

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENGENHARIA QUÍMICA

FLAVIA RAVAGNANI VIEIRA E SILVA
LARISSA CHMLOUSKI TARACIUK

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO COM LÂMPADAS LED NA
PRODUÇÃO E QUALIDADE DO VINHO TINTO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2016

**FLAVIA RAVAGNANI VIEIRA E SILVA
LARISSA CHMLOUSKI TARACIUK**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO COM LAMPADAS LED NA
PRODUÇÃO E QUALIDADE DO VINHO TINTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título Bacharel do Departamento de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Silva

PONTA GROSSA

2016



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Monografia

por

Flavia Ravagnani Vieira e Silva e Larissa Chmilouski Taraciuk

Monografia apresentada no dia 03 de novembro de 2016 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO COM LÂMPADAS LED NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO VINHO TINTO** (aprovado, aprovado com restrições ou reprovado).

Profa. Dra. Maria Helene Giovanetti Canteri
(UTFPR)

Prof. Luciano Moro Tozetto
(UTFPR)

Prof. Dr. Marcio Silva
(UTFPR)
Orientador

Profa. Dra. Priscilla dos Santos Gaschi Leite
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradecemos à Deus pela vida e pelos desafios e conquistas alcançadas ao longo de nossa caminhada.

Somos gratas aos nossos pais Sionéia Ravagnani Silva e Edvaldo Vieira e Silva e Otilia Chmilouski Taraciuk e Pedro Taraciuk, nossos irmãos Daniel Ravagnani Vieira e Silva e Aline Chmilouski Taraciuk, pessoas que são nossa base e que nos deram apoio em todos os momentos.

Agradecemos ao nosso orientador, Professor Doutor Marcio Silva e ao Professor Doutor José Luiz Ferreira da Trindade, ao Luciano Moro Tozetto ao Professor Doutor Eduardo Chaves pelo suporte durante a execução do projeto, como também à todos os professores que de alguma forma nos apoiaram, seja de forma direta ou indireta, na construção do presente trabalho.

Agradecemos também à vinícola Di Sandi por gentilmente compartilhar suas técnicas, como também parte do material necessário para o projeto, bem como à UTFPR pela oportunidade de desenvolver a pesquisa e pela bolsa ofertada para que ela se tornasse realidade.

RESUMO

SILVA, Flavia Ravagnani Vieira e; TARACIUUK, Larissa Chmilouski. **ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO COM LÂMPADAS LED NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO VINHO TINTO**. 2016. 58 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso Bacharelado em Engenharia Química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Neste trabalho foi avaliada a influência da fotoestimulação com lâmpadas LED azul e verde na fermentação de uvas para a produção de vinho tinto. Também, foi avaliada a influência da fotoestimulação na densidade, pH e acidez, °Babo, °GL, cor, teor de fenólicos totais e antocianinas no produto final. O mesmo mosto foi utilizado em todas as amostras e as mesmas foram alocadas em estufa BOD com controle de temperatura, inicialmente mantida a 20°C. As amostras fotoestimuladas apresentaram uma produção de álcool superior ao apresentado pela amostra escura durante a fermentação tumultuosa, sendo que, passadas 70 horas de fermentação, estas apresentaram, em média, um teor alcoólico de 10 °GL enquanto o encontrado na amostra mantida na ausência de luz era de 7 °GL. Também o rendimento e a produtividade durante a fermentação tumultuosa foi maior para as amostras fotoestimuladas. As maiores concentrações de compostos fenólicos também foram encontradas nas amostras fotoestimuladas com luz verde e azul, porém, a amostra mantida na ausência de luz apresentou maior concentração de antocianinas. As três amostras apresentaram acidez e pH dentro do padrão para vinho tinto de mesa. Em relação à cor, a amostra fotoestimulada com luz azul apresentou maior índice e intensidade de cor, e a amostra fotoestimulada com luz verde apresentou maior tonalidade.

Palavras-chave: Fermentação. Vinho tinto. Fotoestimulação. LED.

ABSTRACT

SILVA, Flavia Ravagnani Vieira e; TARACIUK, Larissa Chmilouski. **STUDY OF THE INFLUENCE OF THE FOTOSTIMULATION WITH LED LAMPS IN THE RED WINE PRODUCTION AND QUALITY.** 2016. 58 p. Work of Conclusion Course. Bachelor of Chemical Engineering. Federal Technology University - Parana. Ponta Grossa, 2016.

In this work, the influence of the photostimulation with blue and green LED lamps in the fermentation of grapes for the production of red wine was evaluated. Also, the influence of photostimulation on the density, pH and acidity, ° Babo, ° GL, color, total phenol and anthocyanins content in the final product were evaluated. The same must was used in all the samples and they were allocated in BOD with controled temperature, initially maintained at 20°C. The photostimulated samples had an alcohol production higher than that presented by the dark sample during the tumultuous fermentation, and after 70 hours of fermentation, they had, on average, an alcohol content of 10 ° GL while that found in the sample maintained in the absence of light was 7 ° GL. Also the yield and productivity during the tumultuous fermentation was higher for the photostimulated samples. The highest concentrations of phenolic compounds were also found in the photostimulated samples with green and blue light, but the sample maintained in the absence of light showed a higher concentration of anthocyanins. The three samples presented acidity and pH according with the standard for red table wine. Regarding the color, the sample photostimulated with blue light had a higher color index and color intensity, and the sample photostimulated with green light had a higher color tonality

Keywords: Fermentation. Red wine. Photostimulation. LED.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura básica dos flavonoides	20
Figura 2 – Estrutura química das antocianinas	20
Figura 3 - Fases do crescimento microbiano.....	26
Figura 4 - Ciclo de crescimento celular e cinética de fermentação em um mosto de uva com alto teor de açúcar (Adaptado)	27
Figura 5 - Fluxograma do processo de vinificação.	39
Fotografia 1 - Mosto preparado manualmente.	43
Fotografia 2 - Reatores com lâmpadas LED.	37
Fotografia 3 - Reatores já com o mosto, armazenados em DBO.	44
Gráfico 1 - Teor alcoólico médio alcançado pelas amostras em função do tempo de fermentação	45
Gráfico 2 - Variação de temperatura no decorrer da fermentação	46
Gráfico 3 – Índice de cor das amostras fotoestimuladas e controle. *Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$	48
Gráfico 4 - Resultados obtidos nas análises de acidez total em Meq/L. Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Intensidade média de fermentação e de respiração (mm ³ de O ₂ consumido e CO ₂ liberado/g de leveduras secas) de diversas espécies de <i>Saccaromyces cerevisiae</i> em função da temperatura. (Tradução livre).....	30
Tabela 2 - Dados coletados ao final da fermentação	46
Tabela 3 - Valores médios para rendimento e produtividade para as amostras.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 UVAS PARA PRODUÇÃO DE VINHO.....	16
2.2 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS VINHOS	18
2.3 COMPOSIÇÃO DO VINHO TINTO.....	18
2.4 PROCESSO PRODUTIVO DE VINHO TINTO	21
2.4.1 Recebimento e Análise da Uva.....	21
2.4.2 Desengace e esmagamento	21
2.4.3 Sulfitagem	22
2.4.4 Chaptalização e Adição de Enzima	22
2.4.5 Maceração	23
2.4.6 Fermentação Alcoólica	24
2.4.6.1 Leveduras	25
2.4.6.2 Cinética da Fermentação	26
2.4.7 Remontagem	30
2.4.8 Prensagem.....	31
2.4.9 Fermentação Malolática.....	31
2.4.10 Trasega, Atesto e Filtração	32
2.4.11 Engarrafamento e estabilização do vinho na garrafa	33
2.5 LIGHT EMITTING DIODE (LED).....	33
2.6 FOTOESTIMULAÇÃO	34
3 METODOLOGIA	37
3.2 FERMENTAÇÃO	38
3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL.....	39
3.4 ANÁLISE DA COR.....	39
3.5 FENÓLICOS TOTAIS	40
3.6 ANTOCIANINAS	40
3.7 PH	41

3.8 ACIDEZ TOTAL	41
3.9 RENDIMENTO E PRODUTIVIDADE DA FERMENTAÇÃO.....	42
3.10 TRATAMENTO DOS DADOS	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos oriundos do processo fermentativo fazem parte da vida do homem desde a antiguidade. Os egípcios fabricavam pão e produziam bebidas alcoólicas a partir cereais e frutas há mais de 4000 anos. Entretanto, somente a com os estudos de Pasteur, as transformações que ocorriam nos alimentos passaram a ser relacionadas às leveduras.

A importância econômica dos produtos obtidos por fermentação deu destaque aos processos biotecnológicos envolvendo a levedura do gênero *Saccaromyces*, acarretando uma evolução em seus processos produtivos, destacando a produção de bebidas como o vinho e a cerveja.

Nesse cenário, pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) descobriram que a fotoestimulação é capaz de acelerar a fermentação na produção de cerveja, acelerando o metabolismo da levedura, reduzindo o tempo gasto na fermentação sem alterar a qualidade da bebida.

