatura acelera a maturação da baga e aumenta a taxa metabólica da planta, resultando em conteúdo de sólidos solúveis maior em anos com temperatura média mais elevada (a temperatura média na fase da colheita foi 1,4°C maior em 2017).

Tabela 1. Composição do mosto de seis clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 (colheita em 10/01/2017) e 2018 (colheita em 08/01/2018).

| Parâmetros | Safra | Clones | | | | | |
|-----------------------------------|-------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | | 76 | 95 | 96 | 121 | 131 | 809 |
| pH | | 3,22±0,03 ^{A,B} | 3,22±0,03 ^B | 3,20±0,03 ^B | 3,21±0,02 ^{A,B} | 3,17±0,03 ^B | 3,27±0,00 ^A |
| °Brix | 2017* | 17,43±0,15 ^{A,B} | 17,80±0,22 ^A | 17,53±0,13 ^{A,B} | 17,23±0,45 ^{A,B} | 17,25±0,44 ^{A,B} | 16,90±0,00 ^B |
| Acidez total (g L ⁻¹) | | 8,47±0,50 ^A | 8,40±0,47 ^A | 8,39±0,36 ^A | 8,31±0,42 ^A | 8,14±0,60 ^A | 8,75±0,00 ^A |
| pH | | 3,11±0,02 ^{A,B} | 3,13±0,01 ^A | 3,09±0,03 ^B | 3,12±0,02 ^{A,B} | 3,12±0,01 ^{A,B} | 3,14±0,01 ^A |
| °Brix | 2018* | 17,00±0,37 ^A | 17,05±0,06 ^A | 17,08±0,15 ^A | 16,90±0,18 ^A | 16,68±0,33 ^A | 17,00±0,00 ^A |
| Acidez total (g L ⁻¹) | | 9,34±1,04 ^A | 9,43±0,59 ^A | 9,04±0,40 ^A | 8,93±0,50 ^A | 9,00±0,74 ^A | 8,94±0,12 ^A |

Fonte: Dados obtidos no Laboratório de Enoquímica – EPAMIG Uva e Vinho (Caldas/MG).

Os valores são expressos como média (n = 4) ± desvio padrão.

(*) Os parâmetros listados na tabela são significativamente diferentes entre as safras (p<0,05).

Avaliando cada parâmetro, os clones que não compartilham letras na mesma linha são significativamente diferentes (Método de Tukey, p<0,05).

Quando se trata da interação com porta-enxertos, entretanto, as alterações climáticas se somam à influência do porta-enxerto na composição das bagas. Processos metabólicos que são afetados pela enxertia, como assimilação e transporte de água e nutrientes, produção e transporte de hormônios e proteínas, morfologia e arquitetura das raízes, vigor vegetativo e interação raiz-microbiota do solo, interagem com as condições edafoclimáticas locais e definem a viabilidade da combinação da cultivar copa com o porta-enxerto (WARSCHEFSKY et al., 2016; WANG et al., 2019). Em trabalho realizado por Loureiro et al. (2016), eles relataram que o desempenho de um porta-enxerto não é sempre uniforme, sendo necessário testar a combinação para cada cultivar e região.

Para avaliar a influência do clone e do porta-enxerto na composição de voláteis das bagas, as avaliações foram realizadas em cada safra individualmente através de análises multivariadas dos compostos divididos em classes (Tabela 1S).

O Clone 809, que se destaca dos demais pelo caráter varietal pronunciado, que lhe confere aromas florais e frutados confirmando o caráter de uva moscato (PLANTGRAPE, 2020), devido ao número e quantidade de compostos monoterpenoides que não ocorrem nos demais clones do estudo, foi retirado da análise para não mascarar as possíveis diferenças entre os demais clones. Os compostos que diferenciam esse clone dos demais foram: Nerol, Geraniol, Linalool, α -Terpineol e β -Mirceno.

Na avaliação de cada safra, verificaram-se quais variáveis eram significativas de acordo com o teste de Fisher ($p < 0,05$) para posteriormente proceder com a análise de componentes principais. Para a análise de componentes principais, foram avaliadas as variáveis que apresentaram valores maiores que 0,250 (em módulo) (PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2015), que são os pesos atribuídos para cada classe em uma determinada componente. As classes de compostos que estão com valor maior (marcados em **negrito**) contribuem mais significativamente para um determinado clone e/ou porta-enxerto.

Tabela 2. Composição do mosto da cv. Chardonnay clone 76 enxertadas em dez porta-enxertos e o vigor dos porta-enxertos. Safras 2017 (colheita em 11/01/2017) e 2018 (colheita em 09/01/2018), Caldas (MG)

| Parâmetros | Safras | Porta-enxertos | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | Rupestris du Lot | 101-14 MGD | 1103 Paulsen | 1045 Paulsen | 99 Richter | 110 Richter | SO4 | Kober 5BB | Ripária do Traviú | IAC 766 |
| pH | | 3,14±0,03 ^A | 3,14±0,01 ^A | 3,16±0,04 ^A | 3,15±0,03 ^A | 3,15±0,05 ^A | 3,15±0,05 ^A | 3,10±0,02 ^A | 3,17±0,01 ^A | 3,17±0,04 ^A | 3,16±0,02 ^A |
| °Brix | 2017* | 17,33±0,66 ^A | 17,93±0,85 ^A | 16,95±0,24 ^A | 17,40±0,49 ^A | 17,75±0,47 ^A | 17,78±0,80 ^A | 17,25±0,88 ^A | 17,48±0,39 ^A | 17,48±0,39 ^A | 17,88±0,92 ^A |
| Acidez total (g L ⁻¹) | | 8,37±0,28 ^A | 8,64±0,47 ^A | 8,92±0,34 ^A | 8,71±0,26 ^A | 8,28±0,70 ^A | 8,65±0,57 ^A | 9,15±0,76 ^A | 8,69±0,47 ^A | 8,75±0,10 ^A | 8,90±0,18 ^A |
| pH | | 3,06±0,05 ^{CD} | 3,20±0,08 ^{AB} | 3,23±0,01 ^A | 3,16±0,07 ^{ABC} | 3,03±0,03 ^D | 3,03±0,03 ^D | 3,11±0,01 ^{BCD} | 3,11±0,03 ^{ABCD} | 3,19±0,03 ^{AB} | 3,17±0,07 ^{ABC} |
| °Brix | 2018* | 17,70±0,29 ^A | 17,60±0,14 ^A | 17,75±0,25 ^A | 17,38±0,29 ^A | 17,28±0,10 ^A | 17,43±0,43 ^A | 17,58±0,54 ^A | 17,50±0,51 ^A | 18,00±0,14 ^A | 17,73±0,31 ^A |
| Acidez total (g L ⁻¹) | | 8,96±0,45 ^{AB} | 8,96±0,23 ^{AB} | 9,15±0,25 ^{AB} | 9,26±0,49 ^{AB} | 8,79±0,48 ^{AB} | 8,46±0,44 ^B | 10,11±1,64 ^A | 9,13±0,44 ^{AB} | 9,09±0,64 ^{AB} | 9,11±0,44 ^{AB} |
| Vigor ⁽¹⁾ | | Médio a alto | Médio a baixo | Médio a alto | Médio a alto | Médio a alto | Médio | Médio a alto | Médio a alto | Médio a alto | Alto |

Fonte: Dados obtidos no Laboratório de Enoquímica – EPAMIG Uva e Vinho (Caldas/MG).

⁽¹⁾ Christensen (2003), Serra et al. (2014), AC (2019), EMBRAPA (2019b).

Os valores são expressos como média (n = 4) ± desvio padrão.

(*) Na tabela, entre as safras, somente o parâmetro de acidez total é significativamente diferente (p<0,05).

Comparando os porta-enxertos na mesma safra, os que não compartilham letras na mesma linha são significativamente diferentes (Método de Tukey, p<0,05).

Para o experimento dos clones em 2017, de 13 classes de compostos, dez foram significativas. E em 2018, de 11 classes, seis foram significativas (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado dos testes de Fisher para avaliar as classes de compostos voláteis significativas para diferenciar os clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018

| Teste Fisher - 2017 | | | Teste Fisher - 2018 | | |
|--|---------|--------------|--|---------|--------------|
| Variáveis significativas (pvalue < 0.05) | | | Variáveis significativas (pvalue < 0.05) | | |
| Classes | f.value | p.value | Classes | f.value | p.value |
| Álcoois ramificados | 17.494 | 0.000 | Fenóis voláteis | 58.912 | 0.000 |
| Fenóis voláteis | 16.712 | 0.000 | Monoterpenoides | 16.13 | 0.000 |
| Álcoois alifáticos | 11.919 | 0.001 | Benzenoides | 13.202 | 0.001 |
| Aldeídos alifáticos | 10.879 | 0.001 | Álcoois ramificados | 9.1305 | 0.002 |
| Monoterpenoides | 6.5347 | 0.007 | Ésteres ramificados | 7.3967 | 0.005 |
| Benzenoides | 6.2005 | 0.009 | Álcoois alifáticos | 5.5029 | 0.013 |
| Ácidos alifáticos | 5.0779 | 0.017 | Ésteres alifáticos | | > 0.05 |
| Cetonas ramificadas | 4.8749 | 0.019 | Aldeídos alifáticos | | > 0.05 |
| Ésteres alifáticos | 4.4825 | 0.025 | Cetonas alifáticas | | > 0.05 |
| Cetonas alifáticas | 4.1013 | 0.032 | Aldeídos ramificados | | > 0.05 |
| Aldeídos ramificados | | > 0.05 | Cetonas ramificadas | | > 0.05 |
| Furanoides | | > 0.05 | | | |
| Sulfurosos voláteis | | > 0.05 | | | |

As classes selecionadas foram comparadas em cada safra pela análise de componentes principais (Figuras 2 e 3).

Em 2017, as três primeiras componentes da PCA foram responsáveis por 75,7% da variação dos dados (Figura 2). O clone 95 se diferenciou dos demais pelos álcoois ramificados, o clone 96 pelos fenóis voláteis, o clone 131 pelos monoterpenoides, clone 76 pelos ésteres alifáticos, o clone 121 pelas cetonas alifáticas e os ésteres alifáticos afetando os clones 131 e 96 (*Biplots* PC1 x PC2 e PC1 x PC3).

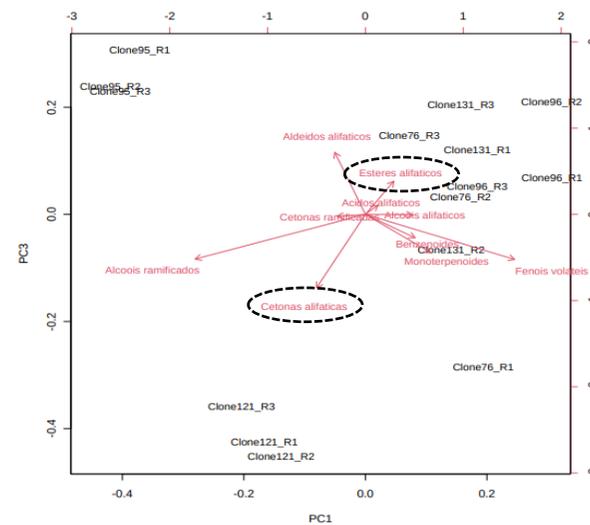
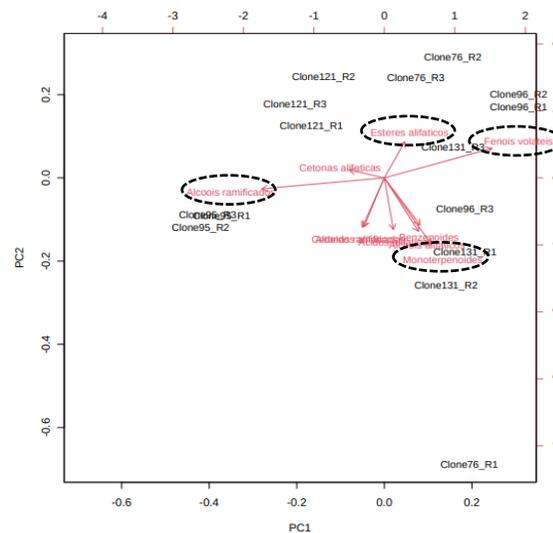
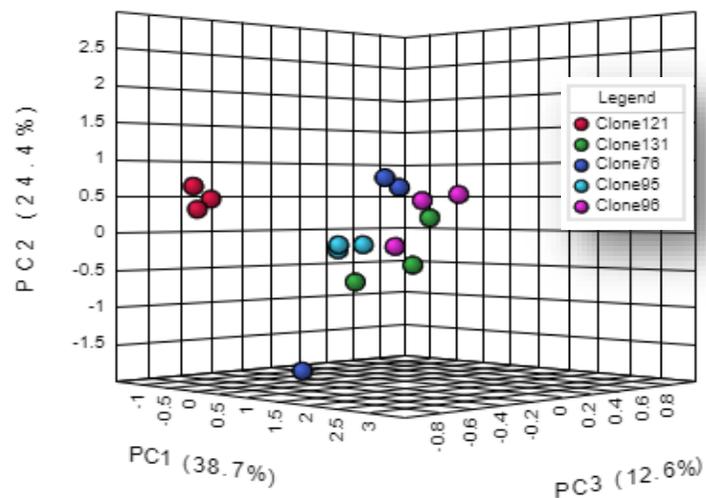
Na safra 2018 (Figura 3), o clone 96 se discriminou dos demais pelos álcoois ramificados na PC 1 (43,3%). Pela PC 2 (28,3%) o clone 76 apresentou correlação com os ésteres ramificados, e os clones 131, 121 e 95 apresentaram baixa correlação com os álcoois alifáticos (menor que 0,250). Pela PC3, a variável monoterpenoides

está mais correlacionada ao clone 95. Esses três primeiros componentes foram responsáveis por 92,4% da variação dos dados.

Os clones da cv. Chardonnay avaliados (76, 95, 96, 121 e 131) foram discriminados em cada safra por classes de compostos diferentes, sugerindo que não há um padrão na biossíntese dos compostos aromáticos e que eles respondem de forma diferente às condições climáticas.

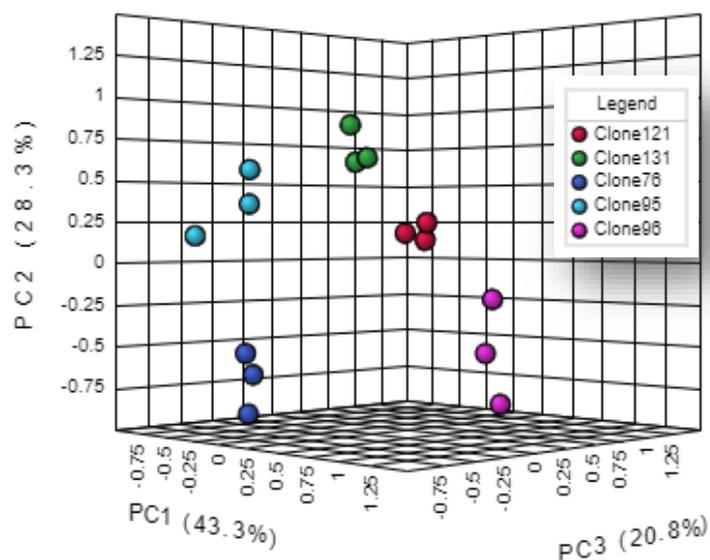
Nicolini et al. (2016) e Nicolini et al. (2019) apresentaram dados de composição aromática dos clones de duas cultivares no território de montanha Trentino (Itália), treze clones de Müller Thurgau e seis clones de Gewürztraminer. Os autores identificaram diferenças na composição da fração volátil ligada e livre entre os clones de Müller Thurgau e na concentração dos precursores dos tióis varietais para os clones de Gewürztraminer. Esses dados indicam que os clones de outras cultivares também se comportam de maneira diferente em uma dada região com relação aos compostos voláteis.

Figura 2. Análise de componentes principais, *biplots* e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a |0,25|) para a diferenciação dos clones da cv. Chardonnay na safra 2017 no sul de Minas Gerais

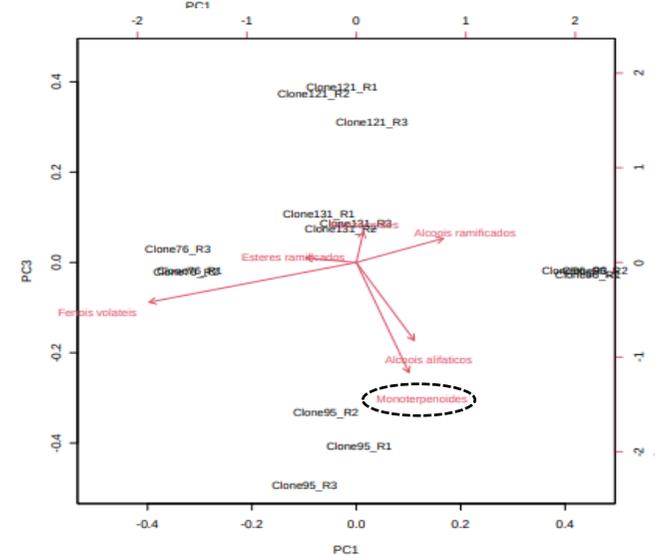
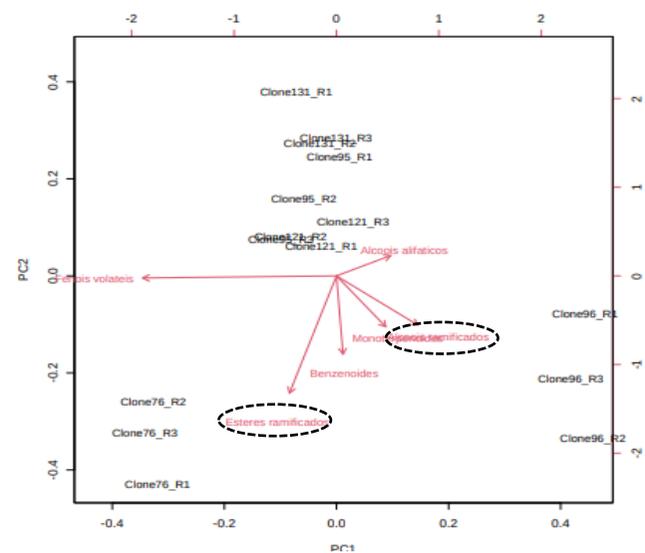


| Classes | PC1 | PC2 | PC3 |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ácidos alifáticos | | -0.37157 | |
| Álcoois alifáticos | | -0.38410 | |
| Aldeídos alifáticos | | -0.35426 | 0.48351 |
| Ésteres alifáticos | | 0.26016 | 0.25830 |
| Cetonas alifáticas | | | -0.57218 |
| Benzenoides | | -0.33832 | |
| Álcoois ramificados | -0.66623 | | -0.34820 |
| Cetonas ramificadas | | -0.35247 | |
| Monoterpenoides | 0.25439 | -0.47725 | -0.29717 |
| Fenóis voláteis | 0.58408 | | -0.35178 |

Figura 3. Análise de componentes principais, *biplots* e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a |0,25|) para a diferenciação dos clones da cv. Chardonnay na safra 2018 no sul de Minas Gerais



| Classes | PC1 | PC2 | PC3 |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Álcoois alifáticos | | | -0.53403 |
| Benzenoides | | -0.49191 | |
| Álcoois ramificados | 0.35783 | -0.30963 | |
| Ésteres ramificados | | -0.73713 | |
| Monoterpenoides | | -0.31967 | -0.75437 |
| Fenóis voláteis | -0.85134 | | -0.27233 |



Olarte Mantilla et al. (2017) e Carrasco-Quiroz et al. (2020) descrevem a influência dos porta-enxertos na composição volátil de uvas e vinhos das variedades Shiraz e Merlot. Carrasco-Quiroz et al. (2020) avaliaram a composição volátil dos vinhos da cv. Merlot em pé franco e enxertada em porta-enxertos (101-14 MGT, SO4, 99 Richter, 110 Richter, 1103 Paulsen, 140 Ruggeri, Gravesac e 4453 Malégue) no vale de Maule (Chile) em duas safras consecutivas e concluíram que há diferenças na composição volátil, principalmente quando são comparados os vinhos dos porta-enxertos com o do pé franco: por exemplo, os vinhos elaborados da cv Merlot enxertada em 140 Ruggeri e 99 Richter apresentaram maior conteúdo de ésteres etílicos.

Para o experimento de porta-enxertos, aplicou-se o teste de Fisher para avaliar as variáveis significativas: em 2017, as 15 classes de compostos foram significativas; para 2018, de 13 classes, 11 foram significativas. Os dados estão apresentados na Tabela 4 para as duas safras.

Tabela 4. Testes de Fisher para avaliar as variáveis significativas para os porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 nas safras 2017 e 2018

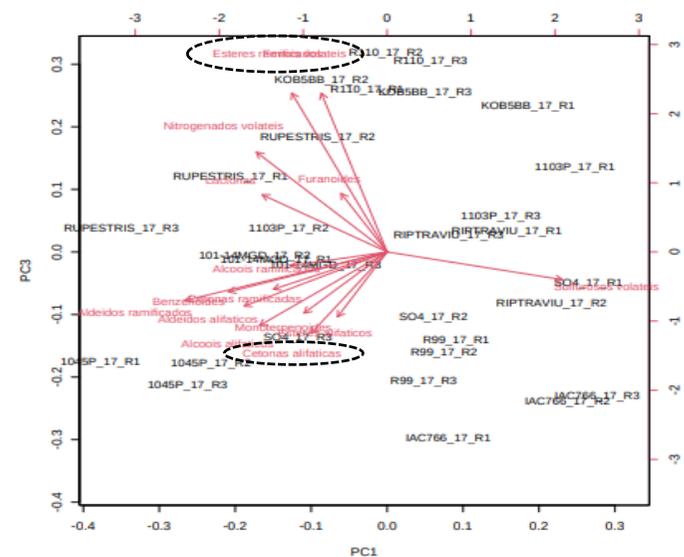
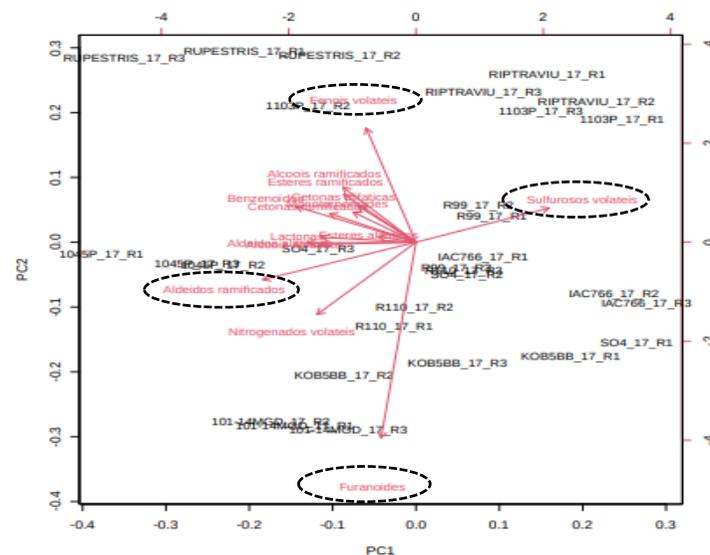
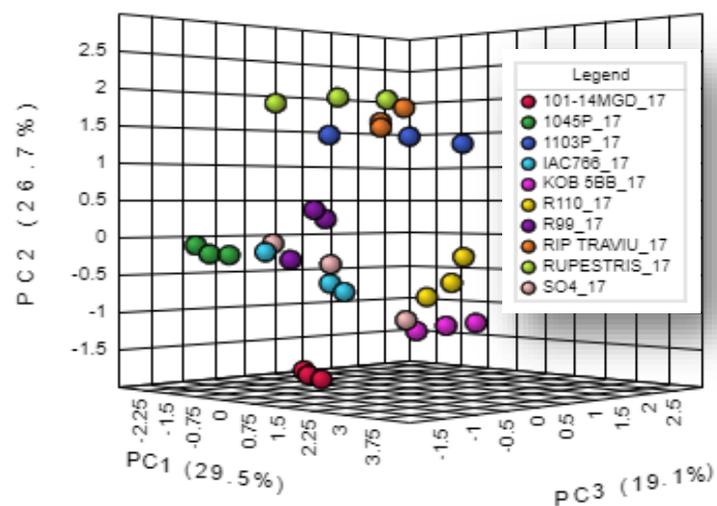
| Teste Fisher - 2017 | | | Teste Fisher - 2018 | | |
|--|---------|---------|--|---------|---------|
| Variáveis significativas (pvalue < 0.05) | | | Variáveis significativas (pvalue < 0.05) | | |
| Classes | f.value | p.value | Classes | f.value | p.value |
| Ésteres ramificados | 58.139 | 0.000 | Sulfurosos voláteis | 57.501 | 0.000 |
| Furanoides | 40.341 | 0.000 | Cetonas alifáticas | 46.502 | 0.000 |
| Sulfurosos voláteis | 30.779 | 0.000 | Álcoois ramificados | 23.412 | 0.000 |
| Aldeídos ramificados | 23.477 | 0.000 | Norisoprenoides | 23.378 | 0.000 |
| Fenóis voláteis | 23.299 | 0.000 | Fenóis voláteis | 21.823 | 0.000 |
| Nitrogenados voláteis | 15.486 | 0.000 | Cetonas ramificadas | 12.187 | 0.000 |
| Álcoois ramificados | 10.793 | 0.000 | Ésteres alifáticos | 9.9362 | 0.000 |
| Cetonas alifáticas | 6.9814 | 0.000 | Álcoois alifáticos | 5.8081 | 0.001 |
| Lactonas | 6.7195 | 0.000 | Ésteres ramificados | 5.7976 | 0.001 |
| Benzenoides | 5.7136 | 0.001 | Benzenoides | 5.0714 | 0.001 |
| Ésteres alifáticos | 4.4836 | 0.003 | Aldeídos ramificados | 3.9286 | 0.005 |
| Monoterpenoides | 2.9115 | 0.022 | Monoterpenoides | | >0.05 |
| Álcoois alifáticos | 2.6661 | 0.033 | Aldeídos alifáticos | | >0.05 |
| Aldeídos alifáticos | 2.6452 | 0.034 | | | |
| Cetonas ramificadas | 2.4321 | 0.047 | | | |

Em 2017 (Figura 4), a variância total dos dados para as três componentes corresponde a 75,3%. A PC1 apresentou que os porta-enxertos têm pouca correlação com a variável dos sulfurosos voláteis, e a variável aldeído ramificado está positivamente correlacionada com o porta-enxerto 1045 Paulsen. Na PC2, os furanoides estão correlacionados com os porta-enxertos 101-14MGD e Kobber 5BB; e os fenóis voláteis com o Rupestre do Lot. Para a PC3, as variáveis fenóis voláteis e ésteres ramificados estão correlacionadas com os porta-enxertos 110 Richter e Kobber 5BB, e cetona alifática correlacionada com 1045 Paulsen. Entretanto, os fenóis voláteis contribuem mais significativamente com a PC3, devido ao seu peso ser maior do que para a PC2.

Na safra 2018 (Figura 5), a variância total dos dados para três componentes foi de 79,3%. Na PC1, o porta-enxerto 1045 Paulsen se discrimina dos demais pela variável norisoprenoide (apresentou β -ionona nessa safra), entretanto as variáveis cetonas alifáticas e sulfurosos voláteis não são passíveis de serem correlacionadas nesses componentes avaliados. As variáveis álcoois ramificados, ésteres alifáticos e benzenoides, em ordem decrescente de significância, estão correlacionadas com os porta-enxertos 99 Richter e Rupestris do Lot na PC2; a PC3 tem como variável significativa os fenóis voláteis que diferencia os porta-enxertos Ripária do Traviú e 99 Richter.

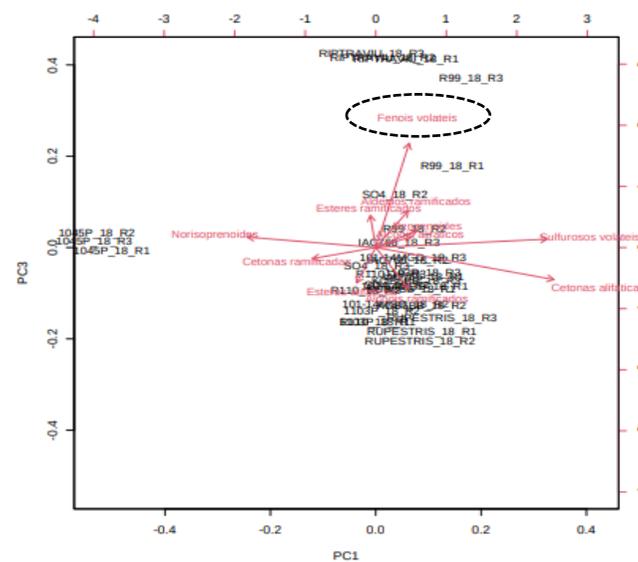
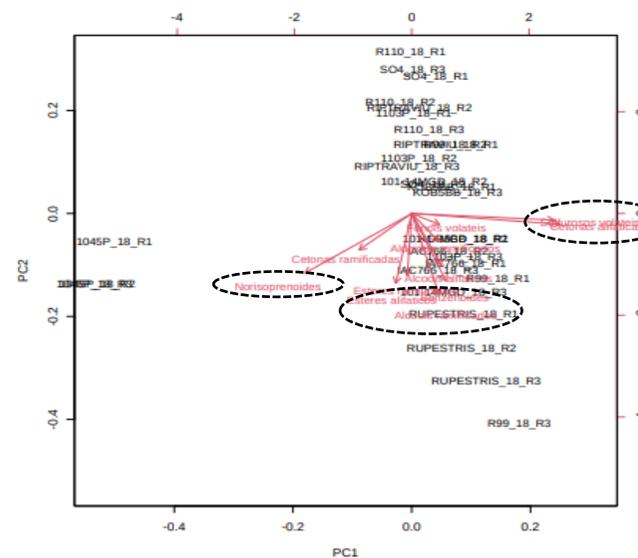
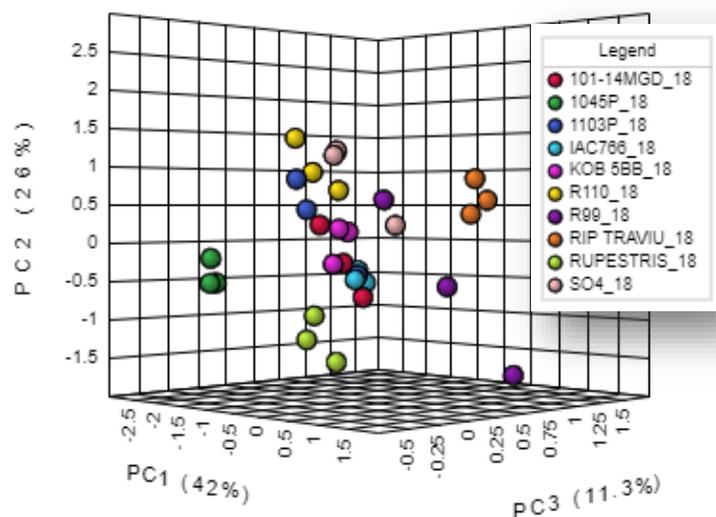
Os furanoides foram identificados somente na safra 2017 correlacionados com os porta-enxertos 101-14MGD e Kobber BB, que são híbridos e possuem em comum a *Vitis riparia* como espécie parental. Observou-se que essa classe de compostos está principalmente relacionada com o porta-enxerto 101-14MGD, que confere alta precocidade (maturação avançada da baga). Na safra 2018, com maior índice pluviométrico e menor radiação solar no período de maturação das bagas, não houve a formação desses compostos. Nas bagas foi identificado, principalmente, o composto 5-hidroxiacetilfurfural, e uma possível explicação para a sua formação é dependente do pH do meio (pH das bagas em torno de 3,0 - 3,2), por degradação do açúcar catalisada em meio ácido, mecanismo proposto por Pereira et al. (2011). Composto que também foi detectado tanto em uvas sãs como em uvas infectadas por *Aspergillus carbonarius* (GIANNOUKOS et al., 2020). Contudo, estudos adicionais são necessários para compreender as reações desencadeadas, em qual fase do desenvolvimento da baga, quais condições favoreceram a degradação em uma safra e não em outra.

Figura 4. Análise de componentes principais, *biplots* e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a |0,25|) para a diferenciação dos porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 na safra 2017 no sul de Minas Gerais



| Classes | PC1 | PC2 | PC3 |
|-----------------------|----------|----------|----------|
| Álcoois alifáticos | -0.27233 | | |
| Aldeídos alifáticos | -0.30551 | | |
| Ésteres alifáticos | | | -0.26226 |
| Cetonas alifáticas | | | |
| Benzenoides | -0.33881 | | |
| Álcoois ramificados | | | |
| Aldeídos ramificados | -0.43168 | | |
| Ésteres ramificados | | | 0.51192 |
| Cetonas ramificadas | | | |
| Furanoides | | -0.74589 | |
| Lactonas | -0.26692 | | |
| Monoterpenoides | | | |
| Nitrogenados voláteis | -0.27914 | -0.2758 | 0.32137 |
| Fenóis voláteis | | 0.43488 | 0.51147 |
| Sulfurosos voláteis | 0.37513 | | |

Figura 5. Análise de componentes principais, *biplots* e os fatores (classes de compostos voláteis) que contribuem mais significativamente (resultado maior e superior a |0,25|) para a diferenciação dos porta-enxertos da cv. Chardonnay clone 76 na safra 2018 no sul de Minas Gerais



| Classes | PC1 | PC2 | PC3 |
|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Álcoois alifáticos | | -0.30632 | |
| Ésteres alifáticos | | -0.41206 | -0.26377 |
| Cetonas alifáticas | 0.5997 | | |
| Benzenoides | | -0.4001 | |
| Álcoois ramificados | | -0.48168 | -0.30764 |
| Aldeídos ramificados | | | 0.27317 |
| Ésteres ramificados | | -0.36792 | |
| Cetonas ramificadas | | | |
| Norisoprenoides | -0.43257 | -0.35359 | |
| Fenóis voláteis | | | 0.77904 |
| Sulfurosos voláteis | 0.57724 | | |

Os fenóis voláteis discriminaram porta-enxertos nas duas safras, entretanto em cada safra essa classe de compostos influenciou materiais diferentes: em 2017, 110 Richter e Kobber 5BB, e em 2018, 99 Richter e Ripária do Traviú, que são porta-enxertos híbridos e de médio a alto vigor. Waterhouse, Sacks e Jeffery (2016) descrevem os fatores que alteram o conteúdo fenólico e que poderiam explicar os resultados encontrados, como a genética (impactando na expressão gênica de enzimas das vias de síntese de compostos fenólicos), o ambiente (fatores como temperatura, radiação solar e outros levam a diferentes respostas de expressão gênica e atividade enzimática de modo geral, mas, no caso particular, na modulação da via de biossíntese de fenólicos, pois estão ligados a diversas funções de defesa da planta) e a elevada variabilidade dentro e entre plantas em um mesmo local. Esses compostos são importantes para o sabor pelo apelo de alimentos defumados.

Outro ponto a ser levantando é a presença do norisoprenoide β -ionona no 1045 Paulsen em 2018, visto que esse composto tem notas florais e de frutas contribuindo fortemente para melhorar o caráter frutado dos vinhos (KELLER, 2015), apresentando assim influência positiva no aroma. Entretanto, não são descartados estudos adicionais e a avaliação aromática das bagas de todos os porta-enxertos até o vinho, pois em outros porta-enxertos esse composto poderia estar como precursor, ou seja, na forma glicosilada.

Além da análise multivariada, foram avaliadas as classes de compostos nos gráficos em barras (Figuras 1S e 2S – Material suplementar) para entender algumas diferenças e similaridades na composição volátil das bagas nos dois experimentos e safras.

Para os porta-enxertos na safra 2017, observou-se uma alta quantidade de aldeídos alifáticos nas bagas enxertadas sobre o IAC-766 (Figura 2S), que possui um sistema radicular vigoroso e é um porta-enxerto com alta tolerância a solo argiloso (solo que retém água). Nesse estudo, essa alta quantidade sugere que nas condições pluviométricas de 2017 (média de 0,26 mm de chuva/dia na florada, 7,5 mm/dia no crescimento da baba, 6,8 mm/dia no pintor, 4,8 mm/dia na maturação e 2,9 mm/dia na colheita), o sistema radicular pode ter aprofundado na busca de reservas de água/fotoassimilados e, dessa forma, contribuiu para aumentar a biossíntese principalmente de aldeídos C6 (*E*-2-Hexenal e Hexanal). No estudo de Silva et al. (2019), os autores descreveram que esse porta-enxerto aumentou os níveis de açúcar

de algumas cultivares, e atribuíram provavelmente ao vigor do porta-enxerto que afeta a absorção de água e nutrientes.

Houve redução dos aldeídos alifáticos na safra 2018, principalmente C6, em quase todos os tratamentos. Entretanto, para o Clone 76 no porta-enxerto 1103 Paulsen, esse valor não foi tão baixo tanto para o experimento dos clones como para o experimento dos porta-enxertos, sugerindo haver uma adaptação dessa combinação enxerto e porta-enxerto, a mais difundida na região da Serra da Mantiqueira.

Na safra 2018, nota-se um aumento dos compostos benzenoides para o clone 76 (Figura 1S), também observado no experimento de porta-enxertos, cujas copas são do clone 76 (Figura 2S, escala a direita do gráfico), podendo sugerir que esse aumento é devido ao clone 76, independentemente do porta-enxerto utilizado, e por conseguinte a sua adaptação à região de Caldas e/ou a variabilidade que esse clone apresenta em relação aos outros.

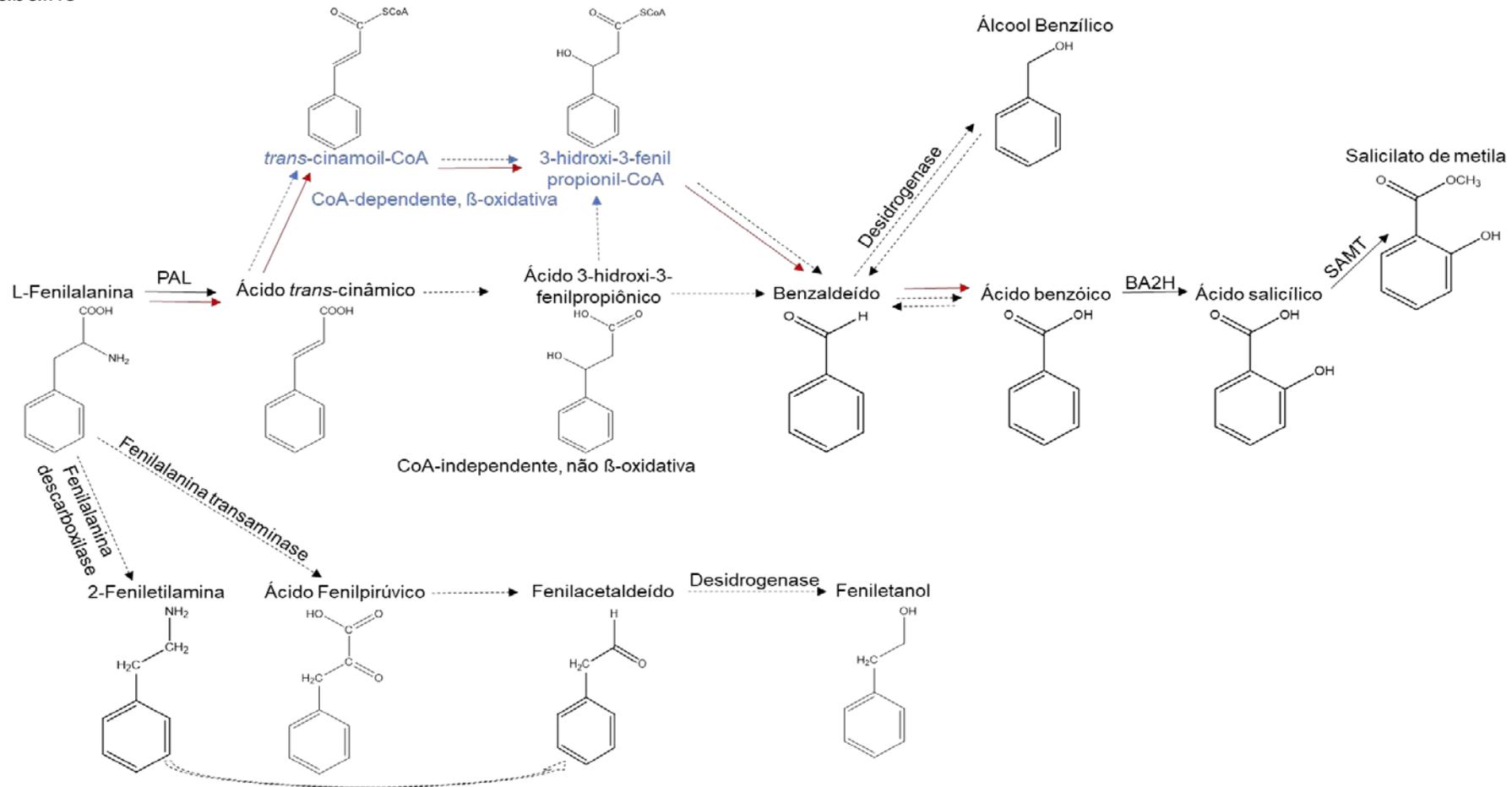
Os benzenoides que aumentaram na safra 2018 foram o benzaldeído e o fenilacetaldéido. Sobre a biossíntese dos compostos benzenoides, de acordo com Dunlevy et al. (2009) e Robinson et al. (2013), ela não foi totalmente explicada em uvas, entretanto outros autores propuseram diferentes vias em tecidos de petúnia (constituintes comuns do aroma floral) e que poderiam ser estendidos para uvas. Na Figura 6, estão representadas algumas vias propostas por Boatright et al. (2004) para os compostos que foram identificados no presente trabalho a partir do aminoácido fenilalanina, que estariam em competição direta, tendo sido assinalado que várias enzimas catalisam a formação desses compostos. Os autores propõem duas vias para a biossíntese do benzaldeído a partir do ácido *trans*-cinâmico, sintetizado a partir da fenilalanina através de uma reação catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), uma via CoA-dependente/ β -oxidativa e outra CoA-independente, não β -oxidativa. Para a produção do fenilacetaldéido, entretanto, foi avaliado que ele é formado diretamente a partir da fenilalanina via reação oxidativa amina-descarboxilação catalisada pela fenilacetaldéido sintase.

Avaliando o composto benzaldeído nas duas safras, uma possível explicação pode estar relacionada ao estresse térmico diurno e noturno. Vários transcritos que codificam a PAL foram identificados como reprimidos por altas temperaturas durante a noite no *véraison* (RIENTH et al., 2014).

Tomando por base as vias propostas por Boatright et al. (2004) responsáveis por produzir o fenilacetaldéido, seria necessário investigar quais fatores impactam na produção do substrato (aminoácido fenilalanina) ou na expressão gênica das enzimas para se ter maior clareza acerca da produção desse composto em uvas. Relativo ao benzaldeído que não foi identificado em várias amostras da safra 2017 ou produzido em pequena quantidade por um clone somente (clone 95), as temperaturas médias mais altas em algumas épocas podem ter coincidido com o *véraison* e ter afetado a expressão da PAL, bem como outra possível explicação pode ser concernente ao fitocromo, que regula a atividade da enzima PAL (KELLER, 2015).

Dudareva et al. (2007) afirmam que os benzenoides estão envolvidos na reprodução da planta e defesa. O benzaldeído tem aroma de amêndoa amarga, e o fenilacetaldéido descriptor forte, vegetal (BURDOCK, 2010). Dudareva & Pichersky (2006) destacam que, além de contribuírem para o aroma, esses compostos têm um papel importante na comunicação das plantas com o meio ambiente, na atração de insetos e animais polinizadores.

Figura 6. Rotas biossintéticas propostas por Boatright et al. (2004) dos compostos benzenoides em petúnia e identificados nesse trabalho



Fonte: Adaptado de Boatright et al. (2004) as vias biossintéticas propostas para a biossíntese dos compostos benzenoides em petúnia. A via CoA-dependente β-oxidativa é apresentada em azul, enquanto a via CoA-independente não β-oxidativa é apresentada em preto. As vias em vermelho são CoA-dependentes e não β-oxidativas. As setas sólidas são reações bioquímicas estabelecidas, enquanto as tracejadas são possíveis etapas ainda não descritas.

BA2H: ácido benzóico 2-hidroxilase; SAMT: Ácido salicílico carbóxi metiltransferase.

4.1.2 Considerações

- ❖ Efeito safra – como esperado, as condições climáticas afetam a composição das bagas, favorecendo a biossíntese de determinados compostos em detrimento de outros. Para uma clara ideia da possível contribuição de um outro fator, seria necessário desenhar experimentos específicos, em condições controladas combinando com observações ao longo de várias outras safras. A contribuição do presente trabalho foi identificar e classificar as classes de compostos mais ou menos afetadas, o que pode direcionar estudos mais extensos (metabolômica e transcriptômica, por exemplo).
- ❖ Efeito experimento – clones: o clone 809 se distingue do demais nas duas safras devido ao número e à abundância de compostos monoterpenoides presente nas bagas, que são característicos da uva moscato, evidenciando aromas florais e frutados.
- ❖ Efeito experimento – clones: em cada safra, os cinco clones da cv. Chardonnay avaliados pela análise multivariada tiveram os perfis de voláteis impactados por diferentes classes de compostos, sugerindo que a variabilidade entre os clones tem peso na biossíntese dos compostos voláteis, assim como os clones lidam com o ambiente em que se encontram.
- ❖ Efeito experimento – porta-enxertos: a enxertia contribui para o fenótipo da planta (interação entre o genótipo do porta-enxerto, genótipo do enxerto e condições ambientais), e pode sugerir que a biossíntese de alguns compostos e/ou de algumas classes de compostos está relacionada à interação porta-enxerto-ambiente-enxerto.
- ❖ Análise de safras adicionais para as bagas e até o vinho podem contribuir para o melhor entendimento da composição volátil da cv. Chardonnay no sul de Minas Gerais.

4.1.3 Material Suplementar

Tabela 1S. Compostos voláteis identificados por classes nas bagas da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, experimento e safra, número CAS, avaliação e precursores biossintéticos

| Composto | Código | Experimento e Safra | CAS* | Avaliação | Precursor Biossintético |
|-----------------------------------|--------|-------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| Ácidos Alifáticos | | | | | |
| Ácido 2-(E)-hexenóico | CD29 | C (17) | 13419-69-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Ácido hexanóico (ácido capríco) | CD77 | C (17) | 142-62-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Ácido nonanóico | CD88 | C (17) | 112-05-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Ácido octanóico (ácido caprílico) | CD90 | C (17) | 124-07-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Álcoois Alifáticos | | | | | |
| 1-Butanol | CD124 | PE (18) | 71-36-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 1-Heptanol | CD6 | C (17, 18), PE (17, 18) | 111-70-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 1-Hexanol | CD7 | C (17, 18), PE (17, 18) | 111-27-3 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| 1-Nonanol | CD9 | C (17, 18), PE (17, 18) | 143-08-8 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| 1-Octanol | CD10 | C (17, 18), PE (17, 18) | 111-87-5 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| 1-Octen-3-ol | CD11 | C (17, 18), PE (17, 18) | 3391-86-4 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| 1-Pentanol | CD13 | C (17, 18), PE (17, 18) | 71-41-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 2-Heptanol | CD24 | C (17, 18), PE (17, 18) | 543-49-7 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Hexen-1-ol | CD110 | PE (17, 18) | 928-95-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (Z)-2-Hexen-1-ol | CD26 | C (17, 18), PE (17, 18) | 928-94-9 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Octen-1-ol | CD33 | C (17, 18), PE (17, 18) | 18409-17-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-3-Hexen-1-ol | CD38 | C (17, 18), PE (17, 18) | 928-97-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (Z)-3-Hexen-1-ol | CD39 | C (18), PE (17, 18) | 928-96-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 3-Octanol | CD126 | PE (18) | 589-98-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Etanol | CD68 | C (17, 18), PE (17, 18) | 64-17-5 | MS, IRKovats mod, (1) | Glicólise |
| Cetonas Alifáticas | | | | | |
| 1-Octen-3-ona | CD12 | C (17, 18), PE (17, 18) | 4312-99-6 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| (E,E)-3,5-Octadien-2-ona | CD36 | C (18) | 30086-02-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 3-Octanona | CD125 | PE (18) | 106-68-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 3-Octen-2-ona | CD44 | C (17, 18) | 1669 44 9 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetona | CD52 | PE (17) | 67-64-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |

Tabela 1S (continuação).

| Composto | Código | Experimento e Safra | CAS* | Avaliação | Precursor Biossintético |
|----------------------------|--------|----------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| Aldeídos Alifáticos | | | | | |
| (E,E)-2,4-Decadienal | CD15 | C (18) | 25152-84-5 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| (E,E)-2,4-Heptadienal | CD16 | C (18), PE (18) | 4313-03-5 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E,E)-2,4-Hexadienal | CD17 | C (17), PE (17, 18) | 142-83-6 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Ácidos graxos |
| (E,E)-2,4-Nonadienal | CD18 | C (18), PE (18) | 5910-87-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Decenal | CD23 | C (17) | 3913-81-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (Z)-2-Heptenal | CD25 | C (17, 18), PE (17, 18) | 57266-86-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Hexenal | CD28 | C (17, 18), PE (17, 18) | 6728-26-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Nonenal | CD32 | C (17, 18), PE (17, 18) | 18829-56-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-2-Octenal | CD34 | C (17, 18), PE (17, 18) | 2548-87-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 2-Undecenal | CD35 | C (18) | 2463-77-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (E)-3-Hexenal | CD41 | C (17) | 4440-65-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (Z)-3-Hexenal | CD42 | C (17) | 6789-80-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| (Z)-4-Heptenal | CD45 | C (18) | 6728-31-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetaldeído | CD48 | C (17, 18), PE (18) | 75-07-0 | MS, IRKovats mod, (3) | Ácidos graxos |
| Decanal | CD65 | C (18), PE (17, 18) | 112-31-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Heptanal | CD75 | C (17, 18), PE (17, 18) | 111-71-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Hexanal | CD76 | C (17, 18), PE (17, 18) | 66-25-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Nonanal | CD86 | C (17, 18), PE (17, 18) | 124-19-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Octanal | CD89 | C (17, 18), PE (17, 18) | 124-13-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Pentanal | CD92 | C (17, 18), PE (17, 18) | 110-62-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Ésteres Alifáticos | | | | | |
| Acetato (E)-hexenila | CD27 | C (17, 18), PE (17, 18) | 2497-18-9 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 2-hexenoato de etila | CD30 | C (18), PE (18) | 1552-67-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| 2-hexenoato de metila | CD31 | C (17), PE (17, 18) | 2396-77-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetato (Z)-3-hexenila | CD40 | C (17), PE (18) | 3681-71-8 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetato de butila | CD50 | C (17, 18), PE (17, 18) | 123-86-4 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetato de hexila | CD51 | C (17, 18), PE (17, 18) | 142-92-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Acetato de etila | CD69 | C (17, 18), PE (17, 18) | 141-78-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Hexanoato de etila | CD79 | C (17, 18), PE (17, 18) | 123-66-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Hexanoato de metila | CD123 | PE (18) | 106-70-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |
| Octanoato de metila | CD120 | PE (18) | 111-11-5 | MS, IRKovats mod, (1) | Ácidos graxos |