Embora haja atualmente um extenso emprego de fontes de luz como lasers e LEDs em diversas técnicas terapêuticas como, por exemplo, no tratamento de úlceras e dermatites, pouco se sabe sobre as influências desse recurso na produção de alimentos.

De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade, vinho é exclusivamente a bebida resultante da fermentação alcoólica completa ou parcial da uva fresca, esmagada ou não, ou do mosto simples ou virgem, com um conteúdo de álcool adquirido mínimo de 7%(V/V a 20°C).

Comparada a países europeus, a viticultura no Brasil é considerada uma atividade recente, porém em notável expansão. De acordo com a IBRAVIN, somente no estado do Rio Grande do Sul, foram produzidos 442,50 milhões de litros em 2015 contra 276,33 em 2006.

A grande demanda do produto para consumo interno e para exportação, faz com que as vinícolas busquem meios de otimizar a produção, diminuindo custos ou o tempo despendido no processo.

1.1 PROBLEMA

A fotoestimulação é capaz de acelerar a fermentação do vinho tinto sem alterar significativamente as propriedades do produto final?

1.2 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência da luz em duas regiões do espectro visível, verde ($\lambda = 495\text{--}570\text{ nm}$) e azul ($\lambda = 450\text{--}495\text{ nm}$) sobre a fermentação do vinho tinto.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um dispositivo que possibilite a aplicação da fotoestimulação na fermentação do vinho tinto.
- Acompanhar o processo fermentativo do vinho tinto sob influência da luz em diferentes comprimentos de onda por meio do consumo do substrato e produção de álcool.
- Realizar análises físico-químicas (cor, fenólicos totais, antocianinas, pH e teor alcoólico) no produto final obtido pela fermentação sob influência da luz como no produto final obtido na ausência de luz e verificar qual o impacto da fotoestimulação na qualidade do produto final.

1.4 JUSTIFICATIVA

Considerando a expansão da viticultura no Brasil e os recentes estudos sobre o uso da fotoestimulação na produção de cerveja apresentados na patente registrada por pesquisadores da USP em 2013, com destaque a uma forte interação da luz no processo de fermentação alcoólica, vislumbrou-se a possibilidade do estudo da técnica aplicada ao vinho tinto.

Dessa forma, a obtenção de resultados positivos para o presente estudo poderá contribuir para redução do tempo da fermentação do vinho tinto, algo interessante para as indústrias do ramo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 UVAS PARA PRODUÇÃO DE VINHO

De acordo com Venturini Filho (2005), o cacho da uva é composto pelo engaço, parte herbácea que representa de 4 a 10% de seu peso total e pelas bagas ou grãos, com composição variando de acordo com a cultivar, como apresentado no Tabela 1.

Tabela 1 - Massa total dos componentes da baga da uva em porcentagens

Componente	% Massa total
Casca ou película	20 a 40%
Sementes	2 a 8%
Polpa	52 a 78%

Fonte: Venturini Filho (2005)

Na produção de uvas para processamento cultivam-se videiras do gênero *Vitis* das espécies *Vitis vinífera*, *Vitis labrusca* ou híbridas. Atualmente as cultivares de *Vitis vinífera* mais cultivadas no Brasil são Cabernet Sauvignon, Cabernet, Franc, Merlot, Tannat e Pinot Noir, utilizadas na produção de vinhos tintos finos e licorosos. Enquanto as cultivares de *Vitis labrusca* mais importantes são Isabel Bordô, Concord e Seibel, utilizadas na produção de vinhos tintos de mesa (VENTURINI FILHO, 2005).

Segundo a Embrapa (2002), no Brasil, as primeiras videiras foram trazidas cultivadas por colonizadores portugueses em 1532, na capitania de São Vicente, atual estado de São Paulo. A partir de então a atividade se espalhou pelo país sempre com cultivares de *Vitis vinifera* procedentes de Portugal e da Espanha.

No século XIX a cultivar Isabel (*Vitis labrusca*) foi a base para o desenvolvimento da vitivinicultura comercial na região Sudeste e Sul do Brasil, panorama que mudou significativamente com a substituição da Isabel por Niágara e Seibel 2, no estado de São Paulo (EMBRAPA, 2002).

A partir do plantio de vinhedos comerciais de uva de mesa na região do Vale do Rio São Francisco, na década de 1960, a viticultura tropical brasileira se

desenvolveu definitivamente. Em seguida surgiram pólos produtores de uvas finas para consumo *in natura*, no Paraná, nos anos 70, e no nordeste de São Paulo e norte de Minas Gerais, nos anos 80 (EMBRAPA, 2002).

Atualmente tem crescido significativamente o cultivo de híbridos desenvolvidos pela Embrapa. As uvas produzidas a partir deles são utilizadas na produção de vinho tinto de mesa com qualidade superior aos produzidos com uvas *V. labrusca*. Os híbridos possuem maior resistência à pragas e às doenças e, em alguns casos, maior longevidade (VENTURINI FILHO, 2005).

A obtenção de vinho de qualidade depende de um grande número de fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados, resultam em um aumento significativo da qualidade do produto. Um destes fatores é o índice de maturação, referente a evolução completa da uva, que compreende quatro períodos: herbáceo, mudança de cor, maturação e sobrematuração (EMBRAPA, 2003).

O critério mais utilizado para a aferição do índice de maturação das uvas é grau glucométrico, ou teor de açúcar, medido em escala de graus Babo que representa a quantidade de açúcar, em peso, existente em 100 g de mosto (caldo da uva), ou em escala de graus Brix, que representa o teor de sólidos solúveis totais na amostra (%/volume de mosto). Esta medida pode ser feita diretamente no vinhedo, com a ajuda de um equipamento de bolso chamado refratômetro (EMBRAPA, 2003).

Os açúcares predominantes na uva são a glicose e a frutose, predominando a glicose no início da maturação. À medida que a maturação avança, a relação glicose/frutose diminui, chegando a um ponto em que os teores dos dois açúcares se equivalem, até alcançarem a sobrematuração, onde predomina a frutose (EMBRAPA, 2003).

Além disso, antes da colheita também é possível quantificar os açúcares, ácidos e polifenóis a partir do índice de maturação fenólica, visando a produção de alta longevidade e excelente qualidade (VENTURINI FILHO, 2005).

Todos estes cuidados e quantificações de compostos são determinantes para que a colheita seja realizada no momento ideal, outro fator determinante para a qualidade da fruta e, conseqüentemente, dos vinhos (EMBRAPA, 2003).

2.2 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS VINHOS

Para Blouin e Peynald (2006), o vinho é a bebida proveniente da fermentação pelas células de leveduras e, em certos casos, pelas células de bactérias lácticas, do sumo do esmagamento ou maceração das células da uva.

A Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988, do Ministério da Agricultura, define o vinho como exclusivamente a bebida resultante da fermentação alcoólica completa ou parcial da uva fresca. Dentre uma grande variedade da bebida, classificam-se como vinho tinto de mesa os produzidos a partir de *Vitis labrusca*, uvas e outras espécies americanas ou de seus híbridos e como vinho tinto de mesa fino os produtos de uvas *Vitis vinifera*, ambos com grau alcoólico entre 10 e 13° GL e acidez total entre 55 e 130 mEq.L⁻¹. Além disso, quanto ao teor de açúcares totais (grama de glicose por litro de vinho) o vinho de mesa poderá ser seco (máximo 5,0 g.L⁻¹), meio seco (5,1 - 10 g.L⁻¹) e suave (acima de 20,1 g.L⁻¹).

Ainda de acordo com a legislação vigente, no Brasil, é proibida a adição de qualquer quantidade de álcool ao vinho e de qualquer produto que não conste das respectivas práticas enológicas lícitas. Por outro lado, caso as uvas não contenham o teor de açúcar necessário, é permitida sua adição para correção do mosto. É proibida, também, a obtenção de vinho tinto de mesa a partir de uma segunda fermentação do bagaço da uva.

Vinhos tintos também se diferenciam uns dos outros de acordo com sua longevidade, determinada por sua estrutura química. Vinhos jovens, aptos para consumo logo após sua produção, possuem longevidade limitada e provavelmente não manterão suas características sensoriais intactas por mais de três anos. Já vinhos que precisam evoluir suas características sensoriais para serem consumidos são chamados de vinhos de guarda e possuem vários anos de longevidade (VENTURINI FILHO, 2005).

2.3 COMPOSIÇÃO DO VINHO TINTO

Em geral, o vinho tinto é uma mistura complexa de um grande número de compostos químicos. Estima-se que existem entre 800 e 1000 compostos diferentes neste produto. Em média, o vinho tinto contém 86% de água (proveniente

exclusivamente das uvas), 12% de etanol, 1% de glicerol, 0,4% de diversos ácidos e 0,1 % de taninos e fenólicos (BRUNNING, 2014).