Tabela 1S (continuação).

| Composto | Código | Experimento e Safra | CAS* | Avaliação | Precursor Biossintético |
|--|--------|----------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| Benzenoides | | | | | |
| Acetato de benzila | CD138 | PE (17) | 140-11-4 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Acetofenona | CD137 | PE (17) | 98-86-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Benzaldeído | CD53 | C (17, 18), PE (18) | 100-52-7 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Fenilacetaldéido | CD54 | C (17, 18), PE (17, 18) | 122-78-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Álcool benzílico | CD55 | C (17, 18), PE (17, 18) | 100-51-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Naftaleno | CD130 | PE (17) | 91-20-3 | MS, IRKovats mod, (2) | Aminoácidos |
| Feniletanol | CD94 | C (17, 18), PE (17, 18) | 60-12-8 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Tolueno | CD101 | C (17, 18), PE (17, 18) | 108-88-3 | MS, IRKovats mod, (2) | Aminoácidos |
| Álcoois Ramificados | | | | | |
| 3-metil-1-butanol (Álcool isoamílico) | CD3 | C (18), PE (17, 18) | 123-51-3 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Aminoácidos |
| 2-etil-1-hexanol | CD8 | C (17, 18), PE (17, 18) | 104-76-7 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Aminoácidos |
| Aldeídos Ramificados | | | | | |
| 2-metil-butanal | CD58 | C (17, 18), PE (18) | 96-17-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| 3-metil-butanal | CD59 | C (17, 18), PE (17, 18) | 590-86-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| 2-metil-propanal | CD95 | C (18), PE (18) | 78-84-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Ésteres Ramificados | | | | | |
| Acetato de isoamila | CD4 | C (18), PE (18) | 123-92-2 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Aminoácidos |
| Miristato de isopropila | CD81 | C (18), PE (17) | 110-27-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Cetonas Ramificadas | | | | | |
| 6-methyl-5-Hepten-2-ona | CD47 | C (17, 18), PE (17, 18) | 110-93-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Carotenoides |
| Furanoides | | | | | |
| Álcool furfúrico | CD129 | PE (17) | 98-00-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Carboidratos |
| 5-hidroxiacetilfurfural | CD128 | PE (17) | 67-47-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Carboidratos |
| 2-etilfurano | CD72 | C (17) | 3208-16-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Carboidratos |
| Lactonas | | | | | |
| Butirolactona | CD136 | PE (17) | 96-48-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Carboidratos |
| Norisoprenoides | | | | | |
| β -Ionona | CD116 | PE (18) | 8013-90-9 | MS, IRKovats mod, (1) | Carotenoides |
| Sesquiterpenoides | | | | | |
| Farneseno | CD1 | C (18) | 26560-14-5 | MS, IRKovats mod, (1,2) | Isoprenoides |

Tabela 1S (continuação).

| Composto | Código | Experimento e Safra | CAS* | Avaliação | Precursor Biossintético |
|---------------------------------|--------|----------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| Monoterpenoides | | | | | |
| α -Tujeno | CD56 | C (18) | 2867-05-2 | MS, IRKovats mod, (2) | Isoprenoides |
| β -Tujeno | CD57 | C (17, 18) | 28634-89-1 | MS, IRKovats mod, (2) | Isoprenoides |
| 3-Pinanona | CD117 | PE (18) | 15358-88-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Citral | CD22 | C (17, 18) | 5392-40-5 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Isoprenoides |
| Citronelol | CD64 | C (17, 18) | 106-22-9 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Cimeno | CD91 | C (17, 18) | 527-84-4 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| d-Cânfora | CD127 | PE (17) | 76-22-2 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Isoprenoides |
| Eucaliptol | CD71 | C (17, 18) | 470-82-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Ácido gerânico | CD73 | C (17, 18) | 459-80-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Geraniol | CD74 | C (17, 18), PE (18) | 106-24-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Limoneno | CD82 | C (17, 18), PE (17) | 138-86-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Linalol | CD83 | C (17, 18), PE (17, 18) | 78-70-6 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Mentol | CD67 | C (18), PE (17, 18) | 89-78-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Nerol | CD21 | C (17, 18) | 106-25-2 | MS, IRKovats mod, (1,3) | Isoprenoides |
| β -Mirceno | CD96 | C (17, 18) | 123-35-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| β -Ocimeno | CD97 | C (17) | 13877 91 3 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| β -Felandreno | CD98 | C (18) | 555-10-2 | MS, IRKovats mod, (2) | Isoprenoides |
| Tetrahydro linalol | CD43 | PE (17) | 78-69-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Óxido trans-linalol (furanóide) | CD100 | C (18) | 34995-77-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| α -Terpineol | CD102 | C (17, 18), PE (17, 18) | 98-55-5 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Geranilacetona | CD46 | C (18), PE (17, 18) | 3796-70-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Isoprenoides |
| Nitrogênio Volátil | | | | | |
| Piridina | CD108 | PE (17) | 110-86-1 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Fenóis Voláteis | | | | | |
| Salicilato de octila | CD171 | C (17), PE (17) | 118-60-5 | MS, IRKovats mod, (2) | Aminoácidos |
| Salicilato de metila | CD85 | C (18), PE (18) | 119-36-8 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Fenol | CD93 | C (17), PE (17) | 108-95-2 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Salicilato de hexila | CD238 | C (18) | 6259-76-3 | MS, IRKovats mod, (2) | Aminoácidos |
| Sulfurosos Voláteis | | | | | |
| Disulfeto de carbono | CD61 | C (17), PE (17) | 75-15-0 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |
| Dimetilsulfeto | CD66 | PE (18) | 75-18-3 | MS, IRKovats mod, (1) | Aminoácidos |

CAS*: Número de registro do composto no *Chemical Abstract Service* (CAS); C: clone; PE: porta-enxerto; MS: composto identificado pela similaridade com a biblioteca NIST 14; IR Kovats mod: Índice de Retenção Kovats modificado menor que 50; (1) Dados retirados de Burdock (2010); (2) Dados do site Good Scents; e, (3) Dados do site Flavor Library.

Figura 1S. Gráfico com a área média de cada classe de composto volátil para o experimento de clones da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018

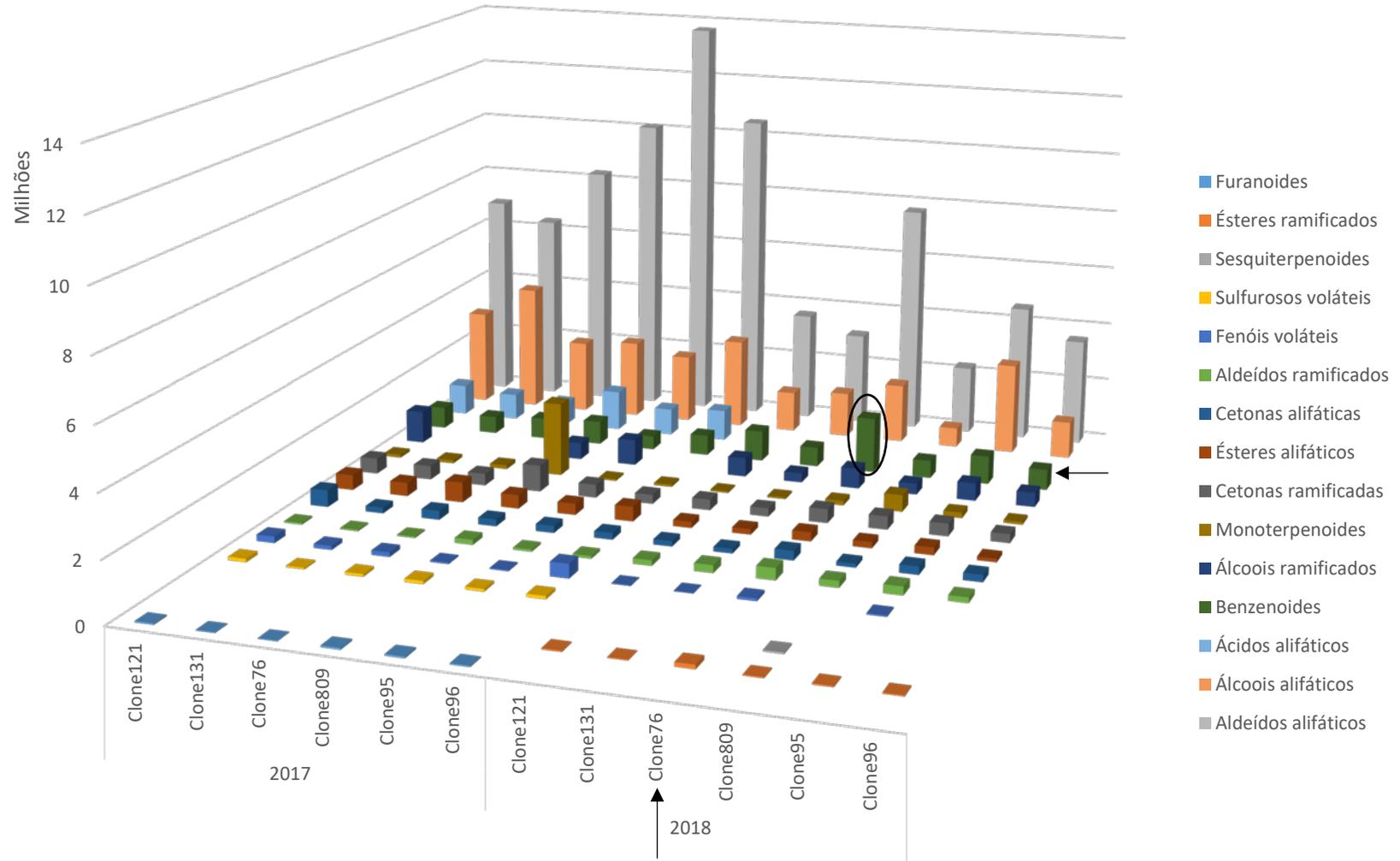
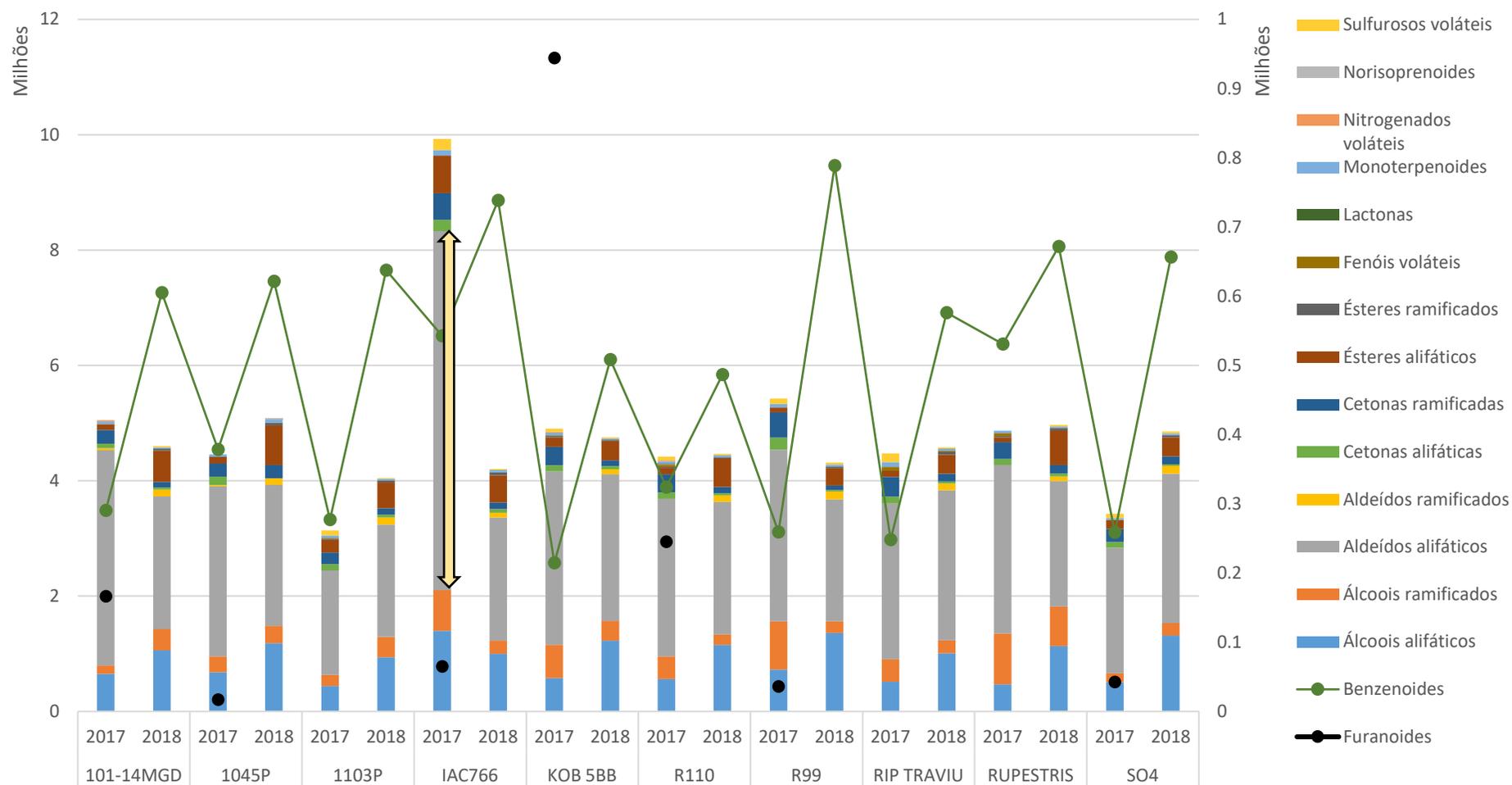


Figura 2S. Gráfico com a área média de cada classe de composto volátil para o experimento de porta-enxertos nas safras 2017 e 2018



Abreviações: 1045P: 1045Paulsen; RIP TRAVIU: Ripária do Traviú; 1103P: 1103Paulsen; R110: Richter 110; KOB 5BB: Kober 5BB; R99: Richter 99; 101-14MGD: 101-14 Millardet et de Grasset.

4.2 SEÇÃO 2 – Perfil aromático do clone 809 da cv. Chardonnay: da baga ao espumante em vinhedo na Serra da Mantiqueira

4.2.1 Resultados e discussão

Os espumantes elaborados com uvas moscato são bem apreciados pelo consumidor devido ao caráter fresco, jovem, doce, com notas florais e frutadas (MARCON et al., 2021). Em regiões produtoras do Brasil, dados apontam crescimento da comercialização dos espumantes moscatéis no Rio Grande do Sul, entre 2013 e 2018, registrando um aumento de 87% (PEREIRA et al., 2020); no Vale do São Francisco, os espumantes moscatéis são responsáveis por 60% da produção, quando se avalia a elaboração desse tipo de produto (PEREIRA, 2020). Logo, estudos estão sendo realizados para avaliar o perfil volátil do clone 809 da cv. Chardonnay, clone que apresenta caráter moscato, para a elaboração de espumantes.

Foram avaliados os compostos voláteis livres por HS-SPME/GC-MS do clone 809 da cv. Chardonnay em comparação ao clone 76, normalmente utilizado nos cultivos comerciais. O objetivo foi avaliar a quantidade de compostos terpênicos biossintetizados e biotransformados ao longo da elaboração do espumante em duas safras de verão consecutivas, 2017 e 2018. Foram identificados 33 terpenoides, sendo 31 monoterpenos, um sesquiterpeno e um C13-norisoprenoide (Tabela 1).

Para avaliar todas as matrizes, da uva ao espumante, foi elaborado o gráfico de barras com a somatória das áreas dos compostos terpenoides (Figura 1). O clone 809 destacou-se na quantidade de terpenoides em ambas as safras e em todas as matrizes, da baga até o espumante. Luo et al. (2019) avaliaram os terpenos livres em várias cultivares e reportaram que a Chardonnay é a cultivar com menor abundância desses compostos, como observado para o clone 76 no presente trabalho.

Na safra 2018, observou-se menor abundância dos terpenoides livres nas bagas do clone 809, com acentuada elevação no mosto, atingindo quantidade praticamente igual à de 2017 (Figura 1). Tal comportamento sugere que grande parte desses compostos estava na forma glicosilada, e eles foram liberados durante a *débourbagem* com a ação das enzimas pectolíticas (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Tabela 1. Compostos voláteis identificados por classes nas bagas dos clones 76 e 809 da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, número CAS, as matrizes identificadas/safra e avaliação (análise por HS-SPME/GC-MS)

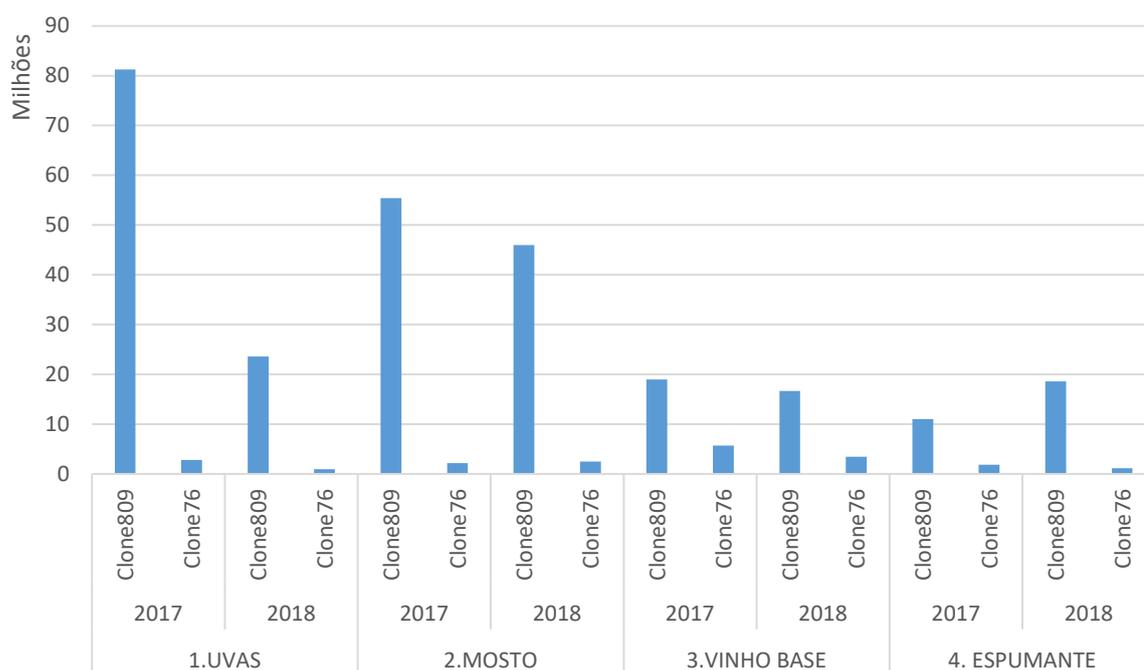
| Composto | Código | CAS* | Identificação dos Compostos nas Fases do Processo | | | | Avaliação |
|----------------------------|--------|------------|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | | | Uva | Mosto | Vinho Base | Espumante | |
| Monoterpenoide | | | | | | | |
| (E,Z)-allo-ocimeno | CD210 | 7216-56-0 | | CL 809 (17,18) | | | MS, IRKovats mod, (2) |
| (Z)-Óxido dehidrolinalool | CD247 | 54750-69-5 | | | | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| Óxido cis-Linalool | CD62 | 5989-33-3 | | CL 809 (17) | | | MS, IRKovats mod |
| cis- β -ocimeno | CD209 | 3338-55-4 | | CL 809 (17,18) | | | MS, IRKovats mod, (2) |
| Citral | CD22 | 5392-40-5 | CL 809 (17,18) | | | | MS, IRKovats mod, (1,3) |
| Citronelol | CD64 | 106-22-9 | CL 809 (17,18) | CL 809 (18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Acetato de citronelila | CD233 | 150-84-5 | | | CL 809 (18) CL 76 (18) | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Cimeno | CD91 | 527-84-4 | CL 76 (17) | CL 809 (18) | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Dehidrolinalol (Hotrienol) | CD216 | 29957-43-5 | | CL 809 (18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| Dihidromircenol | CD103 | 18479-58-8 | | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17) | | MS, IRKovats mod, (2) |
| Eucaliptol | CD71 | 470-82-6 | CL 809 (17) CL 76 (17) | | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Ácido gerânico | CD73 | 459-80-3 | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17) | CL 809 (17) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Geraniol | CD74 | 106-24-1 | CL 809 (17,18) | CL 809 (18) | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Acetato de geranila | CD234 | 105-87-3 | | | CL 809 (18) CL 76 (18) | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Geranilacetona | CD46 | 3796-70-1 | CL 809 (18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Isoterpinoleno | CD235 | 586-63-0 | | | CL 809 (18) | | MS, IRKovats mod, (2) |
| Limoneno | CD82 | 138-86-3 | CL 809 (17,18) CL 76 (17) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Linalool | CD83 | 78-70-6 | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (18) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Óxido de linaloila | CD246 | 7392-19-0 | | | | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Óxido de rosa | CD249 | 3033-23-6 | | | | CL 809 (18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| Mentol | CD67 | 89-78-1 | CL 809 (18) CL 76 (18) | | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Nerol | CD21 | 106-25-2 | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (18) | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Óxido de nerol | CD211 | 1786-08-9 | | CL 809 (18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| β -Mirceno | CD96 | 123-35-3 | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (1) |

Tabela 1 (continuação).

| Composto | Código | CAS* | Identificação dos Compostos nas Fases do Processo | | | | Avaliação |
|--|--------|------------|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| | | | Uva | Mosto | Vinho Base | Espumante | |
| Monoterpenoide | | | | | | | |
| β -Felandreno | CD98 | 555-10-2 | CL 809 (18) | | | | MS, IRKovats mod, (2) |
| β -Tujeno | CD57 | 28634-89-1 | CL 809 (18) CL 76 (17) | | | | MS, IRKovats mod, (2) |
| Tetrahydro linalool | CD43 | 78-69-3 | CL 76 (18) | | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| Éster metílico de ácido trans-gerânico | CD212 | 1189-09-9 | | CL 809 (17,18) | | | MS, IRKovats mod, (2) |
| Óxido trans-linalool (furanóide) | CD100 | 34995-77-2 | CL 809 (18) | CL 809 (18) | | CL 809 (17,18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| trans- β -ocimeno | CD208 | 3779-61-1 | CL 809 (17) | CL 809 (17,18) | | | MS, IRKovats mod, (1) |
| α -Terpineol | CD102 | 98-55-5 | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | MS, IRKovats mod, (1) |
| Norisoprenoide | | | | | | | |
| β -damascenona | CD175 | 23726-93-4 | CL 76 (18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | CL 809 (17,18) CL 76 (17,18) | MS, IRKovats mod, (2) |
| Sesquiterpenoide | | | | | | | |
| Farneseno | CD1 | 26560-14-5 | CL 809 (18) CL 76 (18) | | | | MS, IRKovats mod, (2) |

CAS* - Número de registro do composto no *Chemical Abstract Service* (CAS); CL 809 – clone 809; CL 76 – clone 76; MS - composto identificado pela similaridade com a biblioteca NIST 14); IR Kovats mod – Índice de Retenção Kovats modificado menor que 50; NR – Não Reportado; (1) Composto descrito em Burdock (2010); e (2) Composto descrito no site Good Scents.

Figura 1. Gráfico em barras com a somatória de área dos compostos monoterpénoides em todas as matrizes para os clones 76 e 809 da cv. Chardonnay nas safras de 2017 e 2018 no sul de Minas Gerais



Os terpenoides são biossintetizados em plantas a partir das vias do MEP e MVA. Alguns compostos terpenoides identificados nesse estudo e as possíveis etapas de formação estão descritas na Figura 1S (material suplementar), de acordo com as proposições de Lin, Degenhardt, Köllner e Gershenzon (2009), Chen et al. (2011), Zhang et al. (2016), Ilc et al. (2016b) e Massonnet e Cantu (2019), bem como alguns dos principais compostos do metabolismo oxidativo do linalool (LUAN et al., 2006; ILC et al., 2016a). Nos trabalhos desses autores estão descritas terpeno sintases responsáveis pela biossíntese dos terpenoides. Lin, Massonnet e Cantu (2019) propuseram os metabólitos derivados dos monoterpenos: geraniol, terpineol e linalool.

Lin, Massonnet e Cantu (2019), em estudo sobre a base genética do aroma da uva e do vinho, explicam que os monoterpenos são característicos nas bagas durante a fase inicial do desenvolvimento e, posteriormente, não serão os principais contribuintes para o aroma. Para as cultivares moscato, entretanto, o perfil é diferente: são plantas que exibem uma alta concentração de monoterpenos nas bagas. Segundo os autores, para o clone moscato (809) da cv. Chardonnay, a alteração de um mutante do gene que codifica a enzima 1-deoxi-D-xilose-5-sintase (DXS) sugere ser responsável por catalisar a formação de substratos para a produção de monoterpenos pela via do MEP. Esta alteração é considerada uma mutação não neutra no gene identificado como o responsável pelo caráter moscato.

Além da biossíntese de monoterpenos estar relacionada grande parte à baga, as condições ambientais (disponibilidade de água, exposição à radiação solar, temperatura e solo) podem regular a formação e afetar a concentração final (LUO et al., 2019; VAN LEEUWEN et al., 2020). Carrau et al. (2005) e Camesasca et al. (2018) propuseram a síntese de alguns compostos monoterpenoides pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* em determinadas condições de fermentação que seria capaz de contribuir para o aroma do vinho, entretanto os autores colocam que estudos adicionais são necessários para o melhor entendimento de quais fatores nutricionais contribuem com a síntese de isoprenoides por essa levedura.

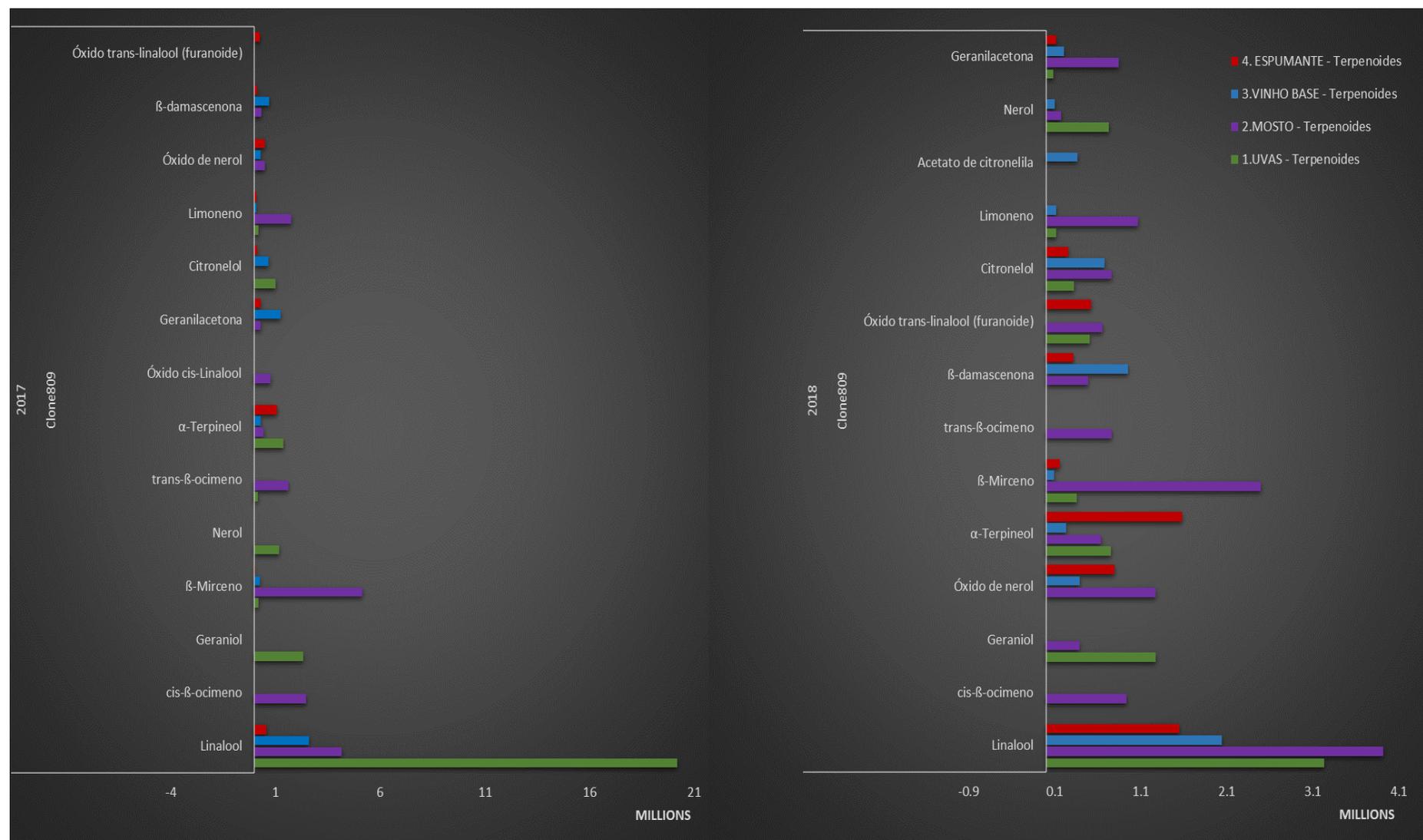
Durante o processamento, os terpenoides formados na baga sofrem pouca influência das leveduras do gênero *Saccharomyces* ou seja, as leveduras por não possuírem as terpeno sintases não biossintetizam esses compostos. Assim, elas utilizam os compostos formados na baga: os que estão parcialmente glicosilados serão hidrolisados pelas enzimas glicosidases das leveduras (UGLIANO; HENSCHKE, 2009; BAUMES, 2009); pelas atividades catalíticas das leveduras nos

monoterpenols, como linalool, geraniol e nerol formando outros álcoois de monoterpenos (SLAGHENAUI et al., 2020); e, que podem passar por reações de redução, como a redução do geraniol ao análogo menos potente citronelol (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016) e a formação dos ésteres de acetato (SLAGHENAUI et al., 2020). A redução do geraniol durante a fermentação pode ser uma explicação para o composto não ter sido identificado no vinho base e espumante (Tabela 1). A Figura 2 apresenta os principais compostos terpenoides e derivados observados no clone 809.

É possível avaliar que o composto linalool está em maior abundância na baga na safra de 2017 e no mosto em 2018 (Figura 2), entretanto, nas etapas subsequentes verifica-se uma quantidade maior dos metabólitos oxidativos desse composto. A literatura (LUAN et al., 2006; ILC et al., 2016a) sugere que as enzimas que oxidam o linalool, o fazem em diferentes posições, o que poderia explicar os resultados encontrados nos experimentos. Alguns compostos desse processo oxidativo estão ilustrados na Figura 1S (*cis*-linalool óxido, óxido do *trans*-linalool e óxido de nerol).

Os ésteres de monoterpenos, acetato de citronelila e acetato de geranila foram identificados no vinho base da safra 2018. Steyer et al. (2013) e Pardo et al. (2015) propuseram que a formação desses ésteres é decorrente da conversão do citronelol e geraniol, respectivamente, pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação. Logo, pode-se inferir que os compostos são formados a partir do geraniol pelo metabolismo da levedura *Saccharomyces bayanus*.

Figura 2. Compostos terpenoides presentes da baga ao espumante do clone 809 da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018 no sul de Minas Gerais



A geranilacetona pode provir de diversas vias metabólicas: Zhang et al. (2016) enfatizaram a biossíntese principalmente a partir do carotenoide ζ -caroteno, entretanto, eles ressaltaram ser possível que ela venha do sesquiterpeno Nerolidol; por outro lado, Simkin et al. (2004) afirmaram que pode ser originária da clivagem do fitoeno (trabalho realizado com tomates), através das dioxigenases. Entretanto, para uvas, não se tem claro qual é a via preferencial para a formação desse composto. As estruturas e possíveis vias estão descritas na Figura 1S.

A β -damascenona, C13-norisoprenoide identificado no presente estudo, provém da clivagem do carotenoide neoxantina, porém não é uma clivagem direta, apresentando produtos intermediários, conforme adaptado por Lin, Massonnet e Cantu (2019) dos autores Sefton et al. (2011) (Figura 1S).

Sendo os C-13 norisoprenoides produtos dos carotenoides e a geranilacetona potencial produto, a biossíntese dos tetraterpenos que são substratos para a formação desses compostos é importante para o aroma das bagas e conseqüentemente dos vinhos. Baumes (2009) coloca que fatores como condições climáticas, práticas agrícolas, cultivares e clones influenciam a formação desses precursores.

Dessa forma, estudos adicionais podem ser realizados para avaliar outras condições de manejo e cultivo (como, sistema de condução, densidade de plantio e desfolha) para uma maior biossíntese de carotenoides e transformação em C13-norisoprenoides, bem como a extração dos precursores das bagas.

Para a análise multivariada, foram utilizados os aromas identificados nos vinhos base e espumante nos dois clones nas safras 2017 e 2018. No vinho base, foram identificados 84 e 90 compostos, e nos espumantes 89 e 93 compostos, nas safras 2017 e 2018, respectivamente.

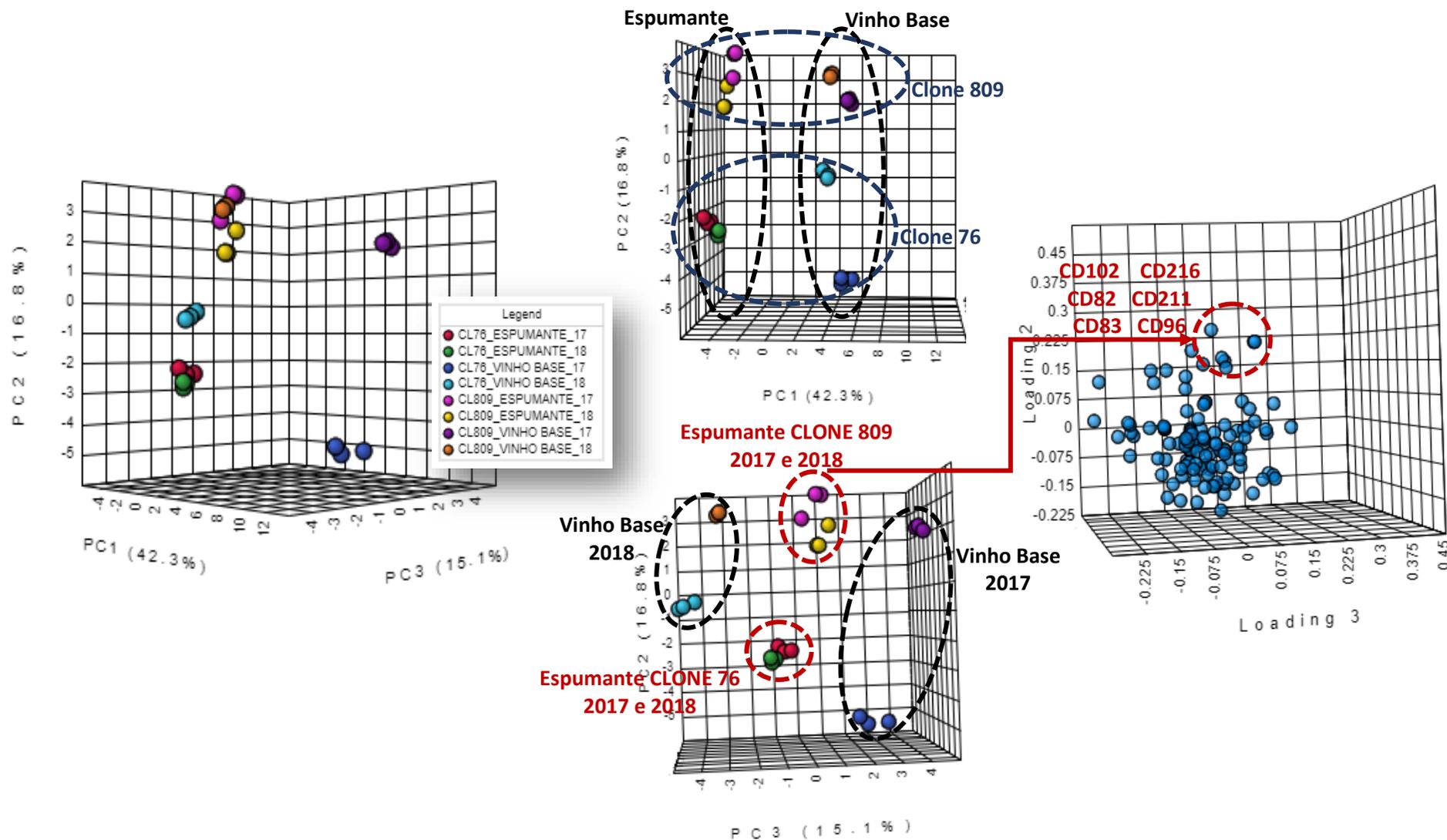
No total, 121 variáveis (compostos) foram identificadas e consideradas significativas pelo teste de Fisher para prosseguir com a análise de componentes principais, em que se fez a razão das áreas dos compostos livres (área do composto/área do padrão interno) identificados nos clones 76 e 809. Na Figura 3, verifica-se que a variância total dos dados para os três componentes principais é de 74,2%, sendo que PC1 diferenciou a etapa de elaboração em 42,3% (vinho base x espumante), enquanto a segunda componente discriminou os clones utilizados tanto para o vinho base quanto para o espumante (Clone 809 x Clone 76 – PC2: 16,8%).

Para a terceira componente, houve a discriminação por safras dos vinhos base (vinho base 2017 x vinho base 2018). Entretanto, os vinhos espumantes não foram separados por safras, ficando agrupados pelos seus clones, sugerindo que, independentemente da safra, o espumante, nessa avaliação, apresentou influência significativa derivada da mutação que o clone. Assim, mesmo depois de duas fermentações, o espumante elaborado com o clone 809 da cultivar Chardonnay tem a característica moscato nos seus aromas, ou seja, notas florais e frutadas. Essa avaliação parece independe das condições climáticas no que se refere aos compostos discriminativos, pois as safras apresentaram diferenças de temperatura, pluviosidade, radiação solar nos diferentes estágios de formação e amadurecimento da baga. Os compostos voláteis que foram mais significativos para o espumante do clone 809 da cv. Chardonnay nas safras 2017 e 2018 estão representados no *loading plot* (Figura 3), α -terpineol (CD102), linalool (CD83), β -Myrcene (CD96), dehidrolinalool (CD216), Nerol óxido (CD211) e limoneno (CD82).

Os compostos α -terpineol, linalool estão em maior quantidade no espumante e possuem baixos limiares de percepção do aroma, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ (Peinado et al., 2004), respectivamente; o que pode conferir ao vinho aromas floral/doce e cítrico/flora/doce. González-Barreiro et al. (2015) descreveram que alguns dos mais odoríferos compostos são os álcoois de monoterpenos, como α -terpineol, linalool, dehidrolinalool (ou hotrienol), entre outros.

Figura 3. Análise de componentes principais e *loading plot* para os compostos voláteis dos clones 76 e 809 da cv. Chardonnay (*Vitis vinifera*) na região sul de Minas Gerais (safra 2017 e 2018)

CL: Clone



4.2.2 Considerações

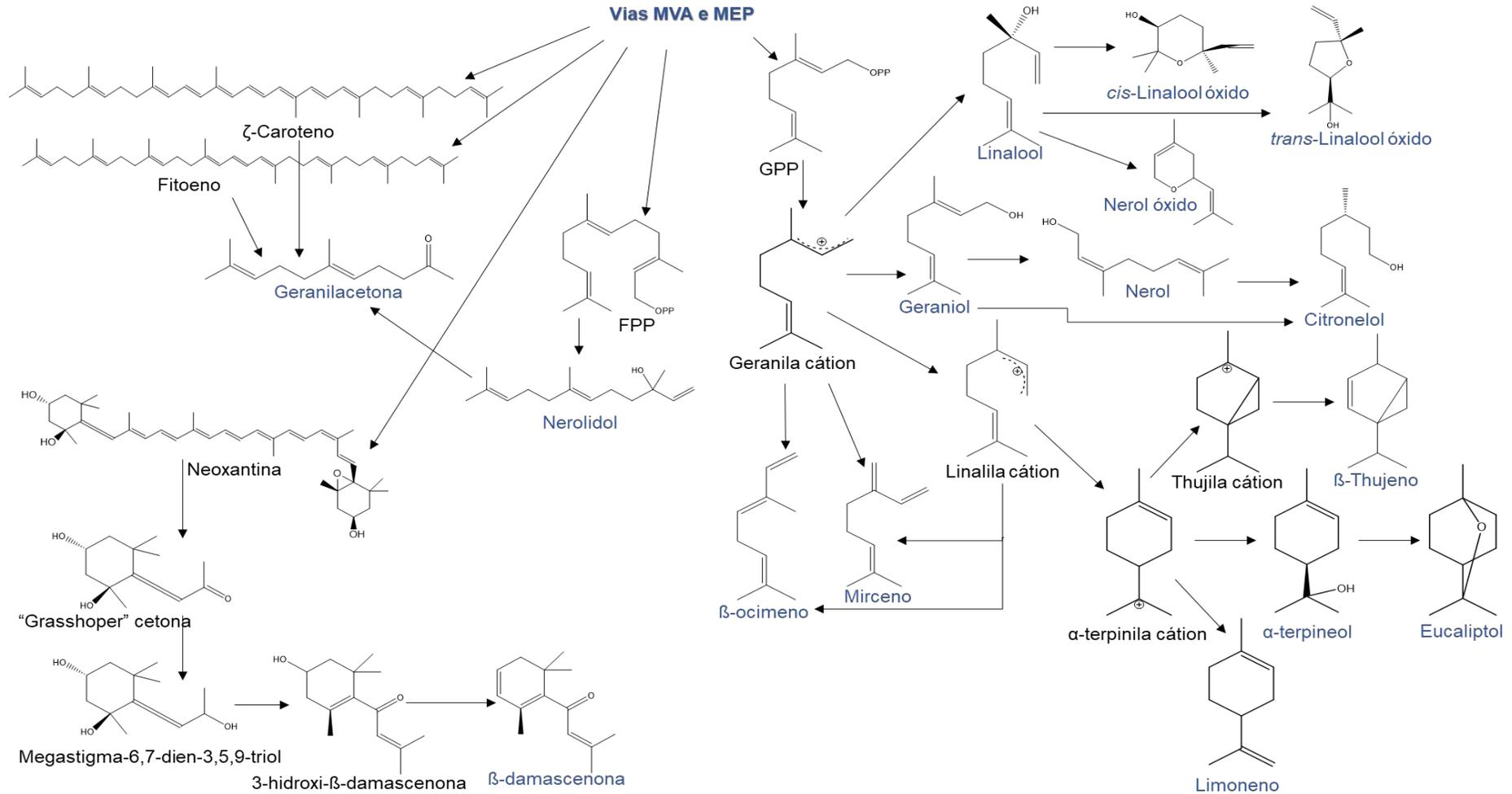
- ❖ A mutação que o clone 809 da cv. Chardonnay apresenta contribui para a biossíntese dos compostos monoterpenoides, conferindo caráter moscato à baga e que se mantém até o espumante.

- ❖ Os compostos monoterpenoides podem ser considerados aromas varietais para o clone 809 da cv. Chardonnay.

- ❖ A análise sensorial contribuiria para confirmar o caráter moscato conferido por esse clone ao espumante e orientaria estudos futuros.

4.2.3 Material Suplementar

Figura 1S. Possíveis rotas biossintéticas dos compostos terpenoides identificados no estudo do clone 809 da cv. Chardonnay da uva ao espumante em vinhedo na Serra da Mantiqueira



Fonte: Adaptado de Luan et al. (2006), Degenhardt, Köllner e Gershenzon (2009), Chen et al. (2011), Zhang et al. (2016), Ilc et al. (2016 a,b) e Lin, Massonnet e Cantu (2019).

4.3 SEÇÃO 3 – Composição volátil dos espumantes da cv. Chardonnay cultivada em diferentes sistemas de condução na Serra da Mantiqueira (Brasil)

4.3.1 Resultados e discussão

A videira permite a manipulação do dossel vegetativo de forma a alterar o microclima na região dos cachos, otimizar a exposição da área foliar e dos cachos à radiação solar, temperatura, vento e umidade, fatores que implicarão na fotossíntese, no rendimento, no metabolismo e na composição da baga (REYNOLDS; HEUVEL, 2009). Xu et al. (2015) reportaram a influência dos sistemas de condução na composição dos ácidos graxos e seus derivados voláteis em uvas e vinhos.

A fim de avaliar as duas etapas de vinificação do espumante da Chardonnay (clone 76) pelo método *Champenoise* e verificar se há a diferença entre as elaborações de um mesmo sistema de condução foram realizadas vinificações em replicata para os sistemas GDC, lira e espaldeira em duas safras de verão consecutivas.

Para a avaliação da composição volátil, utilizou-se como base os compostos descritos no trabalho de Paolini et al. (2018), em que os autores desenvolveram um método capaz de analisar os compostos voláteis mais elucidativos em produtos enológicos (mostos de uva, vinho, vinagre balsâmico e outras bebidas alcólicas). Além dos compostos descritos pelos autores, foram incluídos no presente trabalho outros aromas obtidos do *screening* do vinho base e do espumante que estavam em maior quantidade, que se diferenciavam ou que apresentam impacto sensorial, como sulfitos, tióis e benzenoides.

Assim, de acordo com a abordagem adotada, de 122 variáveis identificadas, nos vinhos obtidos dos diferentes tratamentos, 56 compostos foram considerados para as análises multivariadas dos vinhos base e espumantes nas duas safras (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos voláteis identificados nos vinhos da cv. Chardonnay com os respectivos código de identificação, número CAS, tempo de retenção, índice de retenção Kovats modificado da literatura e o obtido e descritor aromático (análise por HS-SPME/GCMS)

| Classe | Composto | Código | CAS* | Tempo de retenção | IRKm literatura | IRKm obtido | Descritor Aromático |
|------------------|--|----------|----------|-------------------|-----------------|---------------------------------|---|
| Acetatos | Acetato de fenetila # | CD170 | 103-45-7 | 26.6 | 1825 | 1831 | Floral - rosa (1) |
| | Acetato de butila # | CD50 | 123-86-4 | 8.9 | 1075 | 1080 | Fruta - abacaxi (1) |
| | Acetato de hexila # | CD51 | 142-92-7 | 14.6 | 1276 | 1280 | Fruta - maçã, cereja, pera (1) |
| | Acetato de isobutila # | CD142 | 110-19-0 | 7.0 | 1020 | 1021 | Frutado, Floral, Eteral (1) |
| | Acetato de isoamila | CD4 | 123-92-2 | 10.3 | 1125 | 1126 | Frutado - banana, pera (1) Maçã, banana, cola, pera (3) |
| | Acetato de etila | CD69 | 141-78-6 | 3.5 | 885 | 881 | Eteral, conhaque, frutado - abacaxi (1) |
| Ácidos | Ácido butanóico (ácido butírico) # | CD162 | 107-92-6 | 22.8 | 1637 | 1639 | Persistente, rançoso, amanteigado (1) |
| | Ácido hexanóico (ácido capríco) # | CD77 | 142-62-1 | 27.0 | 1857 | 1853 | Rançoso, ácido, pujante, queijo, gorduroso (1) |
| | Ácido decanóico (ácido cáprico) # | CD182 | 334-48-5 | 34.0 | 2281 | 2283 | Gorduroso, odor rançoso (1) |
| | Ácido nonanóico # | CD88 | 112-05-0 | 32.4 | 2169 | 2182 | Gorduroso, queijo, ceroso (1) |
| | Ácido octanóico (ácido caprílico) # | CD90 | 124-07-2 | 30.7 | 2070 | 2069 | Frutado - ácido (1) |
| | Acetic acid | CD49 | 64-19-7 | 19.0 | 1465 | 1459 | Ácido, fruta, pujante, azedo, vinagre (3) |
| Álcoois | 1-Hexanol # | CD7 | 111-27-3 | 16.8 | 1357 | 1364 | Herbáceo, lenhoso, doce, fruta verde (1) Banana, flor, grama, erva (3) |
| | 1-Heptanol # | CD6 | 111-70-6 | 19.2 | 1441 | 1467 | Lenhoso, oleoso, gorduroso (1) |
| | (E)-3-Hexen-1-ol # | CD38 | 928-97-2 | 17.0 | 1366 | 1374 | Gramado, herbáceo (1) |
| | (Z)-3-Hexen-1-ol # | CD39 | NR | NR | 1390 | NR | Gramado, herbáceo, de folhas (1) |
| | Álcool benzílico # | CD55 | 100-51-6 | 27.7 | 1877 | 1896 | Frutado, pujante (1) |
| | Feniletanol # | CD94 | 60-12-8 | 28.3 | 1912 | 1929 | Floral - rosa, amargo, Frutado - pêssego (1) |
| | 2-methyl-1-butanol (Álcool amílico) | CD2 | 137-32-6 | 13.08 | 1197 | 1221 | Torrado, alcoólico (1) |
| | 3-methyl-1-butanol (Álcool isoamílico) | CD3 | 123-51-3 | 13.15 | 1208 | 1223 | Uísque, pujante (1) Queimado, cacau, floral, malte (3). |
| 2-etil-1-hexanol | CD8 | 104-76-7 | 19.9 | 1484 | 1498 | Oleoso, doce, floral - rosa (1) | |
| Aldeídos | Benzaldeído # | CD53 | 100-52-7 | 20.7 | 1508 | 1536 | Amêndoa amarga (1) |
| | Acetaldeído | CD48 | 75-07-0 | 1.7 | 694 | 714 | Floral, maçã verde (3) |
| | Decanal | CD65 | 112-31-2 | 20.1 | 1485 | 1510 | Doce, ceroso, floral, cítrico, gorduroso (1) |
| | Furfural | CD155 | 98-01-1 | 19.3 | 1460 | 1472 | Doce, amadeirado, amêndoa, pão assado (2) |