Em análise quantitativa, o principal componente do vinho, depois da água, é o etanol, produto resultante da fermentação. O etanol é um componente importante para estabilidade, o envelhecimento e as propriedades sensoriais do vinho, com papel importante na extração de pigmentos e taninos e na dissolução de compostos voláteis (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

Depois do etanol e do dióxido de carbono, o glicerol é o produto mais abundante do metabolismo das leveduras. Esse produto afeta positivamente a qualidade do vinho, conferindo melhor textura ao produto (CARLSON, 2004).

Além do etanol e do glicerol, estão presentes no vinho os álcoois superiores, formados pelo metabolismo das leveduras, a partir dos açúcares e aminoácidos contidos no mosto. Esses compostos podem ter um efeito aromático nos vinhos, melhorando sua qualidade sensorial (BLAZQUEZ, 2004).

Para Rib'ereau-Gayon, Dubourdieu e Don'eche (2006), os ácidos orgânicos contribuem para a composição, estabilidade e qualidades organolépticas do vinho, preservando as propriedades e conferindo estabilidade microbiológica e físico-química aos vinhos. De acordo com Aquarone (2001), os ácidos mais abundantes no vinho são o tartárico, málico, cítrico (provenientes da uva), láctico, succínio e acético (resultados da fermentação).

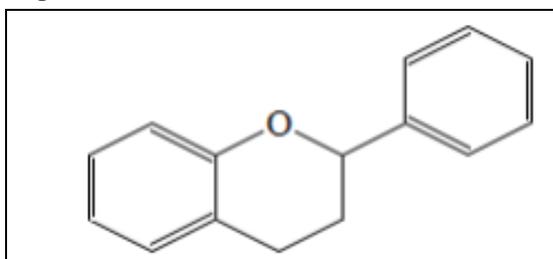
Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas sintetizados em resposta a condições de estresse, onde atuam como agentes antipatogênicos e também de pigmentação. Quando presentes nos alimentos conferem cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. No metabolismo humano exercem atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (MALACRIDA; MOTA, 2005).

As uvas apresentam alto teor de compostos fenólicos. São classificados em flavonoides (flavanóis, flavonas e antocianinas), não-flavonoides (ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos) e estilbenos (resveratrol e polifenol). A diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, relação que se estende aos vinhos (ABE *et al*, 2007).

A classe dos não-flavonoides não apresenta uma estrutura química em comum. Os flavonóides caracterizam-se por apresentar dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um heterociclo

oxigenado denominado núcleo flavano, alterações nesta estrutura definem as classes de flavonoides e os compostos específicos, como pode ser visto na Figura 1 (ABE *et al*, 2007).

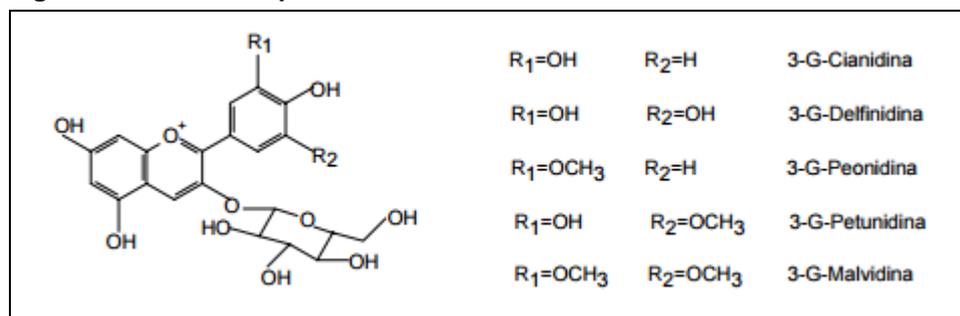
Figura 1 - Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: Ferreira (2013)

As antocianinas (Figura 2) são flavonoides, ou seja, possuem o núcleo flavano como estrutura básica, amplamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho, presentes em flores e frutos, onde atuam como sinalizadores para insetos e conferem proteção em condições de estresse. Em uvas tintas, estão presentes nas primeiras camadas de células das cascas conferindo a coloração bordô nos vinhos tintos (CABRITA, DA SILVA; LAUREANO, 2003; ABE *et. al*, 2007).

Figura 2 – Estrutura química das antocianinas



Fonte: Cabrita, Da Silva, Laureano (2003)

São encontradas como glicosídeos, ou seja, uma molécula de antocianidina ligada a açúcar, normalmente glicose, fator que possibilita sua diferenciação, uma vez que uvas das cultivares *Vitis vinifera* apresentam uma molécula de glicose, enquanto as das cultivares *Vitis labrusca* apresentam duas ou três moléculas do açúcar (GUERRA; BARNABÉ, 2005; AQUARONE, 2001).

A estabilidade das antocianinas é dependente da estrutura e da concentração dos pigmentos, além de fatores como o pH, a temperatura e a presença de oxigênio e luz ou da combinação destes. Sua degradação pode ocorrer por vários

mecanismos, iniciando com perda da cor, seguida do surgimento de coloração amarelada e formação de produtos insolúveis (LOPES *et al*, 2007).

Os açúcares presentes na uva são consumidos pelas leveduras durante a fermentação. Entretanto, ao final desta, permanece um resíduo de açúcares redutores, formados por açúcares secundários (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4 PROCESSO PRODUTIVO DE VINHO TINTO

Para Amarante (2015), vinificação é todo o processo de transformação de uvas em vinho, da colheita ao engarrafamento. Envolve uma série de cuidados e técnicas especiais de desenvolvimento ao longo do tempo, descritas a seguir.

2.4.1 Recebimento e Análise da Uva

De acordo com Rizzon (2006), o processamento do vinho tinto inicia-se com o recebimento da uva. A uva é recebida em caixas de plástico de 20 kg, furadas na parte inferior, para escorrer o mosto proveniente da uva esmagada. Após o recebimento, avalia-se o estado sanitário da uva, confirma-se o cultivar utilizado e a matéria-prima é pesada. Também, uma amostra é retirada para a determinação da composição analítica do mosto.

2.4.2 Desengace e esmagamento

O desengace tem como objetivo separar o engaço para evitar a adstringência, o amargor e gosto desagradável, conferidas pelos taninos presentes nessa parte da planta. O esmagamento é responsável por liberar o suco contido na polpa e facilitar a dissolução da matéria corante. Durante o esmagamento é importante evitar a trituração das cascas e sementes, o que contribuiria para a formação da borra e o aparecimento do sabor herbáceo (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4.3 Sulfitagem

De acordo com Rib'ereau-Gayon *et al* (2006), o uso de SO₂ na enologia é anterior ao Século XVIII. Suas propriedades o fazem indispensável para a produção de vinho. Dentre essas podem ser citadas:

Propriedade Antisséptica: O SO₂ é capaz de inibir ou destruir as leveduras e as bactérias. É particularmente mais eficaz sobre as leveduras selvagens e sobre as bactérias acéticas. Ao destruir as leveduras pouco eficazes, o sulfito favorece as cepas ativas. E ao eliminar as bactérias acéticas, evita o avinagramento do vinho (BLOUIN; PEYNALD, 2006).

Propriedade Antioxidante: O SO₂ reage com oxigênio dissolvido presente no mosto. Isso protege o vinho das oxidações químicas excessivas dos compostos fenólicos, prevenindo a produção do aroma amadeirado. Também reduz o potencial de oxidação-redução, favorecendo o desenvolvimento do sabor e do aroma durante o envelhecimento do vinho (RIB'EREAU-GAYON *et al*, 2006).

Propriedade Antioxidásica: O gás sulfuroso inibe as enzimas da podridão do cacho de uva, as quais oxidam e deixam turvos os mostos de vinho (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

O metabissulfito de potássio é um sal de coloração branca solúvel em água e que libera SO₂. É largamente utilizado para a sulfitagem, adicionado ao mosto durante o esmagamento. As quantidades de metabissulfito acrescentadas ao mosto variam de 5 a 10 g/100 L de mosto, de acordo com a sanidade das uvas utilizadas (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4.4 Chaptalização e Adição de Enzima

De acordo com Hornsay (2007), a chaptalização é adição de açúcar no mosto. É um importante processo nas áreas em que as uvas contém açúcar endógeno insuficiente. O nome chaptalização vem de Jean Antoine Chaptal, ministro da agricultura de Napoleão, que formalmente sancionou esse processo em 1801. A chaptalização ocorre com o propósito de aumentar a qualidade do vinho.

As uvas devem apresentar um grau de maturação que permita obter um vinho com, no mínimo, 10,5 graus de álcool (°GL), o que corresponde a aproximadamente

18 graus Babo ($^{\circ}$ Babo). Fatores como o excesso de produção, o uso abusivo da adubação nitrogenada e o clima podem diminuir o teor de açúcar das uvas. Para corrigir o mosto, deve-se utilizar somente açúcar de cana, sob a forma de açúcar cristal ou refinado. O primeiro passo para a chaptalização é medir o grau Babo do mosto (RIZZON, 1994).