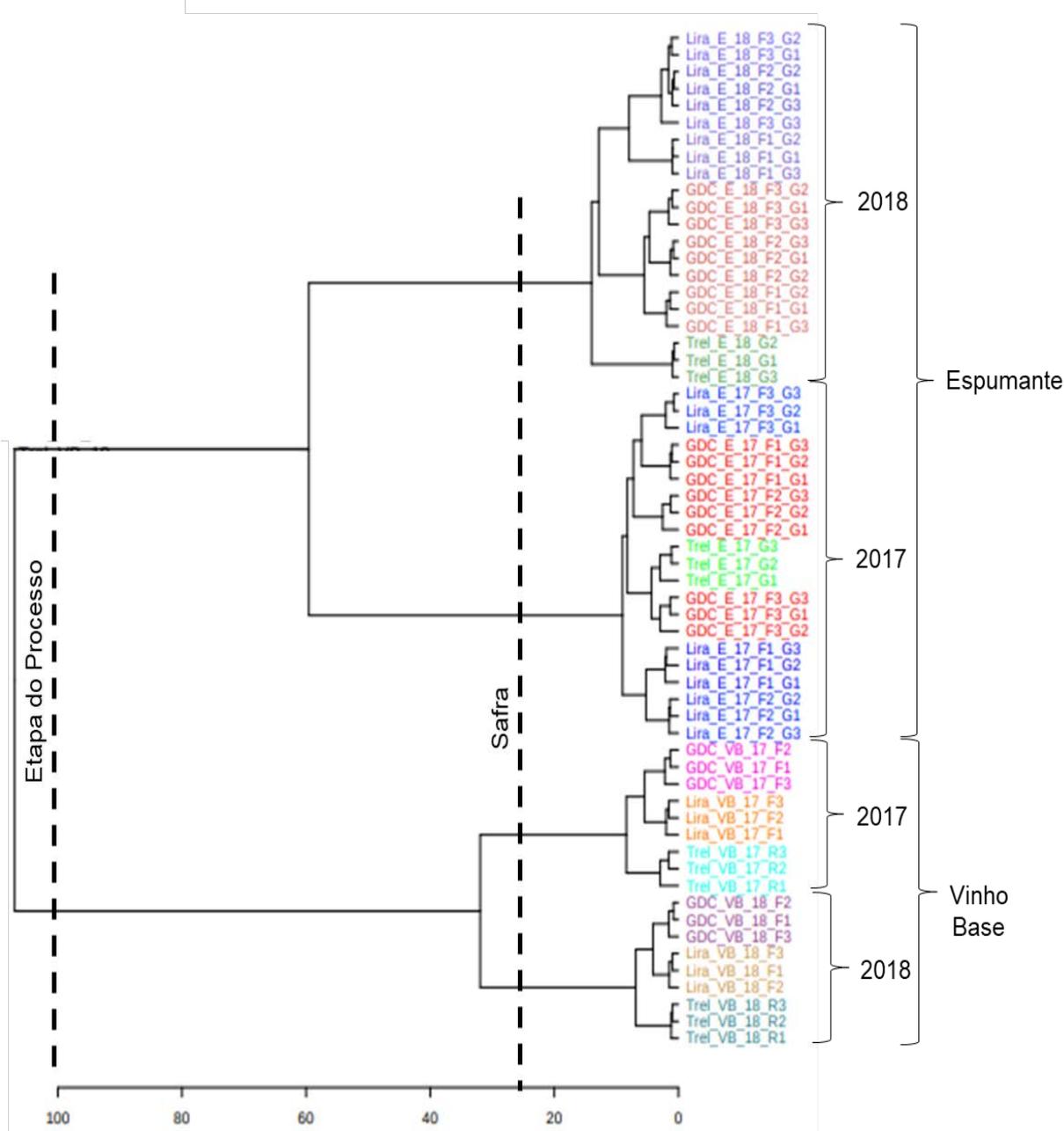
Tabela 1 (continuação).

| Classe | Composto | Código | CAS* | Tempo de retenção | IRKm literatura | IRKm obtido | Descriptor Aromático |
|-------------------------|-----------------------------------|-----------|------------|-------------------|-----------------|----------------------------------|---|
| Ésteres | Succinato de dietila # | CD165 | 123-25-1 | 23.8 | 1687 | 1688 | Fraco, odor agradável (1) |
| | Isovalerato de etila # | CD145 | 108-64-5 | 8.8 | 1082 | 1075 | Frutado, vinoso, assemelha a maçã (1) |
| | Butanoato de etila # | CD140 | 105-54-4 | 7.8 | 1028 | 1045 | Frutado - abacaxi, doce (1) |
| | Decanoato de etila # | CD163 | 110-38-3 | 23.0 | 1633 | 1649 | Frutado - uva, oleoso, conhaque (1) |
| | Dodecanoato de etila # | CD192 | 106-33-2 | 27.0 | 1840 | 1855 | Floral, frutado (1) |
| | Heptanoato de etila # | CD148 | 106-30-9 | 16.2 | 1328 | 1342 | Frutado, conhaque (1) |
| | Hexanoato de etila # | CD79 | 123-66-0 | 13.7 | 1223 | 1246 | Frutado - abacaxi, banana (1) |
| | Salicilato de metila # | CD85 | NR | NR | 1755 | NR | Menta, Picante, tipo <i>wintergreen</i> (1) |
| | Octanoato de etila # | CD153 | 106-32-1 | 18.9 | 1428 | 1454 | Frutado - damasco, floral (1) |
| | Lactato de etila # | CD149 | 97-64-3 | 16.5 | 1340 | 1353 | Doce, frutado (4) |
| | Isobutirato de etila # | CD139 | 97-62-1 | 5.6 | 975 | 971 | Frutado (1) |
| Cetonas | 2-Heptanona | CD202 | 110-43-0 | 12.1 | 1184 | 1188 | Frutado, condimentado (1) |
| | 2-Nonanona | CD152 | 821-55-6 | 17.6 | 1387 | 1397 | Odor de "rua" (1) |
| | 2-Undecanona | CD160 | 112-12-9 | 22.2 | 1599 | 1608 | Arruda (1) |
| C-13 Noris | β-damascenona # | CD175 | 23726-93-4 | 26.7 | 1834 | 1846 | Frutado (2) |
| Monoterpenoides | Citronelol # | CD64 | 106-22-9 | 25.1 | 1782 | 1754 | Floral - rosa (1) |
| | Ácido gerânico # | CD73 | NR | NR | 2347 | NR | Floral - verde, gerânio, lenhoso, cítrico laranja (1) |
| | Geraniol # | CD74 | NR | NR | 1847 | NR | Floral - rosa (1) |
| | Linalool # | CD83 | 78-70-6 | 21.1 | 1552 | 1559 | Floral (1) |
| | Nerol # | CD21 | NR | NR | 1781 | NR | Fresco, tipo rosa, amargo (1) Floral, Frutado (3) |
| | trans-Linalool oxide (furanoid) # | CD100 | NR | NR | 1484 | NR | NR |
| | α-Terpineol # | CD102 | 98-55-5 | 24.3 | 1680 | 1712 | Tipo pinheiro, amadeirado, resinoso (1) |
| | Acetato de geranila | CD234 | 105-87-3 | 25.4 | 1755 | 1768 | Floral - rosa lavanda (1) |
| Geranilacetona | CD46 | 3796-70-1 | 27.2 | 1862 | 1867 | Verde, floral - rosa, fresco (1) | |
| Fenóis Voláteis | Fenol | CD93 | 108-95-2 | 29.8 | 2008 | 2018 | Forte, adocicado (1) |
| Tióis/Sulfetos Voláteis | Dimetilsulfeto | CD66 | 75-18-3 | 1.9 | 777 | 747 | Rábano silvestre, tipo couve/repolho (1) |
| | Dióxido de enxofre | CD141 | 2025884 | 3.0 | 882 | 857 | Pujante, penetrante (1) |
| | Benzotiazol # | CD198 | NR | NR | 1965 | NR | Tipo rosa (1) |
| | Metionol # | CD191 | 505-10-2 | 24.7 | 1715 | 1737 | Doce, caldo, tipo carne (1) |
| | 2-Metiltetrahidrotiofeno-3-ona | CD188 | 13679-85-1 | 20.9 | 1518 | 1547 | Sulfuroso (2) |
| | 3-Metiltiopropanoato de etila | CD244 | 13327-56-5 | 21.6 | 1571 | 1579 | Sulfuroso (2) |

CAS* - Número de registro do composto no *Chemical Abstract Service* (CAS); #: Composto determinado por Paolini et al. (2018); IR Kovats mod – Índice de Retenção Kovats modificado menor que 50; NR – Não Reportado; C-13 Noris: C13-Norisoprenoides; (1) Descrito em Burdock (2010); (2) Descrito no site Good Scents; (3) Descrito em Flavor Ingredient Library ; e, (4) Descrito em Cacho (2017).

Na análise de agrupamentos, representada pelo dendograma (Figura 1), através do algoritmo de Ward e pela distância Euclideana, é possível avaliar os agrupamentos das etapas do processo para as duas safras (vinho base vs espumante), e o segundo agrupamento é a divisão das safras para ambas as etapas de elaboração (2017 vs 2018).

Figura 1. Dendograma dos vinhos base (VB) e espumantes (E) da cv. Chardonnay (clone 76) conduzida em espaldeira (Trel), GDC e lira nas safras de 2017 e 2018 na Serra da Mantiqueira
F: replicata de fermentação, G: replicata de garrafa



Avaliando os vinhos base, eles se agrupam por sistema de condução, podendo indicar que há homogeneidade no perfil volátil para as replicatas de fermentações de cada sistema de condução e em cada safra. A primeira fermentação do sistema espaladeira se separa dos sistemas lira e GDC nas duas safras.

Quando se analisa quais variáveis separaram o vinho base (primeira fermentação) do espumante (segunda fermentação), os seguintes voláteis tiveram maior significância (teste de Fisher, $F > 150$) e estão relacionados ao vinho base, em ordem decrescente: CD64 (Citronelol), CD188 (2-Metiltetrahidrotiofeno-3-ona), CD4 (Acetato de isoamila), CD51 (Acetato de hexila) e CD170 (Acetato de fenetila).

O citronelol, além de ser biossintetizado pela baga, pode ser formado durante a fermentação pela reação de redução do geraniol (precursor) pela enzima álcool desidrogenase presente nas leveduras (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

Com relação ao 2-Metiltetrahidrotiofeno-3-ona, ele é um composto com odor sulfuroso, descrito como S-heterocíclico, e geralmente é relatado como um produto da fermentação que impacta negativamente o aroma do vinho, frequentemente ligado à produção de H_2S pela levedura para a incorporação em aminoácidos contendo enxofre (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016). Os fatores que podem impactar a formação de compostos sulfurosos durante a fermentação incluem as condições de fermentação, disponibilidade de nutrientes e cepa da levedura. O 2-Metiltetrahidrotiofeno-3-ona foi reportado em estudos anteriores por Welke et al. (2012) em vinhos tintos, porém sem impacto significativo no aroma. No entanto, como o vinho base é uma etapa intermediária, esse composto pode ser metabolizado durante a segunda fermentação, de acordo com os nutrientes adicionados, níveis de açúcares, leveduras e as condições de autólise e envelhecimento sobre as borras.

Os vinhos base também foram discriminados pelos acetatos, principalmente pelo acetato de isoamila, que apareceu em maior quantidade no vinho base (Figura 1S - material suplementar). A sua formação provavelmente é decorrente da presença do aminoácido leucina, precursor para a formação de álcool isoamílico (3-metil-1-butanol), que posteriormente será esterificado a acetato de isoamila através da ação das enzimas acetiltransferases (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016).

Os cromatogramas representativos dos íons totais (*Total ion chromatogram - TIC*) de uma amostra do vinho base e uma do espumante (Figura 1S, A e B, respectivamente) mostram algumas diferenças entre as duas matrizes, com destaque para os ésteres octanoato de etila e hexanoato de etila, ácidos graxos e acetatos,

assim como a presença de determinados compostos em uma matriz e não em outra, como o succinato de dietila nos espumantes.

A análise multivariada foi realizada com os dados normalizados (área do composto/área do padrão interno).

Pela análise da distância Euclideana (Figura 1), os espumantes se diferenciaram significativamente pelas safras; dessa forma para prosseguir com as análises e para que composição volátil dos vinhos espumantes não fosse mascarada, as safras foram analisadas separadamente para essa matriz. Foram identificados 39 compostos em cada safra, sendo 12 variáveis significativas em 2017, e 25 em 2018. A Tabela 2 ilustra os dados das análises das variáveis significativas pelo teste de Fisher ($p < 0,05$) para as duas safras.

Tabela 2. Resultados dos testes de Fisher para mensurar as variáveis significativas para as safras 2017 e 2018 dos espumantes da cv. Chardonnay produzidos a partir de plantas conduzidas nos sistemas espaladeira, lira e GDC

| Espumantes – Safra 2017 | | |
|-------------------------------------|---------|---------|
| Variáveis significativas (p < 0.05) | F value | p value |
| CD38 | 119.19 | 0.000 |
| CD141 | 89.645 | 0.000 |
| CD65 | 52.416 | 0.000 |
| CD64 | 45.183 | 0.000 |
| CD202 | 39.095 | 0.000 |
| CD244 | 37.734 | 0.000 |
| CD88 | 27.143 | 0.000 |
| CD162 | 25.998 | 0.000 |
| CD191 | 19.061 | 0.000 |
| CD8 | 13.758 | 0.000 |
| CD102 | 11.873 | 0.000 |
| CD175 | 4.667 | 0.008 |

| Espumantes – Safra 2018 | | |
|-------------------------------------|---------|---------|
| Variáveis significativas (p < 0.05) | F value | p value |
| CD152 | 320.37 | 0.000 |
| CD8 | 141.97 | 0.000 |
| CD244 | 128.46 | 0.000 |
| CD88 | 111.09 | 0.000 |
| CD93 | 104.63 | 0.000 |
| CD65 | 102.6 | 0.000 |
| CD38 | 90.379 | 0.000 |
| CD51 | 77.418 | 0.000 |
| CD2 | 73.937 | 0.000 |
| CD7 | 35.458 | 0.000 |
| CD46 | 22.958 | 0.000 |
| CD145 | 13.202 | 0.000 |
| CD202 | 12.126 | 0.000 |
| CD160 | 11.98 | 0.000 |
| CD141 | 11.903 | 0.000 |
| CD149 | 7.9123 | 0.001 |
| CD139 | 6.9905 | 0.001 |
| CD3 | 6.4153 | 0.002 |
| CD170 | 5.5395 | 0.004 |
| CD94 | 5.4859 | 0.004 |
| CD102 | 5.1573 | 0.005 |
| CD175 | 5.0319 | 0.006 |
| CD162 | 4.2535 | 0.012 |
| CD165 | 4.1042 | 0.014 |
| CD69 | 3.9429 | 0.016 |

Para as duas safras, na análise de componentes principais (Figuras 2A e 3A), o primeiro componente discrimina os espumantes pelo sistema de condução adotado (PC1 – 34% em 2017 e 35,6% em 2018) e o segundo, pela primeira vinificação (PC2 – 25,1% em 2017 e 26,3% em 2018).

Figura 2. Gráficos de componentes principais e de agrupamentos (*heatmap*) do perfil volátil das fermentações da cv. Chardonnay (clone 76) em três sistemas de condução (espaldeira, lira e GDC) na Serra da Mantiqueira, MG (safra 2017) – Análise das variáveis significativas

As cores variam de vermelho mais intenso até azul mais intenso, indicando alto nível do composto até o mais baixo nível. (Trellis: espaldeira; E: espumante; F: fermentação)

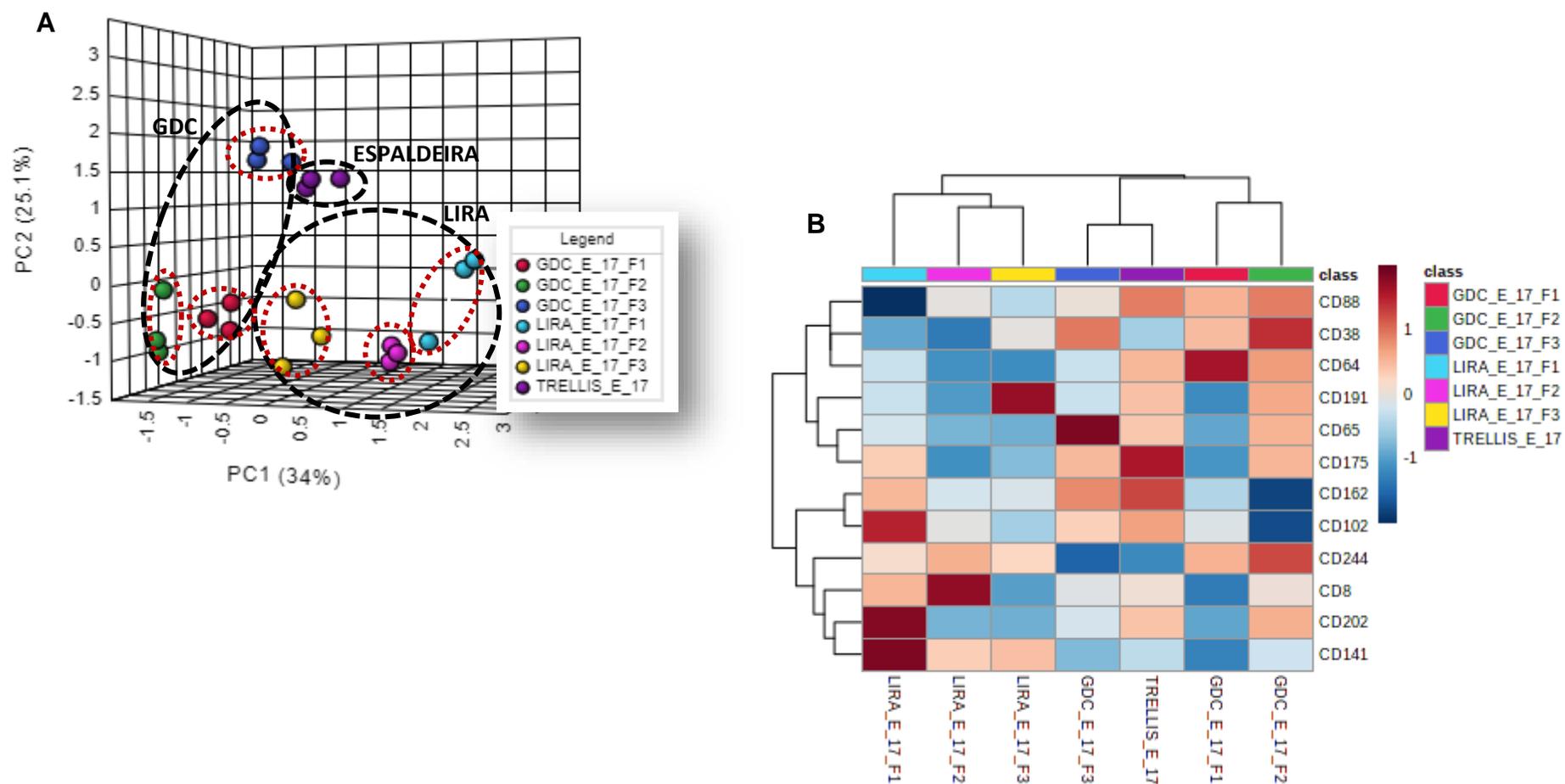
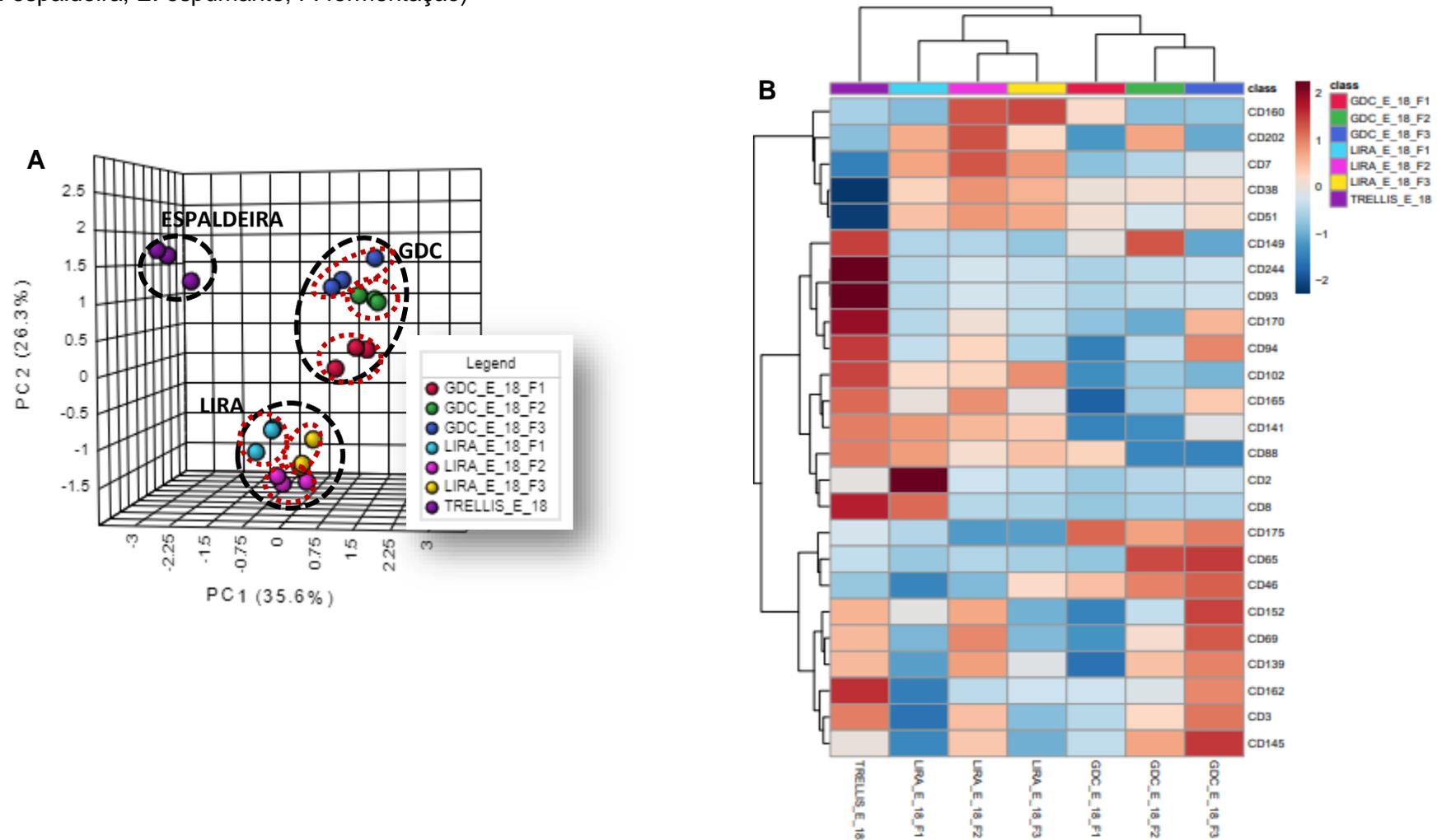


Figura 3. Gráficos de componentes principais e de agrupamentos (*heatmap*) do perfil volátil das fermentações da cv. Chardonnay (clone 76) em três sistemas de condução (espaldeira, lira e GDC) na Serra da Mantiqueira, MG (safra 2018) – Análise das variáveis significativas

As cores variam de vermelho mais intenso até azul mais intenso, indicando alto nível do composto até o mais baixo nível. (Trellis: espaldeira; E: espumante; F: fermentação)



Com relação à discriminação do espumante pelos sistemas de condução adotados, de acordo com Pérez-Magariño e colaboradores (2015), o microclima que se estabelece na videira devido às organizações das brotações e dos ramos ao longo do ciclo influenciam a fisiologia da planta e a composição da baga e, conseqüentemente, impacta a composição e qualidade do vinho. Este fato também foi relatado por Jones et al. (2014), em cujo estudo avaliaram parâmetros da viticultura para a produção de espumantes.

Song et al. (2015) descrevem que as práticas de manipulação do dossel vegetativo podem alterar o microclima do dossel das videiras, afetando a temperatura da planta, fotossíntese, atividade metabólica e a resistência a doenças. Alguns desses parâmetros foram citados recentemente por van Leeuwen et al. (2020) e como cada fator isoladamente influenciava certas classes de compostos voláteis.

Os nutrientes presentes nas bagas e que estão no mosto (açúcares, lipídeos, aminoácidos e ácidos) influenciam a fermentação, pois afetam o crescimento da levedura e a velocidade da fermentação (UGLIANO; HENSCHKE, 2009), podendo modular o acúmulo de determinados compostos voláteis em detrimento de outros no espumante, obtendo-se, assim, perfis voláteis diferentes para cada sistema de condução.

Para avaliar quais compostos foram responsáveis por diferenciar cada fermentação do vinho base dos sistemas de condução, realizou-se a análise de agrupamento *heatmap* com as variáveis significativas que estão determinadas na Tabela 2. A Tabela 3 resume o resultado, identificando as safras, os sistemas de condução, as fermentações e os compostos que mais contribuíram para cada tratamento.

Nos gráficos de *heatmaps* para as safras 2017 e 2018 (Figuras 2B e 3B, respectivamente), verifica-se que os espumantes estão agrupados pelos sistemas de condução e posteriormente pela primeira fermentação, exceto a terceira vinificação do sistema GDC em 2017, que ficou na chave maior com a espaladeira por apresentar uma quantidade um pouco maior dos composto CD 162 (Ácido butanóico) e 102 (α -Terpineol) e menor quantidade do CD 244 (3-Metiltiopropanoato de etila), porém diferenciando-se desse sistema por outros compostos.

Tabela 3. Compostos aromáticos que diferenciaram as vinificações dos sistemas de condução espaladeira, lira e GDC nas safras 2017 e 2018 dos espumantes da cv. Chardonnay (clone 76) na Serra da Mantiqueira (Brasil)

| Sistema de condução | Fermentação | SAFRAS | |
|---------------------|-------------|--|---|
| | | 2017 | 2018 |
| Espaladeira | 1 | β -damascenona (#175) ácido butanóico (#162) | fenol (#93) 3-metilpropanoato de etila (#244) acetato de fenetila (#170) 2-etil-1-hexanol (#8) |
| | | | |
| Lira | 1 | dióxido de enxofre (#141) 2-heptanona (#202) | 2-metil-1-butanol (#2) |
| | 2 | 2-etil-1-hexanol (#8) | 2-undecanona (#160) 2-heptanona (#202) 1-hexanol (#7) |
| | 3 | metionol (#191) | 2-undecanona (#160) |
| GDC | 1 | citronelol (#64) | β -damascenona (#175) |
| | 2 | 3-hexen-1-ol (E)- (#38) 3-metilpropanoato de etila (#244) | decanal (#65) lactato de etila (#149) |
| | 3 | decanal (#65) | decanal (#65) isovalerato de etila (#145) 2-nonanona (#152) |

Observou-se que o sistema de condução GDC apresentou como variáveis que o distinguem nas duas safras, em pelo menos em uma das vinificações, os compostos decanal e compostos terpenoides citronelol e β -damascenona. Os compostos terpenoides podem contribuir para o espumante com aromas frutados e florais, considerados positivos para o *bouquet* do vinho, e são compostos biossintetizados pelas bagas, sofrendo pouca ou nenhuma interferência durante a fermentação (hidrólise dos compostos glicosilados, reduções, entre outros). Adicionalmente, o composto norisoprenoide β -damascenona, que é formado a partir da neoxantina, é capaz de alterar a percepção ao aroma de outros compostos (WELKE et al., 2014b). O decanal pode ser formado pela oxidação não enzimática do seu álcool análogo (DE

SMIDT; DU PREEZ; ALBERTYN, 2008) e apresenta baixo limiar odorífero de 0,1 a 6 ppb, podendo aportar aroma doce, floral, cítrico, gorduroso (BURDOCK, 2010). Na safra 2018, ésteres de etila (lactato de etila e isovalerato de etila) apresentaram significância em duas vinificações: são ésteres que apresentam aromas doce e frutado (BURDOCK, 2010; CACHO, 2017). Esses ésteres foram identificados em espumantes que passaram 14 meses em “*sur lie*” (TORRENS et al., 2010), e sua presença foi atribuída ao tempo de contato com as borras, pois, durante o processo, ocorrem reações e a liberação de ácidos graxos e derivados com alta atividade odorífera (WELKE et al., 2014ab).