Para obtenção de 1 $^{\circ}$ GL adiciona-se 18 g.L⁻¹ de açúcar no mosto. A legislação brasileira estabelece que a chaptalização não deve ultrapassar a correção máxima de 3 $^{\circ}$ GL (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

As enzimas mais conhecidas para enologia são as pectinases, hemicelulases, glicosidases e as glucanases. As mais importantes são as pectinases, capazes de aumentar a extração da cor e dos taninos da uva, além de facilitar a clarificação do produto final (HORNSAY, 2007).

2.4.5 Maceração

A resolução n $^{\circ}$ 126/2009 da Organização Internacional da Uva e do Vinho (OIV) define a maceração como um procedimento que consiste em deixar as cascas e as sementes (parte sólida da uva) em contato com o mosto por um determinado período, o qual pode ser antes, durante e depois da fermentação alcoólica.

Segundo Rib'ereau-Gayon et al (2006), a maceração confere aos vinhos tintos todas suas características específicas, visuais, olfativas e gustativas, as quais os diferencia dos vinhos branco. Os compostos fenólicos são extraídos nesse processo, sendo responsáveis pela cor e a estrutura em geral do vinho. Ainda, o aroma e os precursores do aroma, compostos nitrogenados, polissacarídeos e outros compostos são liberados para o mosto durante a maceração.

A duração da maceração varia conforme o tipo de vinho a ser elaborado. Para a produção de vinhos rosados, o tempo médio de maceração é de 24 a 74h, para o tintos a maceração dura de 3 a 6 dias, enquanto que para os vinhos encorpados e envelhecidos o processo pode se estender por até 20 dias. A maceração tradicional ocorre durante a fermentação alcoólica (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4.6 Fermentação Alcoólica

Para Ough (1992), o melhor vinho somente pode ser feito a partir das melhores uvas, porém, não é difícil de produzir um vinho pobre a partir das boas uvas. A fermentação é um dos passos mais importantes da vinificação, pois os maiores danos ao produto final podem ocorrer durante esta etapa do processo.

A transformação de suco de uva em vinho é um processo bioquímico complexo, que envolve a interação entre leveduras, bactérias, outros fungos e até mesmo vírus. A fermentação alcoólica é a mais importante reação, conduzida pelas leveduras, algo que começou a ser compreendido a partir dos estudos de Pasteur, em 1855 (FLEETH, 1993).

Na visão de Jackson (2008), a fermentação é uma forma de metabolismo no qual o substrato e o produto final são produtos orgânicos. A fermentação difere da respiração no fato de não requerer o envolvimento de oxigênio molecular. A via mais comum de fermentação é a transformação de glicose em etanol.

De acordo com Blouin e Peynaud (2006), a fermentação alcoólica é uma transformação química, que ocorre por meio das enzimas contidas no interior das leveduras.

Durante a fermentação, as leveduras utilizam açúcares e outros constituintes do suco de uva para o seu crescimento, produzindo álcool, dióxido de carbono e outros metabólitos secundários que contribuem para a composição e a qualidade sensorial do vinho (FLEETH, 1993).

A equação de Gay Lussac, proposta em 1814, representa simplificada o processo fermentativo:



Esta equação indica que a cada 180 g de açúcares no mosto, é possível produzir 92 g de etanol e 88 g de gás carbônico. Dessa forma, o máximo rendimento teórico de etanol é 51,1% do peso molecular do açúcar. Porém, na prática, o rendimento de etanol é menor, pois parte do substrato é utilizado para o crescimento celular, como também para a produção de outros compostos. Além do mais, a eficiência das leveduras para fermentação não é perfeita ou constante e uma

pequena fração de álcool escapa com o dióxido de carbono liberado pelo processo. Por isso, o rendimento médio de etanol na fermentação é aproximadamente de 47% do peso de açúcar (COOKE, 2004).

2.4.6.1 Leveduras

As leveduras são um grande grupo de fungos unicelulares, os mais simples dos eucariontes, que podem existir sob diversas condições e podem utilizar inúmeras substâncias como alimento. A célula desses organismos contém membrana celular, citoplasma com várias organelas e um núcleo envolvido por uma membrana. Como as plantas, as leveduras apresentam a membrana plasmática e a parede celular. Tanto a membrana como a parede celular contribuem para o sucesso da fermentação, como também, liberam certos compostos que adicionam aroma e sabor ao vinho (RIB'EREAU-GAYON et al, 2006; OUGH, 1992).

Existem mais de 500 espécies de leveduras, mas apenas 20 delas são relevantes para a produção de vinho (FLEETH, 1993). Isso se deve ao fato de que poucas apresentam as características necessárias para a vinificação. Quais sejam: (a) crescimento em um meio ácido; (b) resistência ao alto conteúdo de álcool (maior que 10%); (c) resistência ao sulfito (OKAFOR, 2007).

As leveduras responsáveis pela fermentação podem ser provenientes de duas fontes distintas: (a) superfície da uva; (b) culturas inoculadas (FLEETH, 1993). A superfície da uva apresenta um número reduzido de cepas desses fungos. Além do mais, as leveduras selvagens são pouco fermentativas e são sensíveis ao sulfito adicionado ao mosto. Dessa forma, a principal fonte de leveduras para a fermentação é a inoculação de cepas previamente selecionadas. Durante a inoculação devem ser 20 g de levedura secas para cada 100 L de mosto (BLOUIN; PEYNAUD, 2006; GUERRA; BARNABÉ, 2005).

A espécie mais empregada para o processo fermentativo é a *Saccharomyces cerevisiae*, devido à sua resistência às condições do meio (mosto), adaptação ao metabolismo fermentativo, alto rendimento, além das propriedades organolépticas favoráveis que conferem ao produto final (KÖNIG; UNDEN; FRÖHLICH, 2009).

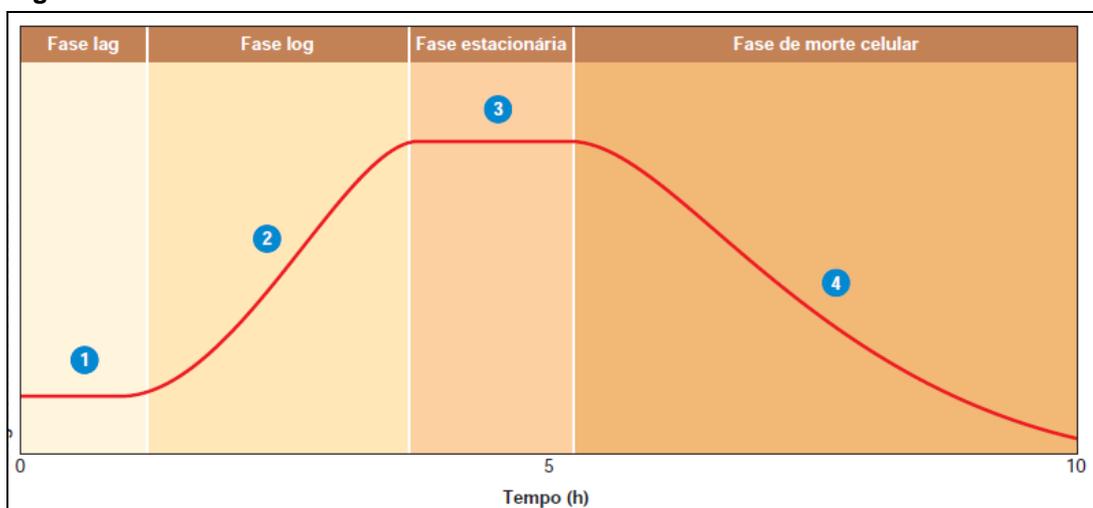
Diferentemente de outras espécies, os organismos *Saccharomyces cerevisiae*, apesar de serem capazes de respirar, têm preferência pela fermentação

para produção de energia, mesmo na presença de oxigênio. Esse organismo é tão adaptado à fermentação, que gera tantas ATPs no processo fermentativo quanto durante a respiração. Essa habilidade é parcialmente baseada (a) na presença da enzima ADH; (b) a alta concentração de enzimas glicolíticas no citoplasma; (c) ao fato da mitocôndria só produzir enzimas respiratórias em caso de falta de substrato fermentativo; (d) a tolerância à alta concentração de álcool e ácido; (e) ao fato da espécie ser osmo-tolerante; (f) da capacidade de se multiplicar muitas vezes na ausência de oxigênio (JACKSON, 2008).

2.4.6.2 Cinética da Fermentação

O crescimento dos microrganismos durante a fermentação em batelada é dividido em fases: fase lag, log ou exponencial, estacionária e declínio, como pode ser visto na Figura 3 (FLEETH,1993).

Figura 3 - Fases do crescimento microbiano



Fonte: Tortora; Funke e Case (2012)

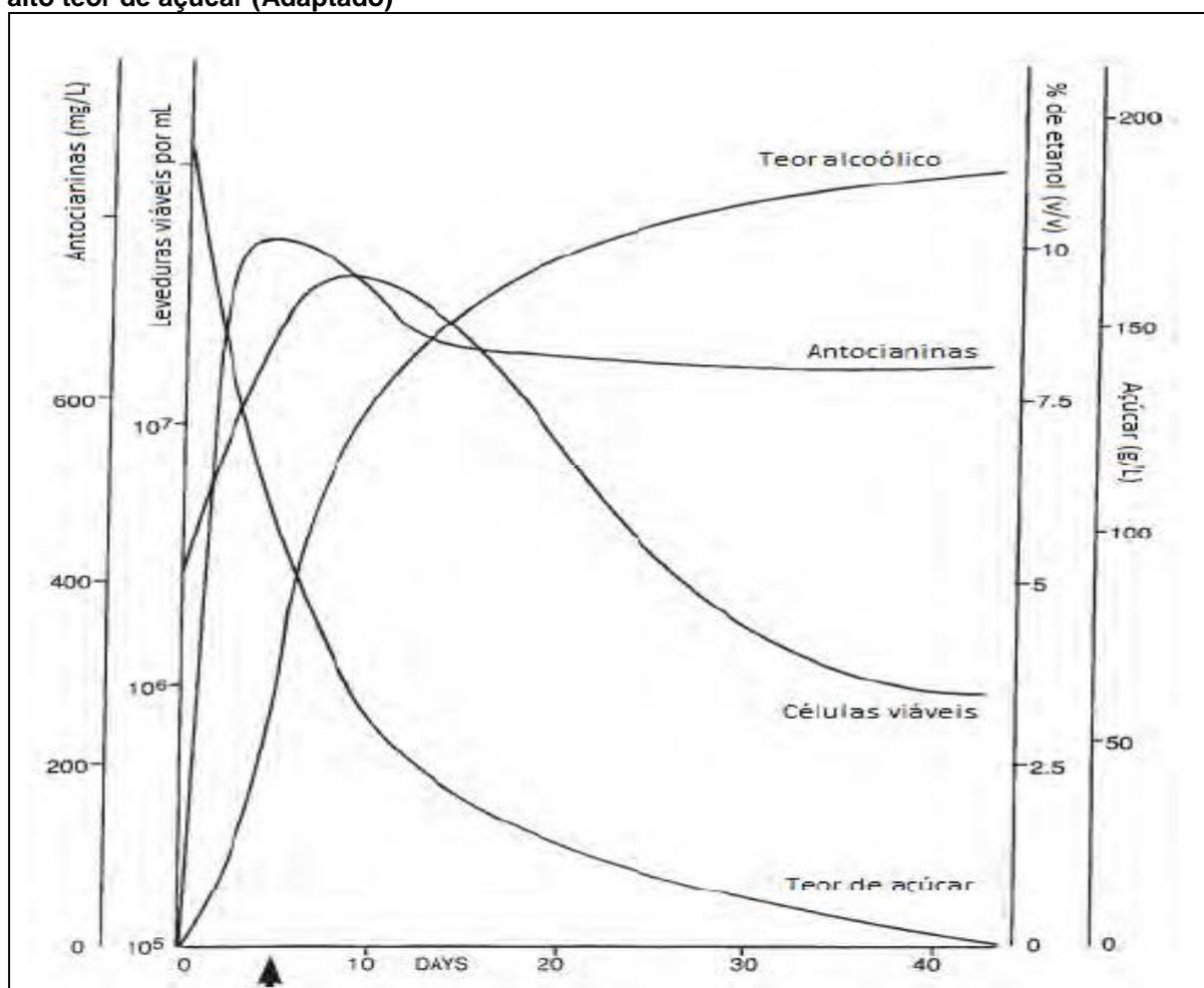
Durante a fase lag, há pouca ou nenhuma multiplicação celular, pois os microrganismos precisam se aclimatar ao novo meio. Nesse período, os microrganismos passam por uma intensa atividade metabólica, ocorrendo predominantemente a síntese de enzimas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Na fase log ou exponencial, a reprodução celular é mais ativa, ou seja, a população entra em um período de crescimento, ou aumento logarítmico. A fase log

é o momento de maior atividade metabólica, sendo o preferido para fins industriais (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Na fase estacionária, ocorre o equilíbrio entre o número de novas células e o número de mortes. O esgotamento dos nutrientes, o acúmulo de resíduos tóxicos e mudanças no pH podem ser as causas para a interrupção do crescimento. Enfim, o número de mortes supera a quantidade de novas células, ou seja, inicia-se a fase declínio da população de microrganismos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Figura 4 - Ciclo de crescimento celular e cinética de fermentação em um mosto de uva com alto teor de açúcar (Adaptado)



Fonte: Jackson (2008)

Como pode ser observado na Figura 4, durante a fermentação de vinho, enquanto substrato (açúcares) é consumido, há a produção de etanol e de diversos subprodutos. Inicialmente, na fase log há o aumento da população de leveduras, porém, com o aumento de etanol e outras substâncias tóxicas no meio, inicia-se a fase de declínio da população de leveduras (JACKSON, 2008).

As velocidades de fermentação variam muito. Em condições ótimas, podem chegar a valores de 4 a 6 g de açúcares por litro por hora, com uma velocidade instantânea de 8% vol/h (BLOUIN; PEYNAUD, 2006).

Existem inúmeros fatores que influenciam a velocidade da fermentação, como a disponibilidade de fonte de carbono e de compostos nitrogenados, vitaminas e outros nutrientes, concentração de álcool, presença de CO₂, temperatura, aeração, entre outros.

As maiores fontes de energia para a fermentação são a glicose e a frutose. Outros nutrientes podem ser usados, mas estão presentes em poucas quantidades, ou são pobremente incorporados pelas células, ou só podem ser utilizados na presença de oxigênio. A sacarose, por exemplo, precisa ser hidrolisada por enzimas invertases, transformando-se em glicose e frutose (JACKSON, 2008; GUERRA; BARNABÉ, 2005)

A concentração de açúcar no mosto está entre 170 e 220 g/L, para vinhos com 10 a 13 % vol de etanol no produto final. A fermentação é bastante lenta em mostos com concentrações de açúcar menores que 15 g/L. Aumentando o teor de açúcar até 200 g/l há um acréscimo da velocidade de formação de produto. Acima deste valor, a população de células decresce, ou seja, a fermentação passa a ser lenta, e inexistente para concentrações de açúcar superiores a 600 g/L (RIB'EREAU-GAYON *et al*, 2006;).

As leveduras necessitam de nitrogênio assimilável, constituído por nitrogênio amoniacal e diversos aminoácidos. O teor mínimo de nitrogênio necessário para fermentação completa é de 0,15 g/L. Os níveis ótimos variam de 0,4 a 0,5 g/L. Um excesso de nitrogênio favorece a produção de Carbamato de Etila, que pode modificar o caráter aromático do produto final (GUERRA; BARNABÉ, 2005; BLOUIN; PEYNAUD, 2006).

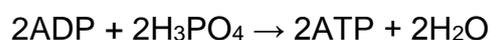
As vitaminas, compostos muito importantes para o crescimento das leveduras, são componentes essenciais das coenzimas e envolvidas nas reações metabólicas. O mosto deve ser rico em vitaminas, como tiamina, riboflavina, biotina, entre outras, para o melhor desenvolvimento dos microrganismos (RIB'EREAU-GAYON *et al*, 2006; BLOUIN; PEYNAUD, 2006).

A espécie *Saccharomyces cerevisiae* apresenta uma insensibilidade considerável à toxicidade do etanol, comparada às outras espécies de levedura. Apesar disso, a partir da concentração de 13% em volume de etanol, inicia-se a

inibição da atividade fermentativa. Acredita-se que o etanol destrói a capacidade da célula de controlar as funções citoplasmáticas, levando a perda de nutrientes e o rompimento do gradiente eletroquímico através da membrana plasmática (JACKSON, 2008).

O gás carbônico, produto da fermentação, produz correntes de convecção no mosto que auxiliam no equilíbrio dos nutrientes e na manutenção da temperatura no interior dos fermentadores (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

A fermentação libera 40 kcal de energia livre por molécula. As leveduras usam parte dessa energia para assegurar suas funções vitais e produzir duas moléculas de ATP para cada molécula de açúcar:



São consumidos 7,3 kcal de energia para formar uma molécula de ATP. A diferença, 25,4 kcal é energia não utilizada, que se dissipa na forma de calor, aquecendo o meio em que ocorre fermentação. Esse calor liberado pode, teoricamente, aumentar a temperatura do meio de 20 para 45 °C, o que mataria as leveduras. Por isso, o controle de temperatura é essencial para obter um bom resultado da fermentação (RIB'EREAU-GAYON et al, 2006).

Diversos estudos demonstram que a taxa de metabolismo celular, durante a fermentação alcoólica, aumenta com o aumento da temperatura, na faixa de 15 a 30° C, como pode ser visto na Tabela 2 (RIB'EREAU-GAYON et al, 2006).

A temperatura afeta a velocidade e os limites de fermentação. Entre 15 °C e 35 °C a duração da fase latente se torna menor conforme a temperatura aumenta. Por exemplo, um mosto de uva com concentração máxima 200 g/L de açúcar leva muito tempo para fermentar na temperatura de 10 °C, 15 dias para fermentar a 20 °C e de 3 a 4 dias para fermentar a 30 °C. Já para mostos com concentrações de açúcar superiores, a fermentação se torna mais limitada conforme a temperatura aumenta (RIB'EREAU-GAYON et al, 2006).