Os espumantes elaborados com bagas do sistema de condução Lira se diferenciaram por cetonas em duas fermentações na safra 2018 e em uma fermentação na safra 2017. São cetonas com baixo limiar olfativo, 2-undecanona de 7 a 82 ppb e 2-heptanona de 1 ppb a 1,33 ppm, entretanto podem aportar aromas considerados negativos e positivos, respectivamente: a 2-undecanona com odor de arruda e a 2-heptanona com aroma frutado, condimentado (BURDOCK, 2010).

Outro ponto avaliado para o sistema em Lira é a diferenciação da fermentação 1 pelo composto 2-metil-1-butanol em 2018, composto formado a partir do intermediário α -ceto-ácido produzido na biossíntese e catabolismo de aminoácidos (UGLIANO; HENSCHKE, 2009), esse álcool está estruturalmente relacionado ao aminoácido isoleucina. Waterhouse, Sacks e Jeffery (2016) descrevem fatores que aumentam a produção desses álcoois durante a fermentação, citando, por exemplo, quantidade de nitrogênio assimilável pela levedura ou de outros nutrientes, composição e clarificação do mosto/vinho base, temperatura de fermentação, entre outros. Antonelli et al. (1999) afirmam que a escolha da espécie da cepa de levedura influencia a formação dos álcoois, e que a cepa de *Saccharomyces bayanus*, que é criotolerante, produz maior quantidade de álcoois superiores do que a *Saccharomyces cerevisiae*. Trabalhos que correlacionam o perfil volátil dos vinhos brancos com a análise sensorial sugerem que, para vinhos da cv. Chardonnay, os álcoois superiores 2-metilpropanol, 2-metilbutanol e 3-metilbutanol foram importantes para o perfil aromático, com destaque para o 2-metilbutanol considerado importante para o perfil volátil da cv. Chardonnay, com nota de tostado e alcóolico (BURDOCK, 2010).

O sistema em Espaladeira, sistema de condução mais difundido na região, apresentou compostos voláteis semelhantes ao do sistema GDC em 2017, contudo em 2018, se separou dos demais sistemas (Figuras 3A e 3B). Ele se separou por

compostos que podem contribuir para o espumante com aromas florais e frutados, como β -damascenona, 2-etil-1-hexanol e acetato de fenetila.

Outros compostos que foram responsáveis por discernir os sistemas e foram identificados em mais de um sistema de condução e nas duas safras são os compostos contendo enxofre, como o metionol, relacionado ao aminoácido metionina (HERNÁNDEZ-ORTE; CACHO; FERREIRA, 2002) e o éster 3-(metiltio)propanoato de etila (condensação do ácido 3-(metiltio)propiónico com o etanol). O ácido 3-(metiotio)propiónico também é formado a partir do aminoácido metionina, pois, ocorrendo a formação do metional, ele poderá ser reduzido a metionol ou ser enzimaticamente oxidado e formar o ácido carboxílico, que pode ser esterificado. Segundo Zamora (2009) a falta de nitrogênio assimilável pela levedura faz com que ela mobilize aminoácidos, incluindo os sulfurados (cisteína e metionina) e libere sulfetos e mercaptanos ao meio. Esta é uma possível explicação para a formação desses compostos nos espumantes analisados, provavelmente devido ao tempo de envelhecimento em “*sur lie*” (18 meses), o que pode afetar a disponibilidade de nutrientes (nitrogênio, aminoácidos). No entanto, são compostos que podem trazer características olfativas negativas, como aroma de batata cozida (metionol; Waterhouse, Sacks e Jeffery, 2016) e sulfuroso metálico (3-(metiltio)propanoato de etila; GoodScents).

Notou-se que os sistemas de condução e as vinificações se diferenciaram por compostos que estão em menor concentração nos espumantes, entretanto que apresentam impacto aromático devido ao baixo limiar odorífero de compostos que contém enxofre, álcool de monoterpeneo (citronelol), ou que são importantes para o perfil aromático de vinhos da cv. Chardonnay (2-metilbutanol), ou que alteram a percepção de outros compostos (β -damascenona, como relatado por WELKE et al. (2014b)).

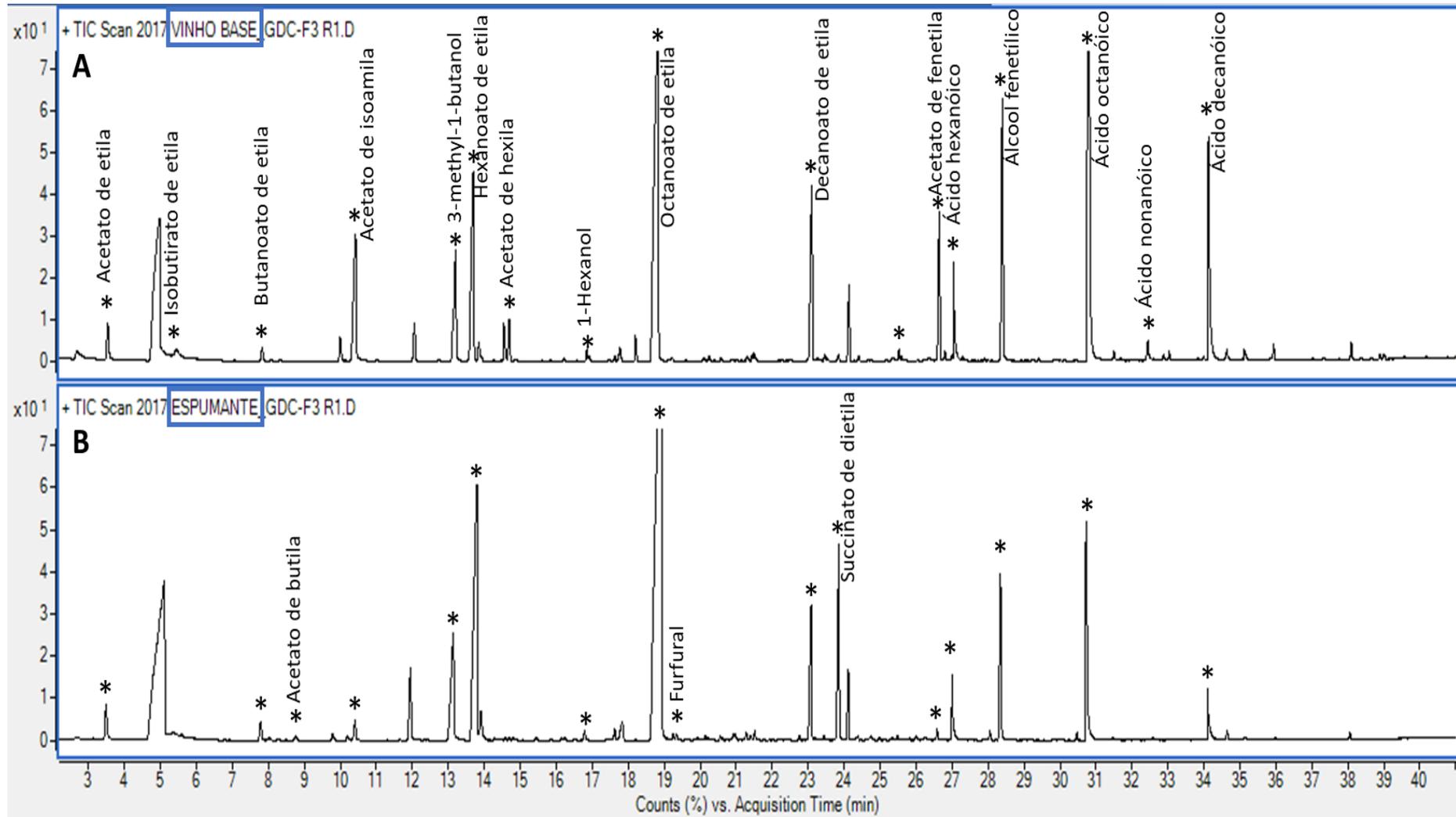
Os compostos citados acima e que foram considerados significativos para a discriminação dos sistemas de condução e vinificações foram reportados por outros autores em estudos com espumantes Trentodoc e Franciacorta na Itália (CARLIN et al., 2016), vinhos e espumantes da cv. Chardonnay produzidos na serra gaúcha (sul do Brasil) (WELKE et al., 2014ab).

4.3.2 Considerações

- ❖ Com o modelo proposto foi possível distinguir os vinhos base e espumantes para as duas safras de acordo com os sistemas de condução adotados.
- ❖ Os sistemas de condução influenciam o perfil aromático dos espumantes.
- ❖ Baseado na abordagem realizada foi possível diferenciar os sistemas de condução pela composição volátil, além das vinificações de cada sistema. Assim, esses compostos podem ser utilizados para a avaliação de vinhos base e espumantes também como forma de controlar a elaboração e verificar melhorias no campo e/ou na vinícola.

4.3.3 Material Suplementar

Figura 1S. Cromatogramas representativos do TIC para uma amostra de vinho base e uma amostra de espumante (amostras de uma das vinificações do sistema GDC na safra 2017)



4.4 SEÇÃO 4 – Evolução dos aromas durante a elaboração e influência da densidade de plantio no perfil volátil de vinhos espumantes do sudeste brasileiro

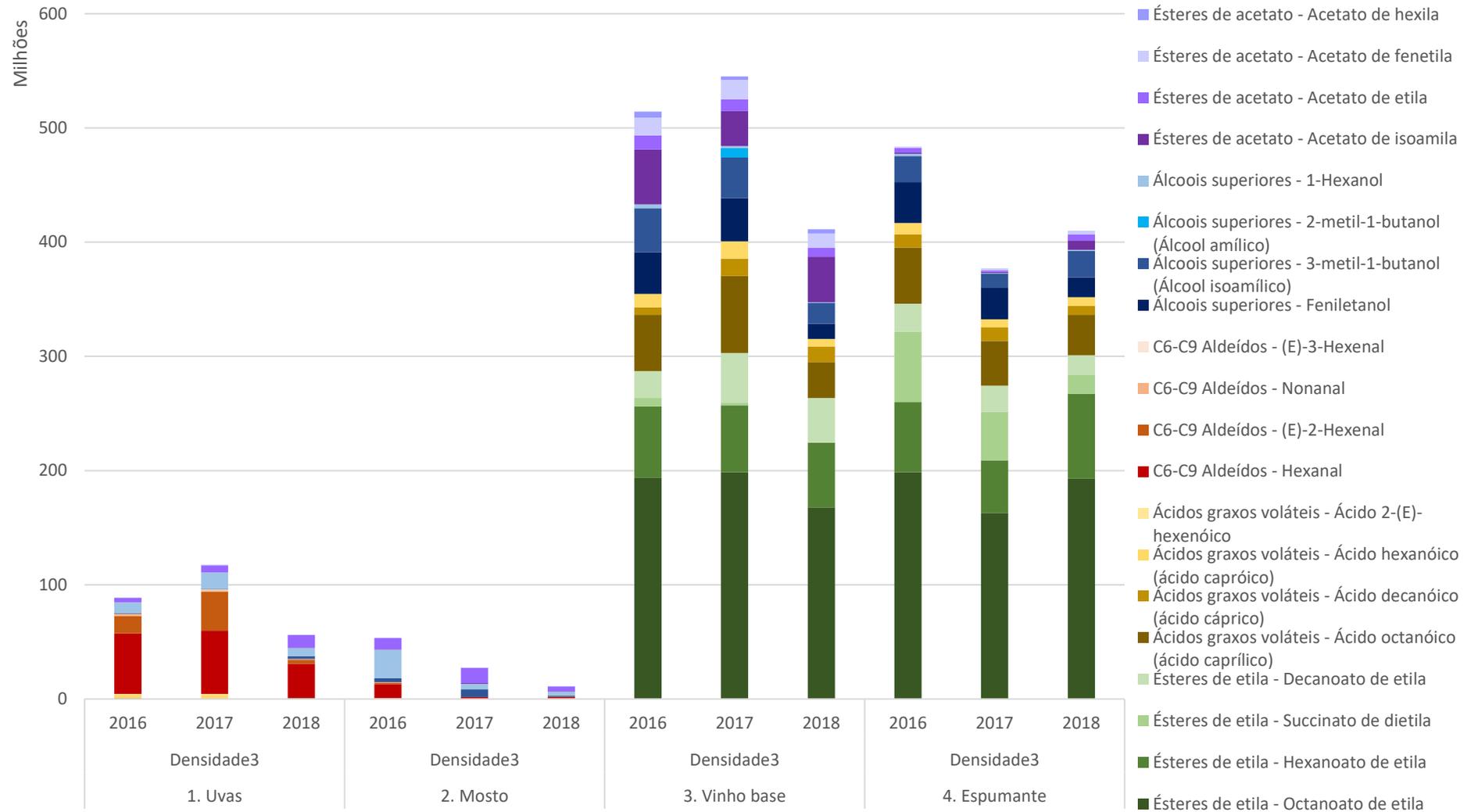
4.4.1 Resultados e discussão

Os compostos voláteis avaliados nas amostras geradas no experimento de densidade de plantio foram detectados e confirmados por HS-SPME/GC-MS, índice de retenção Kovats modificado e descrição na literatura (BURDOCK, 2010; site GoodScents). Dessa forma, foram identificados 187 compostos em todas as matrizes, sendo 84, 75, 111 e 89, respectivamente, nas bagas, mosto, vinho base e vinho espumante nas cinco densidades de plantio estudadas e em três safras de verão consecutivas (2016, 2017 e 2018).

Na Tabela 1S (material suplementar) estão relacionados os compostos identificados nas matrizes e separados em classes de acordo com a estrutura química, biossíntese e metabolismo da levedura. Os compostos foram divididos nas seguintes classes voláteis: sulfurosos, sulfetos, ácidos graxos voláteis, norisoprenoides, monoterpenoides, álcoois superiores, sesquiterpenoides, glicerol, furanoides, ésteres etílicos, etanol, C6-C9 aldeídos, carbonilas (aldeídos, cetonas e lactonas), ésteres ramificados, benzenoides, ésteres de acetatos e outros ésteres (SWIGERS et al., 2005; SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008; UGLIANO; HENSCHKE, 2009; ILC et al., 2016a).

Para avaliar o perfil de formação e a evolução dos compostos durante o processamento, da baga ao vinho espumante, utilizou-se como modelo a densidade de plantio D3 (4000 plantas ha⁻¹), que é a mais difundida na região sul de Minas Gerais. A Figura 1 ilustra as médias das áreas das classes de compostos para cada etapa nas três safras. A Figura 2 detalha os compostos mais concentrados das cinco classes que apresentam maior diferença nas etapas do processo.

Figura 2. Média das áreas dos compostos que apresentam maior área da baga ao espumante da cv. Chardonnay (clone 76) conduzida em espaldeira na densidade de 4000 plantas ha⁻¹, em Caldas (MG), nas safras 2016, 2017 e 2018



Observa-se que é menor a quantidade de compostos voláteis livres nas bagas e no mosto, onde se tem mais aromas primários, quando comparado ao vinho base e espumante, onde a concentração dos compostos aumenta e o perfil modifica, com a revelação de aromas secundários e terciários durante a vinificação e envelhecimento, respectivamente. Nas bagas e no mosto, os compostos estão nas formas glicosilada e/ou conjugada (ILC., 2016a), e as glicosidases presentes na baga não têm atividade suficiente para liberar compostos livres em quantidades significativas (MATEO; JIMÉNEZ, 2000). Ugliano e Henschke (2009) afirmam que as leveduras têm um importante papel na biossíntese e transformação dos nutrientes (principalmente os açúcares disponíveis, glicose e frutose), precursores e não precursores de aromas, contribuindo de forma significativa para o aumento dos compostos voláteis durante a fermentação. Mateo e Jiménez (2000) complementam que principalmente as cepas de *Saccharomyces cerevisiae* possuem capacidade para hidrolisar ligações glicosídicas de diferentes açúcares. A fermentação é a maior fonte de compostos aromáticos do vinho envolvendo uma grande variedade de passos e vias enzimáticas (PINAR et al., 2017), por isso observa-se essa diferença de áreas de compostos entre bagas/mostos e vinhos base/espumante.

Sendo a Chardonnay uma uva considerada neutra (classificação baseada no conteúdo de monoterpenos; MATEO; JIMÉNEZ, 2000), os principais compostos são os aldeídos e álcoois produzidos através da via da lipoxigenase (CHRISTENSEN; EDELENBOS; KREUTZMANN, 2007) com a formação majoritariamente de compostos C6 aldeídos e álcoois (Figuras 1 e 2). Esses produtos da lipoxigenase estão relacionados à defesa da planta (estresse biótico e abiótico, como doenças e injúria mecânica) (LIN; MASSONNET; CANTU, 2019). Adicionalmente, Pott, Osorio e Vallarino (2019) descreveram que, em plantas, a lipoxigenase está envolvida em outros processos além da defesa, como a germinação da semente e amadurecimento do fruto. A maior quantidade dos compostos aldeídos C6-C9 nas bagas na safra de 2016 pode ser reflexo da chuva de granizo durante o crescimento das bagas, o que pode ter ocasionado um aumento da taxa respiratória para promover a cicatrização, acarretando na alteração do metabolismo da planta. Embora esses compostos tenham aroma herbáceo, vegetal, folhoso e não sejam agradáveis (WATERHOUS; SACKS; JEFFERY, 2016; LIN; MASSONNET; CANTU, 2019), eles participam do desenvolvimento de outros compostos durante a fermentação, sendo inexpressivos ou não identificados no vinho base e no espumante

(Figura 1). De acordo com Dennis et al. (2012), a principal rota para a decomposição de compostos carbonílicos como C6-aldeídos durante a fermentação é a redução para seus respectivos álcoois, a esterificação aos seus respectivos ésteres de acetato, volatilização e, podendo ocorrer parcialmente, a oxidação para ácido graxo.

Na safra 2018, observou-se menor formação de alguns compostos, principalmente (*E*)-2-Hexenal (Figura 2), o que pode ser atribuído à disponibilidade do substrato (ácido linolênico) e/ou da enzima que atua nesse substrato. Vários pesquisadores demonstraram que as condições do ambiente, como luz, temperatura, pluviosidade e amplitude térmica são capazes de modular a emissão dos compostos chamados “GLVs (*green leaf volatiles*), os voláteis com aroma herbáceo (XU et al., 2015). Assim, a baixa abundância desses compostos e dos seus derivados (álcoois, ésteres) tanto na baga quanto no mosto na safra 2018 é um ponto de atenção e deve ser investigado.

Com relação aos ésteres nas bagas e mosto, observa-se o acetato de etila em todas as safras (Figuras 1 e 2), um potencial indicativo da influência das leveduras autóctones, de cepas não-*Saccharomyces*, visto que estas cepas produzem mais acetato, principalmente o acetato de etila, do que as cepas *Sacchromyces* (SWIEGERS et al., 2009). Entretanto, para uma afirmação mais assertiva, seria necessária uma análise da microbiota presente no vinhedo.

Também é possível observar o aumento dos ésteres etílicos e a redução dos acetatos no espumante (Figuras 1 e 2). A formação de ésteres etílicos ocorre principalmente por via enzimática, com a reação entre etanol e ácido graxo, à medida que se tem a liberação dos ácidos graxos de cadeia média pela levedura. Para a formação dos ésteres etílicos, a reação é principalmente dependente da concentração de ácidos graxos (ILC et al., 2016) e da cepa das leveduras que variam enormemente entre e dentro da mesma espécie na habilidade em produzir ésteres e, conseqüentemente, o aroma final (UGLIANO; HENSCHKE, 2009).

A diminuição dos ésteres de acetato pode ser explicada por alguns fatores: o emprego de cepas com alta atividade de esterase, condições de fermentação, temperatura e volatilização entre as etapas e durante o armazenamento (WATERHOUSE; SACKS; JEFFERY, 2016). Torrens et al. (2010) avaliaram os compostos voláteis no vinho base e no espumante Cava e descreveram a redução dos ésteres de acetato até que não fossem mais detectados durante o armazenamento. Isto corrobora os dados descritos na literatura, indicando que tais

compostos podem ser usados como marcadores de envelhecimento e, conseqüentemente, a perda entre o vinho base e o Cava de descritores aromáticos frescos e frutados.

Outro éster que está em maior abundância no espumante é o succinato de dietila, esterificação do ácido succínico, que pode ter um aumento durante a segunda fermentação (HIDALGO et al., 2004) e sua concentração e de outros ésteres está ligada à qualidade do vinho espumante (POZO-BAZÓN et al., 2003). De acordo com Alexandre e Guilloux-Benatier (2006), esse composto pode ser utilizado como marcador de envelhecimento do espumante, e, segundo eles, o perfil do vinho base não permite prever as propriedades sensoriais dos vinhos espumantes após 18 meses de envelhecimento sobre as borras devido às diversas reações que são estabelecidas. Conforme reportado por Peinado et al. (2004), esse composto apresenta odor frutado e limiar de odor de 1200 µg L⁻¹.

Nos resultados, foram observadas como principais classes nos espumantes, os ésteres de etila, como o octanoato de etila e hexanoato de etila, e os ácidos graxos e álcoois superiores. Os compostos formados pelos ésteres de etila e álcoois superiores assemelham-se a uma nota agradável, pujante, floral, frutada de damasco e abacaxi-banana (BURDOCK, 2010), maçã-verde, conhaque, pera (PEINADO et al., 2004).

Outros pontos importantes na qualidade sensorial dos espumantes são a formação, persistência e estabilidade da espuma, que se devem grandemente à autólise das leveduras e à liberação de alguns compostos que intervêm de forma positiva, como proteínas, peptídeos, aminoácidos, polissacarídeos, manoproteínas e alguns ésteres de ácidos graxos (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ; PUEYO, 2009). Alexandre e Guilloux-Benatier (2006) reportaram que há algumas controvérsias sobre quais compostos interferem positivamente na espuma ou não. Os ácidos graxos de cadeia média (C8, C10 e C12) foram negativamente relacionados com a qualidade da espuma, enquanto os ésteres de etila (hexanoato de etila, octanoato de etila e decanoato de etila) foram positivamente relacionados. Nos resultados dos espumantes analisados no presente estudo, os ésteres citados foram os encontrados com maior área.

A influência do espaçamento entre as plantas no perfil aromático dos vinhos espumantes foi avaliada pelas análises de componentes principais e de agrupamentos (*heatmaps*) (Figura 3), avaliando-se as classes que mais impactaram cada densidade, em cada safra.

Na análise de componentes principais, verifica-se que os espumantes são discriminados pela densidade de plantio em todas as safras, visto que o distanciamento entre as plantas interfere na área sombreada de folhas e cachos, implicando na área disponível para realizar a fotossíntese (acúmulo de açúcar nas bagas), bem como na competição por nutrientes, hormônios e água pelas raízes, que afetam a biossíntese dos compostos secundários.

Na análise de agrupamentos é possível verificar qual classe de compostos está contribuindo para o espumante de uma determinada densidade em cada safra. Na Tabela 1 estão descritas as densidades e as classes de compostos que foram significativas (alto nível de composto) em cada safra.

Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) e de agrupamentos (*heatmap*) do perfil volátil dos espumantes da cv. Chardonnay (clone 76) em cinco densidades de plantio no sul de Minas Gerais (Brasil) nas safras 2016, 2017 e 2018. As cores variam de vermelho mais intenso até azul mais intenso, indicando alto nível do composto até o mais baixo nível. (E: Espumante; D1, D2, D3, D4 e D5, respectivamente, Densidade 1, Densidade 2, Densidade 3, Densidade 4 e Densidade 5)

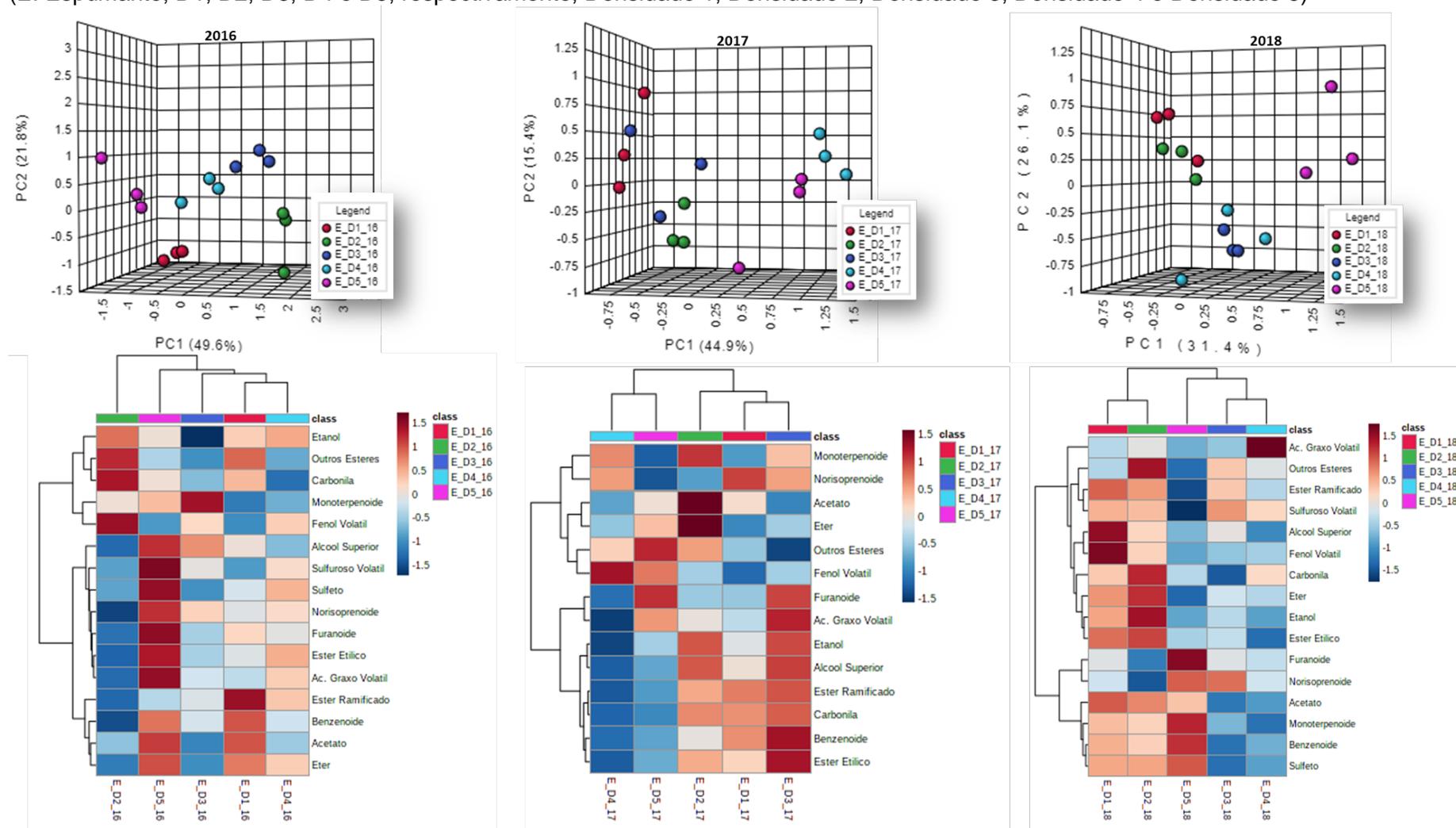


Tabela 1. Classes dos compostos voláteis que diferenciaram os espumantes produzidos com as uvas em diferentes densidade de plantio da cv. Chardonnay (clone 76) nas safras 2016, 2017 e 2018 na Serra da Mantiqueira (Brasil)

| Densidades | SAFRAS | | |
|----------------------------------|---|-------------------------------------|---|
| | 2016 | 2017 | 2018 |
| 1 (2000 pl ha ⁻¹) | - ésteres ramificados | - norisoprenoides | - fenóis voláteis - álcoois superiores |
| 2 (2666 pl ha ⁻¹) | - fenóis voláteis - carbonilas | - acetatos - éter | - outros ésteres - etanol |
| 3 (4000 pl ha ⁻¹) | - monoterpénoides | - ésteres etílicos - benzenoides | - norisoprenoides |
| 4 (5333 pl ha ⁻¹) | - sulfetos - etanol -ésteres etílicos | -fenóis voláteis | - ácidos graxos |
| 5 (8000 pl ha ⁻¹) | -sulfurosos voláteis -sulfetos -furanoides - ácidos graxos | - outros ésteres - furanoides | - furanoides |

Observa-se que cada densidade é diferenciada por uma ou mais classes de compostos em cada safra, algumas classes tendem a aportar aromas agradáveis ao espumante, porém outras classes, a agradabilidade e complexidade aromática dependerá da concentração.

Para a densidade 5 (8000 plantas ha⁻¹) houve maior área relativa dos compostos furanoides em todas as safras, indicando que a proximidade entre as plantas (0,5 m) pode favorecer alguma condição que facilite a formação desses compostos. O furanoide mais abundante identificado foi o furfural, potencialmente formado pela desidratação da xilose, açúcar presente na hemicelulose da estrutura dos polissacarídeos e que não é fermentado pela cepa *Saccharomyces*, podendo ser um dos açúcares residuais dos vinhos. No entanto, as garrafas não permaneceram em condições de temperaturas elevadas, condição possível para a formação de furanoides, o que sugere, então, outra condição para que essa densidade apresentasse os furanoides como classe de compostos significativos nas três safras. Esses compostos podem conferir notas doces, tostadas, de caramelo, pão assado, café (BURDOCK, 2010; GoodScents) e coloração mais amarelada aos vinhos.

Nas densidades de 2666 e 5333 plantas ha⁻¹ o etanol apresentou níveis importantes, sendo o segundo maior composto presente no vinho que acarreta vários

efeitos na percepção sensorial, podendo reduzir a percepção das notas frutadas de alguns ésteres ou enaltecer de outras moléculas (CACHO, 2017).

Elevada área relativa de ácidos graxos foi observada nas densidades de 5333 e 8000 plantas ha⁻¹ nas safras de 2018 e 2016, respectivamente. Os ácidos graxos são compostos que podem ter influência negativa na qualidade da espuma dependendo do tamanho da cadeia (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006). O tamanho da cadeia também influencia a volatilidade do aroma e a nota aromática conferida, sendo que cadeias mais longas (acima de 16 carbonos) conferem notas oleosas, de ranço, ao espumante.

A densidade 3 (4000 plantas ha⁻¹) apresentou, nas três safras, compostos em maior abundância que conferem aromas frutados e florais aos espumantes, como os monoterpenos, norisoprenoides e benzenoides, e frutados como os ésteres etílicos. Entretanto, o valor da atividade odorífera e a influência de outros compostos na percepção desses aromas só podem ser estabelecidos com a determinação da concentração desses compostos no vinho.

Os fenóis voláteis foram significativos nas densidades de 2000, 2666 e 5333 plantas ha⁻¹ nas safras de 2018, 2016 e 2017, respectivamente, sendo difícil estabelecer uma razão para o aumento da quantidade. Os fenóis identificados nesse estudo são o salicilato de metila, o fenol e o salicilato de 2-etil-hexila, apresentando como descritores, notas floral, menta, forte adocicado (BURDOCK, 2010).

Além das avaliações cromatográficas apresentadas, as análises quantitativa dos compostos voláteis e sensorial dos vinhos contribuiriam para o entendimento das notas aromáticas percebidas nos espumantes em função do tratamento. No entanto, com a análise descritiva, observa-se que os espaçamentos mais próximos (plantios mais adensados com 5333 e 8000 plantas ha⁻¹) tendem a apresentar compostos mais agressivos sensorialmente que podem comprometer a aceitação pelo consumidor. Tais densidades apresentaram maior área relativa de compostos sulfurosos voláteis, aromas considerados *off-flavour*, devido às características de ovo podre, e ácidos graxos que podem conferir notas oleosas, de ranço.

4.4.2 Considerações

- ❖ Os espumantes se diferenciam pelo manejo adotado, ou seja, pela densidade de plantio (espaçamento entre plantas).
- ❖ A densidade de plantio aporta diferentes classes de compostos para o espumante em cada safra estudada.
- ❖ Espaçamentos de 1 m a 2 m entre plantas (densidade de 2000 a 4000 plantas ha⁻¹) aportaram aromas mais agradáveis, enquanto os espaçamentos mais próximos (0,75 m e 0,5 m, densidades 5333 e 8000 plantas ha⁻¹, respectivamente) conferiram compostos sulfurosos, furanoides aos espumantes.
- ❖ A densidade de 8000 plantas ha⁻¹ foi diferenciada nas três safras pela classe de compostos furanoides ou seja, apresentou uma tendência, indicando que uma alta produtividade pode comprometer a qualidade do vinho, aportando característica amarelada ao espumante, que para alguns consumidores estaria correlacionada negativamente.

4.4.3 Material Suplementar

✓ O efeito safra (condições ambientais) é significativo para a composição volátil da cultivar Chardonnay, discriminando os experimentos avaliados nas safras 2016, 2017 e 2018.

✓ Todos os manejos estudados (clones, porta-enxertos, sistema de condução e densidade de plantio) influenciaram a composição volátil das bagas ao espumante da cv. Chardonnay.

✓ A complexa interação entre genótipo, macro- e microclima e o vigor da planta, fatores que contribuem para o fenótipo, definem o metabolismo da baga.

✓ O Clone 809 (também conhecido como Muscat) apresentou compostos monoterpênicos que são característicos de uva moscato e estão presentes em maior abundância das bagas ao espumante.

✓ A abordagem adotada para a avaliação dos espumantes dos sistemas de condução pode ser utilizada na construção de um banco de dados, visando às melhorias dos processos no campo e na vinícola.

✓ Os compostos presentes em maior abundância nos espumantes produzidos na Serra da Mantiqueira são os ésteres (octanoato de etila e hexanoato de etila), ácidos graxos (ácido octanóico e hexanóico) e álcoois superiores (fenietanol e álcool isoamílico), substâncias que podem aportar aos vinhos aromas frutado (abacaxi, banana, damasco, pêssago, pera, maçã), floral (rosa), pujante, queijo, uísque/conhaque.

✓ A análise sensorial pode contribuir na confirmação dos dados de perfil volátil do espumante Chardonnay elaborado na Serra da Mantiqueira.

✓ Os dados apresentados podem contribuir para o desenvolvimento de outras pesquisas - básica e/ou aplicada.

✓ A análise de compostos voláteis pode ser utilizada na avaliação da indicação de procedência (IP) do vinho para melhorar a qualidade, valorizar a tipicidade e a identidade regional dos vinhos em Minas Gerais. Com isso, aumentará a notoriedade dos produtos, a procura e compra pelos consumidores, aumentando o valor agregado, assim como impulsionará o enoturismo e promoverá a enogastronomia regional, com a valorização cultural e do artesanato da região.

6. CONCLUSÕES

✓ O manejo (definição de clones, porta-enxertos, sistemas de condução ou densidade de plantio) impacta na reação da planta às condições ambientais, ou seja, no fenótipo, afetando a composição da baga (metabólitos primários), o amadurecimento, o metabolismo secundário e, conseqüentemente, a composição volátil da baga.

✓ Os vinhos espumantes, mesmo após duas vinificações, são diferenciados pelas condições de manejo, evidenciando que o acúmulo de nutrientes (metabólitos primários), precursores e não-precursos aromáticos na baga influenciam o metabolismo da levedura e conseqüentemente, o *bouquet* do vinho.

✓ Baseado nas análises descritivas de composição volátil de duas e/ou três safras das bagas e do espumante da cv. Chardonnay, sugere-se:

- ampliar a produção da cv. Chardonnay clone 809 para se ter um vinho com características sensoriais diferentes.
- utilizar os espaçamentos entre plantas de 1 m, 1,5 m e 2 m enxertadas em 1103 Paulsen e conduzidas em espaldeira, pois estes tratamentos diferenciaram por compostos mais agradáveis nas três safras.
- Utilizar os sistemas de condução Espaldeira e GDC (Clone 76/ PE 1103Paulsen), pois conferiram aromas mais agradáveis.

✓ A análise química pode ajudar na determinação da análise sensorial, de forma a otimizá-la. Entretanto, deve-se levar em consideração a diferença de tempo entre as análises.

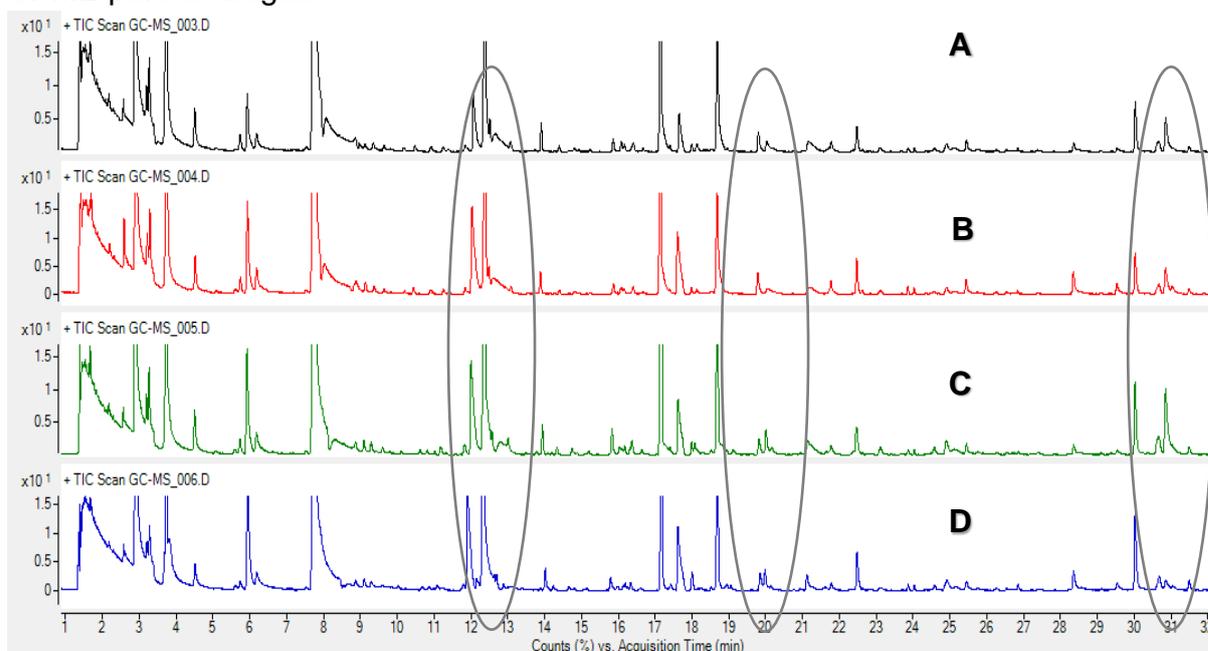
✓ A análise da composição volátil dos vinhos espumantes pode ser uma ferramenta a ser utilizada no estabelecimento da indicação geográfica de regiões, pois é uma técnica sensível às variáveis genéticas, ambientais e de manejo do vinhedo, no entanto, são necessárias análises de safras adicionais, dessa e de outra região para que se tenha reprodutibilidade e robustez dos resultados, a fim de determinar marcadores para a atribuição da característica sensorial.

7. DADOS SUPLEMENTARES

7.1 Otimização do método de extração dos compostos voláteis das bagas e dos mostos

A otimização do método de extração dos compostos voláteis nas bagas foi baseado no proposto por Sun et al. (2011) e pelos tempos de extração e exposição da fibra por HS-SPME. O teste com 10' de extração e 50' exposição da fibra (teste C da Figura 1S) apresentou maiores áreas dos compostos desorvidos e evidenciou compostos adicionais em relação aos demais testes. A temperatura de extração e exposição da fibra foi de 40°C, conforme preconizado pelos autores.

Figura 1S. Cromatogramas dos testes de otimização da extração de voláteis por SPME para as bagas



(GC-MS-003 (A): 10' de extração e 30' exposição da fibra; GC-MS-004 (B): 15' de extração e 30' exposição da fibra; GC-MS-005 (C): 10' de extração e 50' exposição da fibra; e, GC-MS-006 (D): 15' de extração e 50' exposição da fibra).

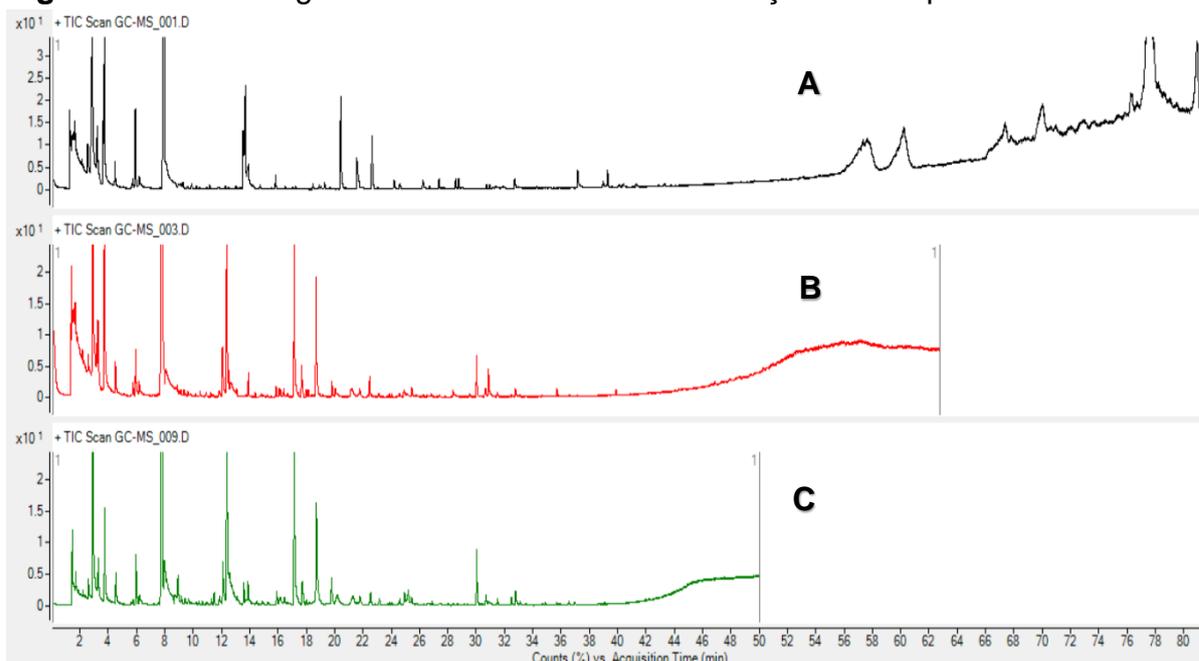
Com o tempo de formação do headspace de 15min (testes B e D), alguns picos coeluíram, prejudicando a deconvolução pelo software MassHunter e, conseqüentemente, a identificação na comparação com os espectros de fragmentação incluídos na biblioteca NIST v. 2014.

Foram seguidas as mesmas condições de extração para as amostras dos mostos.

7.2 Otimização do método cromatográfico para a análise dos compostos voláteis nas bagas e mostos

Para otimizar a rampa de temperatura utilizada nas separações, tomou-se por base as condições preconizadas por Sun et al. (2011). Verificou-se que, após 50 minutos (Teste A, Figura 2S), houve a eluição de compostos de sílica provavelmente devido ao sangramento da coluna ou da fibra de SPME, fato percebido nessa injeção. Foi testada a mudança da temperatura da rampa de 3°C/min para 4,5°C/min para a redução no tempo total de eluição (Teste B, Figura 2S). Em outro teste, adicionou-se uma segunda rampa de temperatura de 8°C/min, de forma que a corrida foi fechada com um tempo total de 50 minutos (Teste C, Figura 2S). Dessa forma, o método cromatográfico foi otimizado, contribuindo para a redução no tempo de análise.

Figura 2S. Cromatogramas com os testes de otimização da rampa de análise



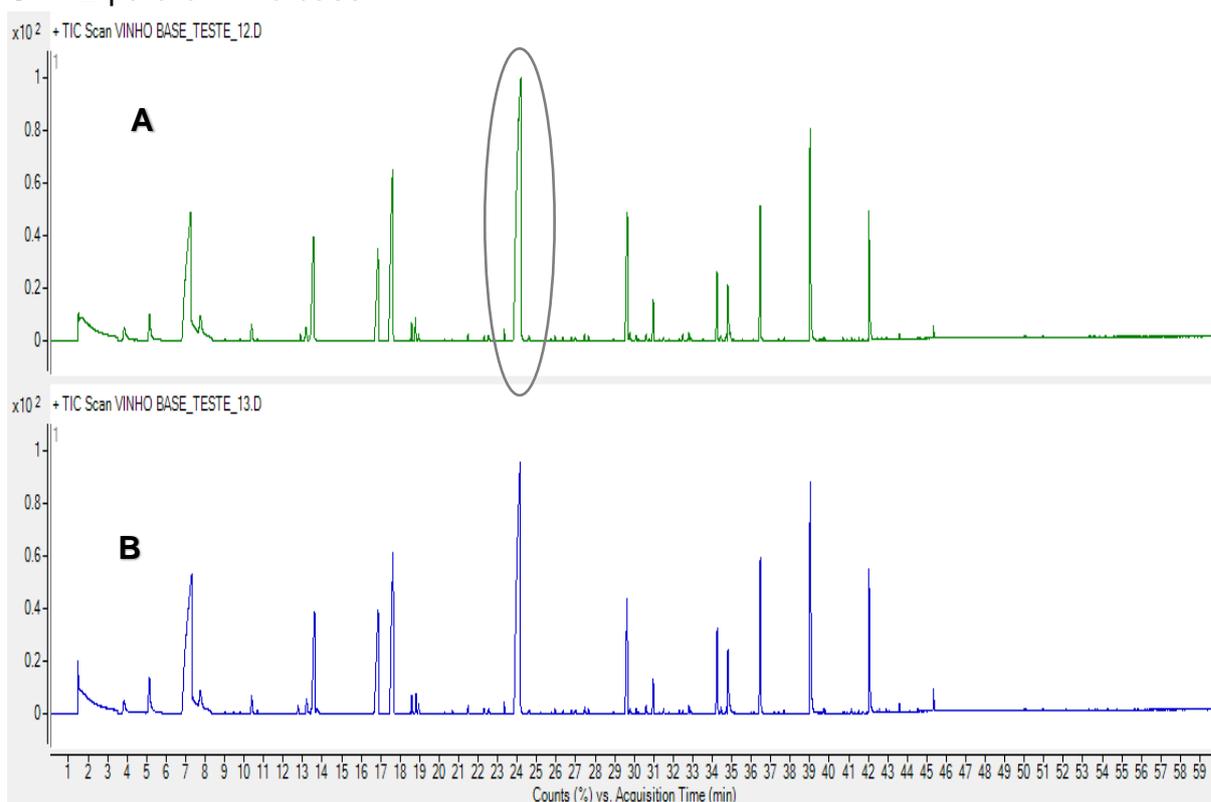
(GC-MS-001 (A): 35°C por 5 minutos, 3°C/min até 250°C e mantém por 5 minutos; GC-MS-003 (B): 35°C por 5 minutos, 4,5°C/min até 250°C e mantém por 10 minutos; e, GC-MS-009 (C): 35°C por 5 minutos, 4,5°C/min até 170°C, 8°C/min até 250°C e mantém por 5 minutos).

Após a otimização da rampa de temperatura, os resultados foram reprodutíveis para a triplicata com as condições do Teste C e com o tempo de exposição da fibra de 50 minutos para as amostras das bagas e dos mostos.

7.3 Otimização do método de extração dos compostos voláteis dos vinhos base e espumantes

O método que foi aplicado para as amostras das bagas e dos mostos serviu de base para a otimização do método de extração dos compostos voláteis nas amostras dos vinhos base. Assim, avaliou-se o tempo de formação do headspace para posterior captura dos voláteis por HS-SPME e o volume de amostra a ser utilizado (Figura 3S). Verificou-se que com o Teste A, 10' para formar o headspace utilizando 10 mL de amostra com 10 mL de solução salina saturada, ocorreu a saturação do detector para o composto que elui em 24 min (octanoato de etila), e outros compostos apresentaram menor área nessas condições. Assim, foram aplicadas as condições do Teste B, 5' para formar o headspace, 5 mL de amostra com 5 mL de solução salina saturada.

Figura 3S. Cromatogramas dos testes de otimização da extração de voláteis por SPME para o vinho base



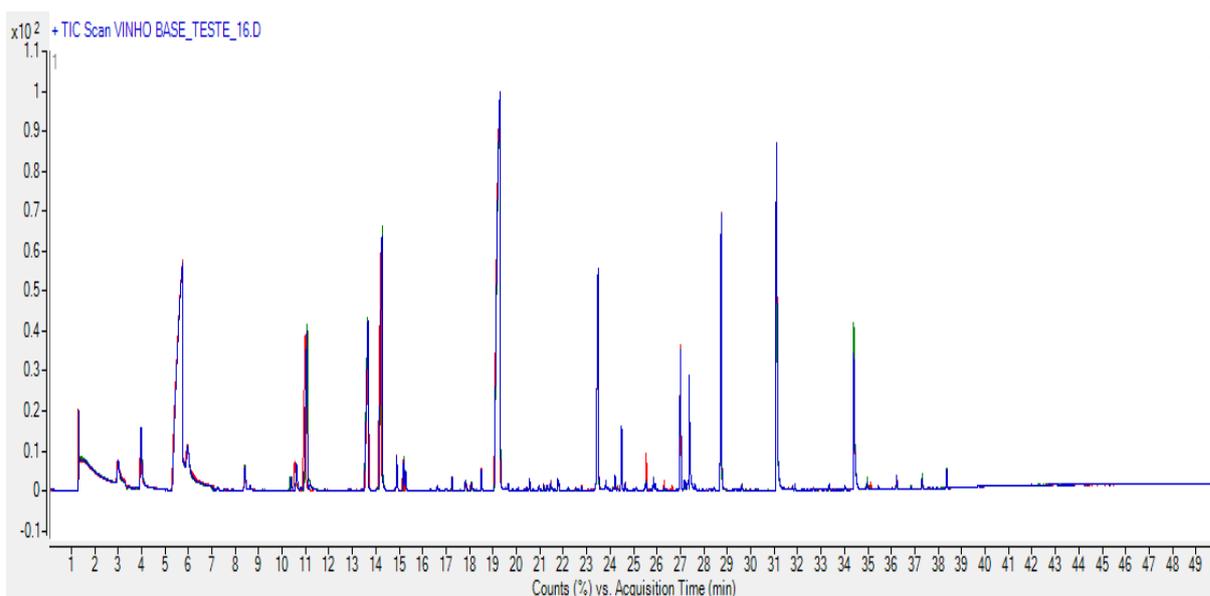
(VINHO BASE_TESTE_12 (A): 10' de formação do headspace, 50' exposição da fibra, 40°C, 10mL de amostra com 10 mL de solução salina; VINHO BASE_TESTE_13 (A): 5' de formação do headspace, 50' exposição da fibra, 40°C, 5 mL de amostra com 5 mL de solução salina).