Tabela 2 - Intensidade média de fermentação e de respiração (mm³ de O₂ consumido e CO₂ liberado/g de leveduras secas) de diversas espécies de *Saccaromyces cerevisiae* em função da temperatura (Tradução livre)

Temperatura (°C)	Intensidade Respiratória (QO ₂)	Intensidade de Fermentação (CO ₂ QCO ₂)
15	4,2	118
20	6,7	168
25	9,6	229
30	11,4	321
35	6,2	440
40	3	376

Fonte: Rib'ereau-Gayon et al (2006)

Para fabricação de vinho tinto, é recomendável manter o meio com temperaturas entre 24 °C e 27 °C, pois, nestas condições há o favorecimento da extração de antocianinas e taninos. Se o processo ocorrer a temperaturas superiores a 29 °C, a qualidade do vinho pode ser reduzida, principalmente pela produção de um odor desagradável (COOKE, 2004).

O oxigênio é necessário nos estágios iniciais da fermentação para o crescimento das leveduras. O esmagamento e a maceração são os processos que fornecem o oxigênio para a multiplicação celular. No estágio em que o álcool é produzido, o processo se torna anaeróbico, ou seja, força as leveduras a utilizar o açúcar para seu metabolismo (OUGH, 1992).

2.4.7 Remontagem

Durante a maceração e a fermentação, as cascas e outras substâncias mais grosseiras se concentram na parte superior do reservatório (boiam), formando o chamado chapéu, transmitindo cor apenas à porção superior do líquido. Dessa forma, é necessária a remontagem, ou seja, transferência do líquido da parte inferior para a superior (LAZARINE; FALCÃO, 1999).

As primeiras remontagens devem ocorrer durante a fermentação tumultuosa, de quatro a seis vezes ao dia, com objetivo favorecer a multiplicação das leveduras;

homogeneizar sua população no meio e extrair maior quantidade de substâncias corantes. Com o fim da fase tumultuosa, efetua-se no máximo duas remontagens diárias (ROSIER, 1993).

2.4.8 Descuba

Entende-se por a separação entre o mosto (parte líquida) e o bagaço, conjunto substâncias sólidas em suspensão, composto principalmente pelas películas de baga (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

De acordo com Lazarine e Falcão (1999), realiza-se a descuba no momento em que há queda da temperatura de fermentação, paralização no desprendimento de gás carbônico e diminuição de densidade do mosto ou intensidade da cor.

2.4.8 Prensagem

A prensagem é realizada após a descuba, com a finalidade de extrair o vinho retido nos interstícios das partes sólidas. O produto obtido através da prensagem apresenta qualidade levemente inferior ao vinho obtido pelo processo. Desse modo, o vinho obtido pela primeira prensagem (lágrima) é misturado ao vinho produzido através da fermentação (gota). Já vinho proveniente de uma segunda prensagem (prensa) é utilizado para a produção de vinho de segunda categoria ou para destilação (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4.9 Fermentação Malolática

A fermentação malolática ocorre através da atividade das bactérias ácido-láticas, sendo as espécies mais comuns pertencentes ao gênero *Leuconostoc*. O termo malolática refere-se à habilidade dessas bactérias em converter ácido málico em ácido lático e dióxido de carbono, usualmente durante ou logo após a fermentação alcoólica. O ácido málico, um dos ácidos orgânicos que naturalmente presentes nas uvas, é um ácido mais forte que o ácido lático. Dessa forma, a

mudança mais importante trazida por essas bactérias é a redução da acidez do vinho (COOKE, 2004).

Além da redução da acidez, a fermentação malolática é responsável pela redução da intensidade da cor do vinho, devido ao aumento do pH que interfere a cor das antocianinas, além das reações que ocorrem nessa etapa do processo, responsáveis por modificar e estabilizar a cor do vinho. Também, as características organolépticas dos vinhos são melhoradas. Os aromas se tornam mais complexos e finos, além de aprimorar consideravelmente o sabor. A partir da fermentação malolática o sabor do vinho se torna mais suave e completo, elementos essenciais para um produto de qualidade (RIB'EREAU-GAYON et al, 2006).

2.4.10 Trasfega, Atesto e Filtração

A trasfega é a operação de passar o vinho de um recipiente para o outro para eliminar o depósito precipitado, conhecido como borra. A borra é composta por restos da casca da uva, sementes, leveduras, pectinas, mucilagens, ácidos, entre outras substâncias. Também, podem ser encontradas leveduras vivas que, por falta de substrato, se degradam, liberando compostos nitrogenados que conferem ao vinho o 'gosto de borra' (RIZZON e MENEGUZZO 2006; ROSIER, 1993).

Durante a vinificação em tinto, são realizadas três trasfegas. A primeira, acontece ao fim da maceração, por ocasião da descuba. A segunda trasfega é realizada ao fim da fermentação malolática, normalmente, 30 dias após a primeira. E a terceira, ocorre ao final da estabilização do vinho (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

O atesto consiste em preencher os tanques periodicamente, à medida que o nível do vinho diminui, devido à evaporação ou mudança de temperatura, ou após a realização das trasfegas. O objetivo é diminuir o contato do produto com o ar. Esse contato pode causar oxidação e contaminação bacteriana (RIZZON; MENEGUZZO, 2006).

A filtração é responsável por retirar as micropartículas e auxiliar na estabilização microbiológica dos vinhos. Mesmo que a filtração seja realizada com precisão, ela retira boa parte dos atributos aromáticos do vinho, de modo que é uma prática que reduz a qualidade do produto final (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

2.4.11 Engarrafamento e estabilização do vinho na garrafa

As garrafas de vidro de 750 mL são mundialmente utilizadas. A limpeza das garrafas merece bastante atenção. A água utilizada deve ser bastante limpa, para evitar a contaminação por microrganismos responsáveis pela instabilidade e turvação dos vinhos. As garrafas que já contiveram vinho devem ser escovadas internamente e sofrer uma pré-lavagem com água e soda cáustica na proporção de 2%. Posteriormente, lava-se com água em abundância até não restar nenhum resíduo da soda (RIZZON; MAFROI, 2006).

O engarrafamento causa um choque ao vinho. A aeração intensa tem efeito oxidante. Com o passar do tempo, o vinho reencontra o seu equilíbrio. Desse modo, não se deve beber o vinho imediatamente após ter sido engarrafado. Ele deve ser deixado repousar de um a três meses dependendo do tipo de vinho, para reestabelecer o seu equilíbrio (LAZARINE; FALCÃO 1999).

O espaço livre nas garrafas de vinho, para uma dilatação do líquido, é de 13 a 15 mm para vinhos tranquilos e em torno de 30 mm para os espumantes. Os melhores objetos para tampar as garrafas são as rolhas de cortiça. O diâmetro das rolhas é maior que o diâmetro da garrafa para vedar melhor (GUERRA; BARNABÉ, 2005).

Após o vinho ser transferido para as garrafas, e empilhadas horizontalmente, para manter a rolha úmida. Nessa etapa do processo, o vinho passa por uma série de transformações físico-químicas. O aroma torna-se mais fino e agradável e sua cor sofre modificações devido às alterações das antocianinas (RIZZON E MANFROI, 2006).

2.5 LIGHT EMITTING DIODE (LED)

Os diodos emissores de luz ou *Light Emitting Diode* (LED) são componentes eletrônicos semicondutores que tem a propriedade de transformar energia elétrica em luz. Nas lâmpadas convencionais, essa transformação necessita de filamentos metálicos, radiação ultravioleta e descarga de gases, já nos LEDs é feita na matéria que, por isso, é chamada de estado sólido (PEREZ, 2015).

O semicondutor mais utilizado nessa tecnologia é o silício (Si) que, devido a tendência de seus átomos formarem uma estrutura simétrica, quase sem elétrons livres, necessita da implantação de elementos cujos átomos possuam três ou cinco elétrons na camada de valência (dopagem), gerando, assim, cargas livres. A dopagem pode ser do tipo P ou do tipo N (BENEVIDES; BORTOLOSSO; OLIVEIRA, 2010).

Perez (2015) aponta também que a junção P-N forma um diodo que, quando é diretamente polarizado, emite luz pela interação energética do elétron. Diferente da luz emitida por laser, a emitida por LED não é monocromática.

As características da luz emitida por um LED (cor) depende utilizado em sua dopagem, o que gera uma diferença em seu *band-gap*, diferença de energia existente entre as bandas de valência e de condução do material (BENEVIDES; BORTOLOSSO; OLIVEIRA, 2010)

2.6 FOTOESTIMULAÇÃO

O uso da luz em baixos níveis ou próxima ao infravermelho para fins medicinais é conhecido há cerca de 40 anos, desde a invenção dos *lasers* e é denominada *Low Level Light Therapy* (LLLT). A luz, em determinados comprimentos de onda e densidades de potência, é capaz de promover a regeneração celular e, conseqüentemente, reduzir o dano em tecidos e a inflamação e a acelerar a cicatrização (HAMBLIN, 2013).