Foram seguidas as condições de extração descritas no Teste B tanto para o vinho base quanto para o espumante.

7.4 Otimização do método cromatográfico para a análise dos compostos voláteis nos vinhos base e espumante

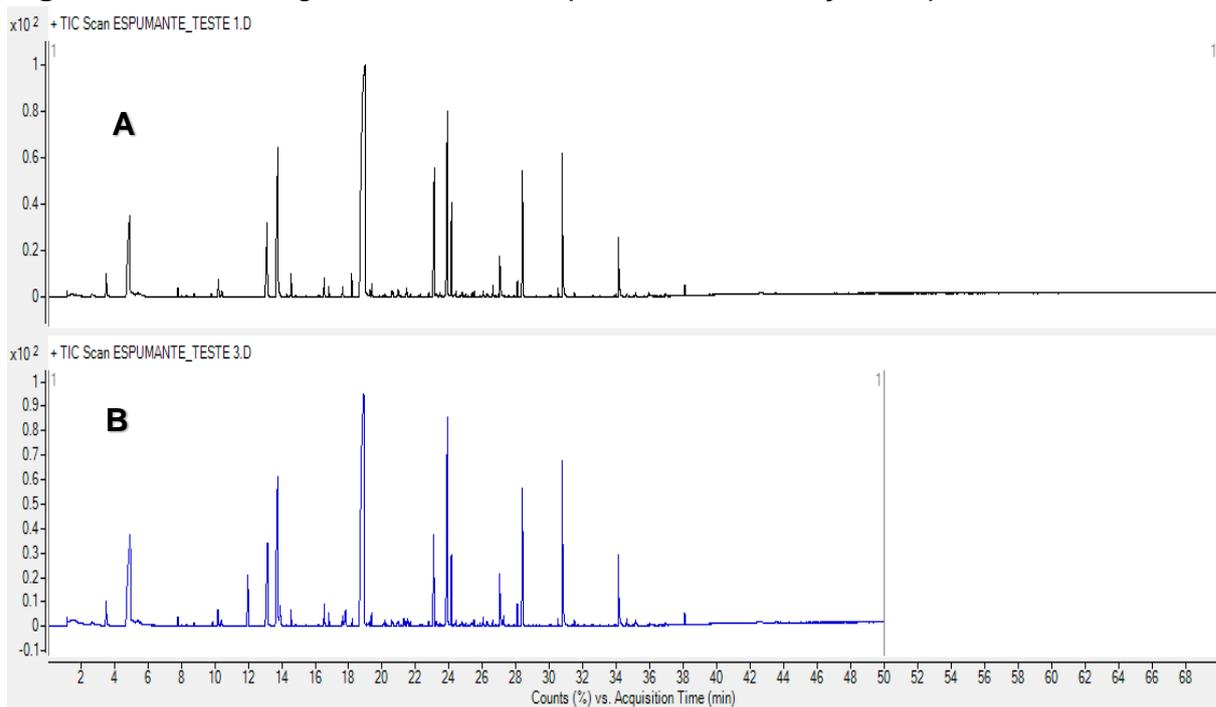
O método cromatográfico aplicado para os vinhos base e espumante seguiu o preconizado por Carlin et al. (2016) com pequenas alterações nos tempos isocráticos inicial e final. Na Figura 4S encontra-se a sobreposição de cromatogramas de uma triplicata de amostras seguindo a extração descrita no item 6.3, onde se nota que há reprodutibilidade entre as injeções nas condições cromatográficas descritas na Figura 4S.

Figura 4S. Overlay dos cromatogramas com utilização das condições de extração descritas no Teste B da Figura 3S



(VINHO BASE (A): rampa: 40°C por 5 minutos, 6°C/min até 250°C e mantém por 10 minutos; fluxo: 1,2 mL/min; temperatura do injetor: 250°C).

Na Figura 5S estão os cromatogramas de dois testes com o espumante: o teste A para avaliar se haveria a eluição de picos tardios e com o dobro de amostra (10 mL), e o Teste B, de acordo com o preconizado para o vinho base. Assim, observa-se que no cromatograma A não há a eluição de outros compostos a partir de 50 minutos; dessa forma, estabeleceu-se que para o espumante, seria seguido o método cromatográfico descrito para o vinho base (Teste B).

Figura 5S. Cromatogramas dos testes para avaliar a eluição de picos tardios

(ESPUMANTE_TESTE 1 (A): 40°C por 5 minutos, 6°C/min até 250°C e mantém por 30 minutos; ESPUMANTE_TESTE 2 (B): 40°C por 5 minutos, 6°C/min até 250°C e mantém por 10 minutos).

8. REFERÊNCIAS

AHMED, E. et al. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, p. 205-214, 2017.

ALAHÓN, M.E. et al. Enological potential of chestnut wood for aging Tempranillo wines part I: Volatile compounds and sensorial properties. **Food Research International**, v. 51, p. 325-334, 2013.

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

ALMEIDA, L.W. **Planting density for Chardonnay grapevines in the south of Minas Gerais**. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 49p., 2017.

ANDRETTA, R.L. **Manejo da cultura de videiras finas**. Universidade Federal do Paraná, 2011. Dissertação disponível parcialmente em: <<https://pt.slideshare.net/darleyfabian/manejo-uvafina>>. Acesso em: 23 jan. 2021.

ANTONELLI, A. et al. Yeast influence on volatile composition of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1139 - 1144, 1999.

BAUMES, R. Wine aroma precursors. In: MORENO-ARRIBAS, M.V.; POLO, M.C. (Eds). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009, cap. 8A, p. 251 – 274.

BASCUÑÁN-GODOY, L. et al. Rootstock effect on irrigated grapevine yield under arid climate conditions are explained by changes in traits related to light absorption of the scion. **Scientia Horticulturae**, v. 218, p. 284 - 292, 2017.

BOATRIGT, J. et al. Understanding in vivo benzenoid metabolism in petunia petal tissue. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1993 - 2011, 2004.

BORGHEZAN, M. Formação e maturação da uva e os efeitos sobre os vinhos: revisão. **Ciência Tecnológica Vitivinícola**, v. 32, p. 126-141, 2017.

BOSCH-FUSTÉ, J. et al. Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. **Food Chemistry**, v. 105, p. 428-435, 2007.

BRASIL. Decreto nº 8.198, de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 151, n. 37-A, p. 1, 21 fev. 2014. Edição extra.

BRASIL. Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 21561, 9 nov. 1988.

BURDOCK, G.A. In: _____ **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. Boca Raton: CRC Press, 2010, p. 2135.

CACHO, J. El aroma del vino: su percepción y composición. In: VILANOVA, M. (Coordinadora); OLIVEIRA, J.M.; RIVAS, R.; ALONSO, J.C.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M.; IBÁÑEZ, J.; CACHO, J. **El potencial aromático de las variedades de vid cultivadas en Galicia**. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia, 2017, p. 34 - 43.

CALIARI, V. et al. Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. **Food Research International**, v. 62, p. 965-973, 2014.

CÂMARA, F.M. M. **Rootstocks and cultivars in vineyards under double pruning**. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 149p., 2020.

CÂMARA, J. S.; ALVES, A.; MARQUES, J. C. Multivariate analysis for the classification and differentiation of Madeira wines according to main grape varieties. **Talanta**, v. 68, p. 1512-1521, 2006.

CAMARGO, U.A., BERND, R.B., REVERS, L.F. Melhoramento genético. In: SOARES, L.M., LEÃO, P.C. de S. **A vitivinicultura no semiárido brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica; Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 756, 2009.

CAMESASCA, I. et al. Overproduction of isoprenoids by *Saccharomyces cerevisiae* in a synthetic grape juice medium in the absence of plant genes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 282, p. 42 - 48, 2018.

CARBONNEAU, A. Place du microclimat de la partie aérienne parmi les facteurs déterminant les productions viticoles. **Bulletin de l'OIV**, v. 1, p. 473-477, 1984.

CARLIN, S. et al. Regional features of northern Italian sparkling wines, identified using solid-phase micro extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 208, p. 68-80, 2016.

CARRASCO-QUIROZ, M. et al. Effect of rootstocks on volatile composition of Merlot wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, p. 3517 - 3524, 2020.

CHELOTTI, M.C. A geografia do vinho em Minas Gerais: patrimônio, ruralidades e territorialidades. In: XIII ENANPEGE - A geografia brasileira na ciência-mundo: produção, circulação e apropriação do conhecimento, 2019, São Paulo. Resumos... São Paulo: XIII ENANPEGE, 2019.

CHELOTTI, M.C.; MEDEIROS, R.M.V. O patrimônio territorial vitivinícola do sul de Minas Gerais: expressões do cultivo da uva e do fabrico do vinho. **Revista GeoNordeste**, São Cristóvão, n. 2, p. 187 - 203, jul./dez. 2019. Edição Especial

CHEN, F. et al. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **The Plant Journal**, v. 66, p. 212-229, 2011.

CHRISTENSEN, P.L. Rootstock selection. In: BETTIGA, L.J. (ed.). **Wine grape varieties in California**. Oakland: University of California, 2003, p. 12 - 15.

CHRISTENSEN, P.L.; EDELENBOS, M.; KREUTZMANN, S. Fruits and vegetables of moderate climate. In: BERGER, R.G. (Ed). **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Berlin: Springer-Verlag, 2007, cap. 7, p. 135 – 188.

COELHO, E. et al. Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. **Analytica Chimica Acta**, v. 635, p. 214-221, 2009.

COSME, F. et al. Grape and Wine Metabolites: biotechnological approaches to improve wine quality. In: **Grape and Wine Biotechnology**. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/grape-and-wine-biotechnology>>, cap. 9, p. 187 - 224, 2016.

CARRAU, F.M. et al. De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, v. 243, p. 107 - 115, 2005.

CURY, L. Maturação da uva e gestão da qualidade, composição da baga e química da maturação. Disponível em: <<https://slideplayer.com.br/slide/13972773/>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T.G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1621 - 1637, 2009.

DEGU, A. et al. Metabolite and transcript profiling of berry skin during fruit development elucidates differential regulation between Cabernet Sauvignon and Shiraz cultivars at branching points in the polyphenol pathway. **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 2-20, 2014.

DENNIS, E.G. et al. Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, octyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2638 - 2646, 2012.

DE SMIDT, O.; DU PREEZ, J.C.; ALBERTYN, J. The alcohol dehydrogenases of *Saccharomyces cerevisiae*: a comprehensive review. **FEMS Yeast Research**, v. 8, p. 967 - 978, 2008.

DIAS, F.A.N. **Rootstock performance and bud development evaluation to optimize Vitis vinifera production**. Universidade Federal de Lavras. Lavras, p. 120, 2015.

DRAPPIER, J. et al. Relationship between wine composition and temperature: Impact on Bordeaux wine typicity in the context of global warming - Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. Floral scent metabolic pathways: their regulation and evolution. In: DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. (Eds). **Biology of floral scent**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006, p. 365.

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical reviews in plant sciences**, v. 25, p. 417 - 440, 2007.

DUNLEVY, J.D. et al. The production of flavour & aroma compounds in grape berries. In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS (Ed.). **Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology**. Creta: Springer, 2nd ed., 2009, cap. 11, p. 293 - 340.

EBELER, S.E.; THORNGATE, J.H. Wine chemistry and flavor: looking into the crystal glass. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8098-8108, 2009.

EMBRAPA. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 07 jan. 2019(a).

EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/cultivares-e-porta-enxertos/porta-enxertos>>. Acesso em: 07 jan. 2019(b).

EPAMIG. Disponível em: <www.epamig.br/vitivinicultura-2>. Acesso em: 05 dez. 2020.

WEBINÁRIOS EPAMIG. **Vitivinicultura - Vinificação de Espumantes**. Caldas: realizado em 27 nov. 2020. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=9brbQfE6rpo>>. Acesso em 27 jan. 2021.

FAVERO, A.C. et al. Physiological responses and production of "Syrah" vines as a function of training systems. **Science Agriculture**, v. 67, p. 267 - 273, 2010.

FLAVOR INGREDIENT LIBRARY. Disponível em: <<https://www.femaflavor.org/flavor-library>>

GIANNOUKOS, K. et al. Analysis of volatile emissions from grape berries infected with *Aspergillus carbonarius* using hyphenated and portable mass spectrometry. **Nature Research**, v. 10, p. 21179, 2020.

GOOD SCENTS. The Good Scents Company Information System. Disponível em: <<http://thegoodscentscopy.com/>>.

GONZÁLEZ-BARREIRO, C. et al. Wine aroma compounds in grapes: a critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 202-2018, 2015.

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G. et al. Los portainjertos y sus efectos en la calidad aromática de vinos con la variedad Merlot. Disponível em: < <https://www.vitivin.pro/contenido/los-portainjertos-y-sus-efectos-en-la-calidad-aromatica-de-vinos-con-la-variedad-merlot>>. Acesso em: jun. 2020.

HERNÁNDEZ-ORTE, P.; CACHO, J.F.; FERREIRA, V. Relationship between varietal amino acid profile of grape and wine aromatic composition. Experiments with model solutions and chemometric study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2891 - 2899, 2002.

HIDALGO, L. Tratado de viticultura geral. 3rd ed. Madrid: Mundi-Prensa, 983p, 2002.

HIDALGO, P. et al. Sensory and analytical study of rosé sparkling wines manufactured by second fermentation in the bottle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6640 - 6645, 2004.

IAC. Apresentação do Eng^o Agr^o Maurilo Monteiro Terra: Cultivares de videira. Acesso em: 19 jan. 2019.

IAC. **Cultivar "IAC 766" Campinas.** Disponível em: < [http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/Folders/Videira/IAC766\(Campinas\).htm](http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/Folders/Videira/IAC766(Campinas).htm)>. Acesso em: 10 jan. 2021.

ILC, T. et al. Meta-analysis of the core aroma components of grape and wine aroma. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p. 1-15, 2016a.

ILC, T. et al. Monoterpenol oxidative metabolism: role in plant adaptataions and potential applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1 - 16, 2016b.

JAFFRÉ, J. et al. The Chardonnay wine olfactory concept revisited: A stable core of volatile compounds, and fuzzy boundaries. **Food Research International**, v. 44, p. 456-464, 2011.

JONES, J.E. et al. Viticulture for Sparkling Wine Production: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 65, p. 407 - 416, 2014.

KAMINAGA, Y. et al. Plant phenylacetaldehyde synthase is a bifunctional homotetrameric enzyme that catalyses phenylalanine decarboxylation and oxidation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, p. 23357 - 23366, 2006.

KELLER, M. In: _____ **The science of grapevines: anatomy and physiology**. Washington: Elsevier Inc., 2015, p. 509.

KIM, I. et al. Applications of stable, nonradioactive isotope tracers in in vivo human metabolic research. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, p. 1-10, 2016.

KUTCHAN, T.M., et al. Natural products. In: **Biochemistry & Molecular Biology of Plants** (BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L., eds). Chichester, Wiley Blackwell, 2015, p. 1132.

LASIK-KURDYS, M.; MAJCHER, M.; NOWAK, J. Effects of different techniques of malolactic fermentation induction on diacetyl metabolism and biosynthesis of selected aromatic esters in cool-climate grape wines. **Molecules**, v. 23, p. 2549 - 2564, 2018

LIN, J.; MASSONNET, M.; CANTU, D. The genetic basis of grape and wine aroma. **Horticulture Research**, v. 6, p. 1 - 24, 2019.

LORD et al. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/reporter-us/bioanalysis-with-spme.html>>. Acesso em: 2016.

LOUREIRO, M.D. et al. Influence of rootstock on the performance of the Albarín Negro minority grapevine cultivar. **Scientia Horticulturae**, v. 201, p. 145-152, 2016.

LUO, J. et al. Free terpene evolution during the berry maturation of five *Vitis vinifera* L. cultivars. **Food Chemistry**, v. 299, p. 1 - 13, 2019.

LUYKX, D. M. A. M.; VAN RUTH, S. M. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. **Food Chemistry**, v. 107, p. 897-911, 2008.

MAGALHÃES, H.C.R. **Influência hormonal de metil jasmonato na biossíntese de compostos voláteis associados ao amadurecimento em tomate *Grape (Solanum lycopersicum)* e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*)**. Universidade de São Paulo. São Paulo, 118p. 2017.

MARCHAL, A. et al. Contribution of oak lignans to wine taste: chemical identification, sensory characterization and quantification. **Tetrahedron**, p. 1-9, 2014.

MARCON, A.R. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/196623/1/ABVE-2018-p86-93-1.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2021.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; PUEYO, E. Sparkling wines and yeast autolysis. In:

MORENO-ARRIBAS, M.V.; POLO, M.C. (Eds). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009, cap. 3A, p. 61 – 80.

MATEO, J.J.; JIMÉNEZ, M. Monoterpenes in grape juice and wines. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 557- 567, 2000.

MENDONÇA, D. R. **Densidade de plantio e podas na produção da videira Chardonnay no sul de Minas Gerais**. Universidade Federal de Lavras. Lavras, p. 79. 2015.

NICOLINI, G. et al. Gli aromi del Moscato Giallo nelle sue interpretazioni in Trentino e nei Colli Euganei. **L´enologo**, Milano, n. 2, p. 65 - 72, 2013.

NICOLINI, G. et al. Müller Thurgau: nuovi cloni italiani di una varietà Mittel-Europea. Rivista Internet di Viticoltura ed Enologia <www.infowine.com>, n. 5/1, 2016.

NICOLINI, G. et al. Differenze clonali nella dotazione di precursori dei tioli varietali in Gewürztraminer. Rivista internet do viticoltora ed enologia <www.infowine.com>, n. 6, 2019.

NOGUEROL-PATO, R. et al. Quantitative determination and characterisation of the main odourants of Mencia monovarietal red wines. **Food Chemistry**, v. 117, p. 473 - 484, 2009.

NORBERTO, P. M. **Sistemas de condução em videira: análises agrônômicas e ecofisiológicas**. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 118 p. 2006.

OLARTE MANTILLA, S.M. et al. Shiraz (*Vitis vinifera* L.) berry and wine sensory profiles and composition are modulated by rootstocks. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 69, p. 32 - 44, 2017.

OIV, [2010]. **Definition of Vitivicultural "Terroir"**. Disponível em: <<https://www.oiv.int/public/medias/379/viti-2010-1-en.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2020.

OIV, [2017]. **OIV process for the clonal selection of vines**. Disponível em: <<https://www.oiv.int/public/medias/5382/oiv-viti-564a-2017-en.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2020.

OIV, [2020]. **OIV Focus the global sparkling wine market**. Disponível em: <<https://www.oiv.int/public/medias/7291/oiv-sparkling-focus-2020.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2020.

PAOLINI, M. et al. Development of a fast gas chromatography-tandem mass spectrometry method for volatile aromatic compound analysis in oenological products. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 53, p. 801 - 810, 2018.

PARDO, E. et al. De novo production of six key grape aroma monoterpenes by a geraniol synthase-engineered *S. cerevisiae* wine strain. **Microbial cell factories**, v. 14, p. 1 - 8, 2015.

PEINADO, R.A. et al. Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 6389 - 6393, 2004.

PEREIRA, G.E. et al. Panorama da produção e mercado nacional de vinhos espumantes. **EPAMIG -Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 41, p. 7 - 18, 2020.

PEREIRA, G.E. A produção e as pesquisas com uvas, sucos e vinhos no Nordeste Brasileiro: Vale do São Francisco e Chapada Diamantina. Palestra online promovida pela ABE via GoogleMeet, em 23 jul. 2020.

PEREIRA, V. et al. Evolution of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and furfural (F) in fortified wines submitted to overheating conditions. **Food Research International**, v. 44, p. 71 - 76, 2011.

PÉREZ-MAGARIÑO, S. et al. Grape variety, aging on lees and aging in bottle after disgorging influence on volatile composition and foamability of sparkling wines. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, p. 47-55, 2015.

PINAR, A.L. et al. Effects of bunch rot (*Botrytis cinerea*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) fungal disease on wine aroma. **Frontiers in Chemistry**, v. 5, p. 1 - 12, 2017.

PLANTGRAPE. Disponível em: <<http://plantgrape.plantnet-project.org/en/cepage/Chardonnay>>. Acesso em: 19 dez. 2020.

POTT, D.M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J.G. From central to specialized metabolism: an overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1 -

POZO-BAYÓN, M.A. et al. Influence of yeast strain, bentonite addition, and aging time on volatile compounds of sparkling wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 54, p. 273 - 278, 2003.

REGINA, M.A. Análise comparativa da organização e metodologia da seleção clonal da videira na França e Brasil. **Ciência e Agrotecologia**, Lavras, v.28, n.1, p.206-212, 2004.

REYNOLDS, A.G.; HEUVEL, J.E.V. Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 60, p. 251 - 268, 2009.

RIENTH, M. et al. Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 1 - 18, 2014.

RIZZON, L.A.; MENEGUZZO, J.; ABARZUA, C.E. **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2000.

ROBINSON, A.L. et al. Origins of grape and wine aroma. Part 1 - Chemical components and viticultural impacts. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 65, p. 1 - 24, 2013.

RODRÍGUEZ, M.D.L.; SANZ, P.M.; VALLES, B.S. In: ____ **Selección clonal de cultivares de vid del Principado de Asturias**. Espanha: Gráficas Eujoa S.A., 2018, p. 83.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, p. 712-732, 2008.

SEFTON, M.A. et al. Occurrence, sensory impact, formation, and fate of damascenone in grapes, wines, and other foods and beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 9717 - 9746, 2011.

SERRA, I. et al. Review: the interaction between rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhanced drought tolerance in grapevine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 20, p. 1 - 14, 2014.

SHEN, J. et al. A 13-lipoxygenase, TomloxC, is essential for synthesis of C flavour volatiles in tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 419 - 428, 2014.

SILVA, M.J.R. et al. Grape juice produced from new hybrid varieties grown on Brazilian rootstocks - Bioactive compounds, organic acids and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 289, p. 714 - 722, 2019.

SIMKIN, A.J. et al. The tomato *carotenoid cleavage dioxygenase 1* genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. **The Plant Journal**, v. 40, p. 882 - 892, 2004.

SLAGHENAUFI, D. et al. Fate of grape-derived terpenoids in model systems containing active yeast cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, p. 13294 - 13301, 2020.

SOARES, R.D. et al. Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine. **Food Chemistry**, v. 183, p. 291-304, 2015.

SONG, J. et al. Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. **Food Chemistry**, v. 173, p. 424 - 431, 2015.

SOUZA, C.R. et al. Cultivares e porta-enxertos para a produção de espumantes. **EPAMIG - Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 41, p. 50 - 56, 2020.

SPAYD, S.E. et al. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 53, p. 171 - 182, 2002.

STEFENON, C. A. et al. Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees. **Food Chemistry**, v. 145, p. 292-299, 2014.

STEYER, D. et al. Genetic analysis of geraniol metabolism during fermentation. **Food Microbiology**, v. 33, p. 228 - 234, 2013.

SUN, Q. et al. Comparison of odor-active compounds in grapes and wines from *Vitis vinifera* and non-foxy American grape species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 10657-10664, 2011.

SWIEGERS, J.H. et al. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 11, p. 139 - 173, 2005.

SWIEGERS, J.H. et al. The influence of yeast strain on the aromatic character of Sauvignon Blanc wine. **Food Microbiology**, v. 26, p. 204 - 211, 2009.

TADMOR, Y. et al. Identification of malodorous, a wild species allele affecting tomato aroma that was selected against during domestication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2005 - 2009, 2002.

TIEMAN, D. et al. Tomato aromatic amino acid decarboxylases participate in synthesis of the flavor volatiles 2-phenylethanol and 2-phenylacetaldehyde. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, p. 8287-8292, 2006.

TORRENS, J. et al. Assessment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2455 - 2461, 2010.

UGLIANO, M.; HENSCHKE, P.A. Yeast and Wine Flavour. In: MORENO-ARRIBAS, M.V.; POLO, M.C. (Eds). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009, cap. 8D, p. 313 – 392.

VAN LEEUWEN, C. et al. Recent advancements in understanding the terroir effect on aromas in grapes and wines. **OENO One Vine and Wine**, v. 4, p. 985 - 1006, 2020.

WANG, Y. et al. Rootstock-mediated effects on Cabernet Sauvignon performance: vine growth, berry ripening, flavonoids, and aromatic profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 1 - 16, 2019.

WARSCHEFSKY, E.J. et al. Feature Review: Rootstocks: diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 418-437, 2016.

WATERHOUSE, A.L.; SACKS, G.L.; JEFFERY, D.W. In: _____. **Understanding Wine Chemistry**. Chichester: Wiley, 2016, p. 443.

WELKE, J. E. et al. Characterization of the volatile profile of Brazilian Merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1226, p. 124 - 139, 2012.

WELKE, J. E. et al. Differentiation of wines according to grape variety using multivariate analysis of comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection data. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3897-3905, 2013.

WELKE, J. E. et al. Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 164, p. 427-437, 2014a.

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

XIA, J. et al. MetaboAnalyst 3.0 - making metabolomics more meaningful. **Nucl. Acids Res.**, v. 43, p. w251-257, 2015.

XU, X. et al. Effect of training systems on fatty acids and their derived volatiles in Cabernet Sauvignon grapes and wines of the north foot of Mt. Tianshan. **Food Chemistry**, v. 181, p. 198 - 206, 2015.

ZALACAIN, A. et al. Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. **Talanta**, v. 71, p. 1610-1615, 2007.

ZAMORA, F. Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In: MORENO-ARRIBAS, M.V.; POLO, M.C. (Eds). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009, cap. 1, p. 3 – 26.

ZHANG, P. et al. Terpene evolution during the development of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapes. **Food Chemistry**, v. 204, p. 463-474, 2016.