Existem parâmetros a serem observados para a realização da LLLT, como o comprimento de onda, densidade de potência, dose de energia aplicada, pulso e irradiação. É importante notar que diferentes células responderão de diferentes maneiras à luz. (SAKAMOTO; ANDERSON, 2011).

Alghamadi, Kumar e Moussa (2011) afirmam que ainda não é conhecido o mecanismo exato de ação da luz sobre as células. Uma teoria bastante difundida propõe que o laser é capaz de influenciar os fotorreceptores nas células. Esse mecanismo é chamado de fotobiologia, fotoestimulação ou fotobioestimulação. Este processo inicia-se com a absorção da luz por cromóforos presentes nas

mitocôndrias ou na membrana celular. A energia fotônica é convertida em energia química, na forma de ATP, o que aumenta o metabolismo celular.

Foram identificados diversos cromóforos envolvidos na LLLT, especialmente na mitocôndria. (SAKAMOTO; ANDERSON, 2011). Dessa forma, podem ocorrer diferentes mudanças na célula, dependendo do cromóforo que absorve a luz (Quadro 2).

Quadro 2 - Moléculas mitocondriais alvos da luz e o mecanismo de ação

Alvo da luz	Função Celular	Comprimento de Onda da Luz	Mecanismo de Ação
Citocromo e Oxidase	Respiração Celular	Vermelho 630, 632.78, 650, 660, 725, 820 nm.	Efeito estimulante. Aumenta a síntese de ATP, RNA e de proteínas. Aumenta o consumo de oxigênio.
Porfirinas Fotoativas	Síntese do grupo Heme.	Visível 410 , 500, 540, 585, 630 nm.	Proliferação celular. Estimulação dos tecidos.
Flavoproteínas	Início de reações com radicais livres.	<500 nm.	Menor estresse oxidativo. Reparação do DNA. Apoptose.

Fonte: Sakamoto; Anderson (2011)

Além do uso da fotoestimulação para fins medicinais, pode-se utilizar esse processo na indústria de alimentos. Pesquisadores da USP realizaram a fermentação de cerveja sob diversos comprimentos de onda de luz, e obtiveram resultados relevantes.

Estracanholti, Policarpov e Bagnato (2013) afirmam que a aplicação de fotoestimulação na fermentação de cerveja ou chope possibilitou a produção de álcool, a partir do consumo dos açúcares pelas leveduras, mais rapidamente do que nos casos tradicionais, onde não há incidência de luz. Isto resultou na diminuição do tempo de fermentação do produto.

Outra questão apontada por Estracanholti, Policarpov e Bagnato (2013) refere-se a fonte de luz utilizada no processo fermentativo. A luz pode ser oriunda de diferentes fontes, podendo ainda, ser monocromáticas ou não. No caso das monocromáticas, pode-se utilizar os Lasers ou os LEDs e para o caso das não monocromáticas podem ser usadas as Lâmpadas Fluorescentes. Escolhido o

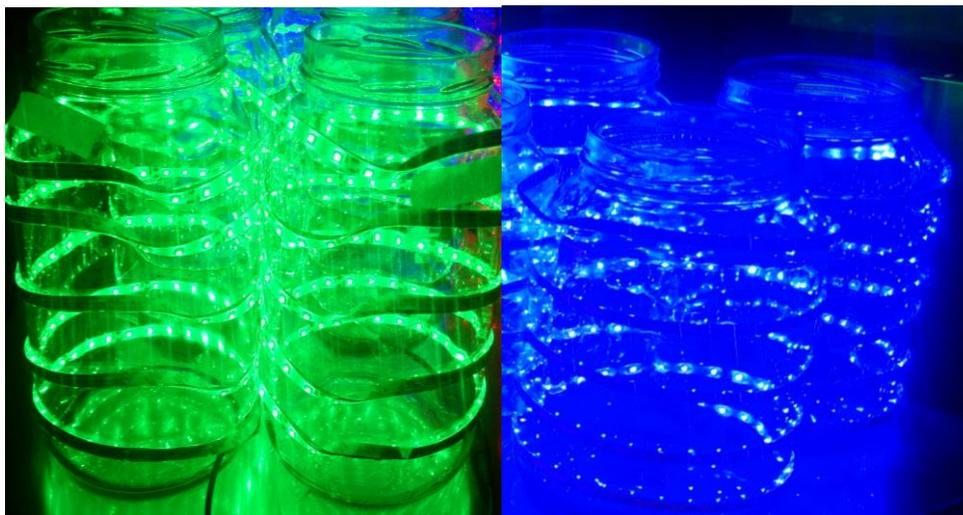
emissor de luz, determina-se um ou vários comprimentos de onda, o melhor método de distribuição das fontes no interior dos tanques de fermentação e os períodos em que as fontes de luz serão acionadas.

3 METODOLOGIA

3.1 MONTAGEM DOS REATORES

Para a realização do experimento foram utilizados nove reatores de vidro, com capacidade de 5 L cada um. Todos foram previamente higienizados e sanitizados. Três reatores foram envoltos com fitas com lâmpadas LED de cor verde, três reatores com fita com lâmpadas LED azul (Fotografia 1). As fitas continham 14,4 W de potência. Para evitar a dissipação de luz, todos os reatores foram envoltos com papel alumínio (Fotografia 2), inclusive os reatores que seriam utilizados para fermentação na ausência de luz.

Fotografia 1 – Reatores envoltos com fitas de lâmpadas LED



Fonte: Autoria própria

Fotografia 2 – Reatores envolvidos com papel alumínio para evitar a dissipação da luz



Fonte: Autoria própria

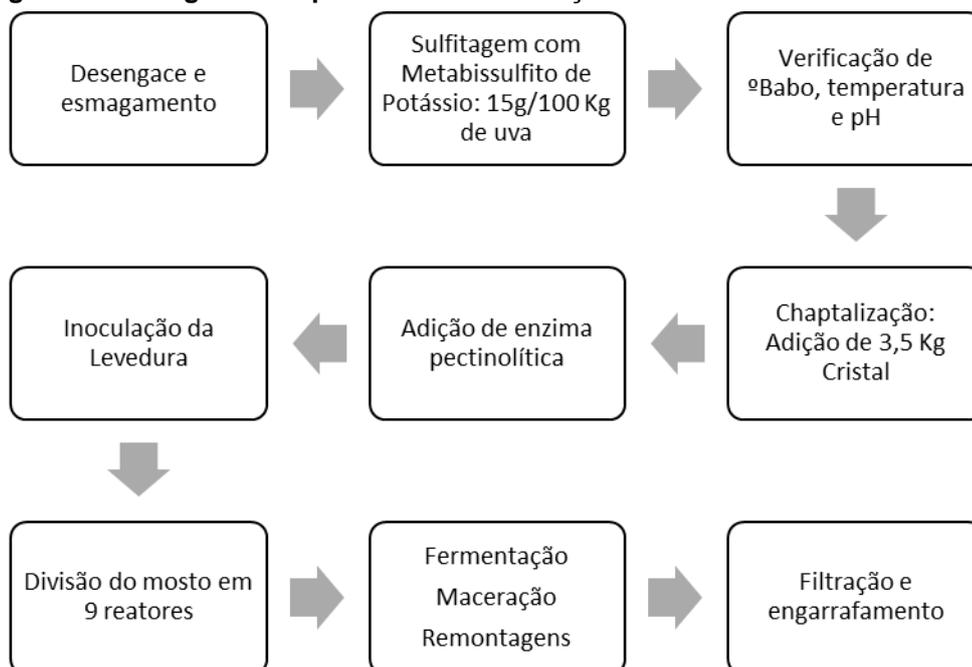
3.2 FERMENTAÇÃO

As uvas utilizadas para a fermentação pertencem a variedade Isabel e foram adquiridas no mercado local. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o metabissulfito de potássio e a enzima pectinolítica foram fornecidos pela Vinícola Di Sandi, localizada em Bituruna – PR.

Foram realizados 3 experimentos distintos (A, B, C), em triplicata, nos seguintes comprimentos de onda de luz: (A) verde (495 – 570 nm e (B) azul (450 – 495 nm). O controle (experimento C) foi fermentado na ausência de luz.

A Figura 5 mostra o processo de vinificação para os três experimentos.

Figura 5 - Fluxograma do processo de vinificação.



Fonte: Autoria Própria

3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL

O aumento no teor de etanol durante a fermentação e no produto final foi determinado a partir da leitura direta do alcoômetro de Gay-Lussac mergulhado na amostra contida em proveta.

3.4 ANÁLISE DA COR

O índice de cor, a intensidade e a tonalidade do fermentado foram avaliados medindo-se a absorbância do fermentado a 420, 520 e 620 nm, utilizando-se cubetas de vidro, no espectrofotômetro, como recomendado pela Organização Internacional de Vinhos e Vinhas (2015).

Antes de iniciar as análises, água destilada foi utilizada como referência, sendo a absorbância medida no mesmo percurso óptico e nos mesmos comprimentos de onda, para zerar a escala de absorbância do aparato.

O índice de cor, a intensidade e a tonalidade foram determinadas pelas Equações (1), (2) e (3), respectivamente.

$$\text{Índice de cor} = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad (1)$$

$$\text{Intensidade} = A_{420} + A_{520} \quad (2)$$

$$\text{Tonalidade} = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (3)$$

3.5 FENÓLICOS TOTAIS

O teor de fenólicos totais foi determinado de acordo com o descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999). Em balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se 0,1 mL de amostra, 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu diluído e 4 mL de carbonato de sódio 7,5%. Completou-se o volume com água destilada e, após duas horas, leu-se a absorvância a 765 nm em espectrofotômetro. Preparou-se a curva analítica empregando-se solução aquosa de ácido gálico como padrão de referência, em concentrações entre 50 e 500 mg/L, utilizando-se a mesma metodologia apresentada para as amostras. As concentrações de compostos fenólicos foram expressas como equivalentes em ácido gálico (GAE).

3.6 ANTOCIANINAS

O teor de antocianinas foi determinado como descrito por Lee, Durst e Wrolstad (2005), no qual as amostras são dissolvidas em duas soluções tampão: Ácido Clorídrico pH 1 (0,025M) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4M).

Foram transferidos 10 mL de amostra para um balão volumétrico de 50 mL e o volume foi completado com solução tampão pH 1. O mesmo procedimento foi realizado para o tampão pH 4,5.

As soluções resultantes da amostra com o tampão tiveram sua absorvância lida em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm. A concentração de pigmento obtido expressa em equivalente de cianidina-3-glicosídeo foi obtida com a Equação (4):

$$\text{Antocianina pigmento} = \frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 10^3}{(\epsilon \cdot l)} \quad (4)$$

Onde:

A = (A₅₂₀ - A₇₀₀) pH 1,0 – (A₅₂₀ - A₇₀₀) pH 4,5

MW (massa molecular) = 449,2 g/mol de cyanidina-3-glicosídeo (cyd-3-gli)

DF = Fator de diluição

ε (coeficiente de extinção molar) = 26900 em L.mol⁻¹.cm⁻¹, para cyn-3-gli e 103 = fator de conversão de g para mg.

3.7 PH

O pH foi diretamente medido no fermentado, utilizando pHmêtro, de acordo com o procedimento descrito pela Organização Internacional de Vinhos e Vinhas (2015).

O pHmêtro foi calibrado à temperatura ambiente, usando uma solução padrão. Após a calibração, foram feitas três medidas do pH da amostra, sendo o resultado final a média aritmética das três determinações.

3.8 ACIDEZ TOTAL

Determinou-se a acidez total (mEq/L), pela titulação de uma alíquota de 10 mL da amostra com NaOH 0,1 M. Como a coloração avermelhada da amostra dificultaria a visualização do ponto de equivalência com o uso de indicadores, acompanhou-se o pH da mistura até 8,2.

Expressa-se a acidez total por meio da Equação 5.

$$AT = \frac{1000 \cdot n \cdot M}{v} \quad (5)$$

Onde: n = volume (mL) de NaOH gasto na titulação

M = molaridade da solução de NaOH

v = volume (mL) da amostra

3.9 RENDIMENTO E PRODUTIVIDADE DA FERMENTAÇÃO.

O rendimento ($Y_{P/S}$) da fermentação alcoólica foi calculado pela correlação dos valores de etanol produzido com os teores de açúcares consumidos, segundo a equação (6) (SCHMIDELL et al., 2001).

$$Y_{P/S} = \frac{P-P_0}{S_0-S} \quad (6)$$

Sendo:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P_0 = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

S_0 = Concentração de substrato no início da fermentação (tempo zero).

S = Concentração de substrato ao final de fermentação.

A produtividade (Q_P) foi determinada pela correlação entre etanol produzido e o tempo da fermentação (h), segundo a equação (7) (SCHMIDELL et al., 2001).

$$Q_P = \frac{P-P_0}{t_f} \quad (7)$$

Onde:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P_0 = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

t_f = Tempo total da fermentação.

3.10 TRATAMENTO DOS DADOS

Os resultados dos experimentos passaram por análise estatística, utilizando o programa o SASM-Agri, onde foram realizados o Teste de Análise de Variância (ANOVA) e o Teste t a 5% para a comparação das amostras, par a par, valores de p inferiores a 0,05 neste teste indicam variações estatisticamente significativas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizou-se 75 Kg de uva da variedade Isabel. As mesmas foram desengaçadas e amassadas manualmente para a produção do mosto (Fotografia 3). O volume do mosto produzido foi de 60 L.

Fotografia 3 – Mosto preparado a partir do esmagamento manual de 75Kg de uva da variedade Isabel.



Fonte: Autoria própria

Após amassar as uvas, foram adicionados 11,25 g de metabissulfito de potássio ao mosto, devido as suas propriedades antissépticas. Após duas horas, o °Babo, a temperatura e o pH do mosto foram medidos. O mostro apresentou °Babo de 14,6, valor insuficiente para chegar ao teor alcoólico desejado. Desse modo, foram adicionados 3,5 Kg de açúcar cristal. Após a chaptalização, o °Babo do mosto foi 20. O mosto estava com o pH de 5,88 e temperatura de 27°C.

O próximo passo foi a inoculação da levedura. Primeiro, a levedura seca foi adicionada à água morna (30 °C) durante 30 minutos. Então, a cepa hidratada foi adicionada ao mosto, na concentração de 0,2 g/ L.

O mosto, após a inoculação, foi homogeneizado e então dividido em 9 reatores de vidro com capacidade de 5 L. Três reatores eram iluminados por lâmpadas LED azuis, três por lâmpadas LED verde e três mantidos na ausência de luz. Todos os reatores foram envoltos em papel alumínio e armazenados em uma estufa BOD à temperatura de 20 °C (Fotografia 4).

Fotografia 4 - Reatores já com o mosto, armazenados em BOD com temperatura controlada.



Fonte: Autoria própria

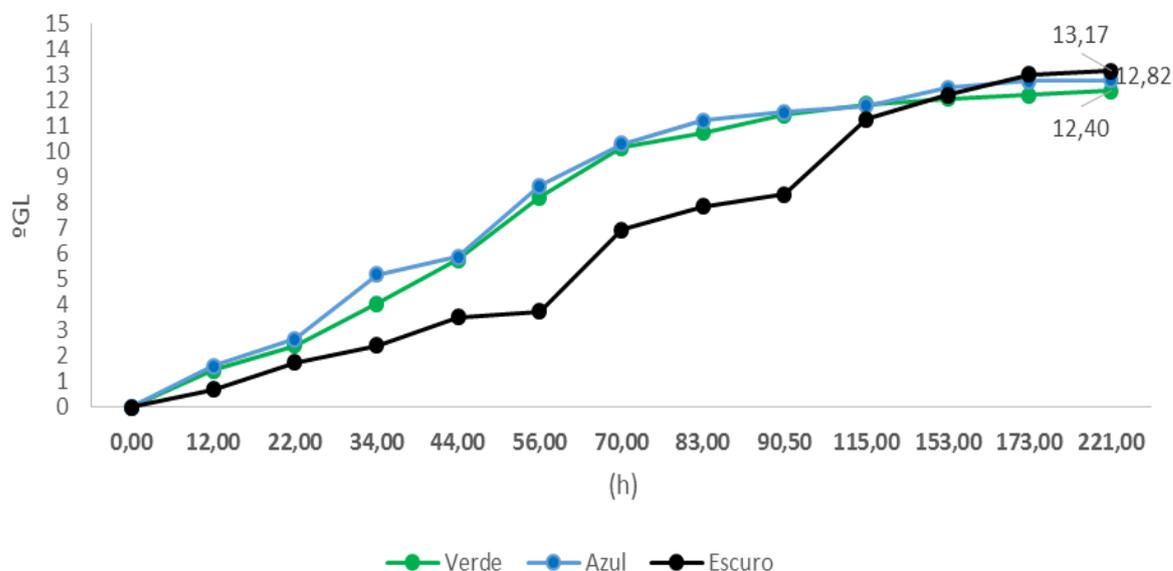
A fermentação alcoólica tumultuosa, na presença de oxigênio, durou 4 dias. As remontagens, homogeneização da fase sólida com a líquida, eram realizadas três vezes ao dia. Também, amostras do mosto eram retiradas para a análise do pH, grau Babo, grau alcoólico e temperatura.

Ao fim da fermentação tumultuosa, iniciou-se a fermentação lenta, por mais 5 dias, na ausência de oxigênio. Da mesma forma que na fermentação tumultuosa, amostras do mosto eram retiradas para análise.

Com o fim da fermentação, o produto final, obtidos em cada reator, foi filtrado, engarrafado e armazenado para análise posterior de teor alcoólico, cor, fenólicos totais, antocianinas, pH e acidez.

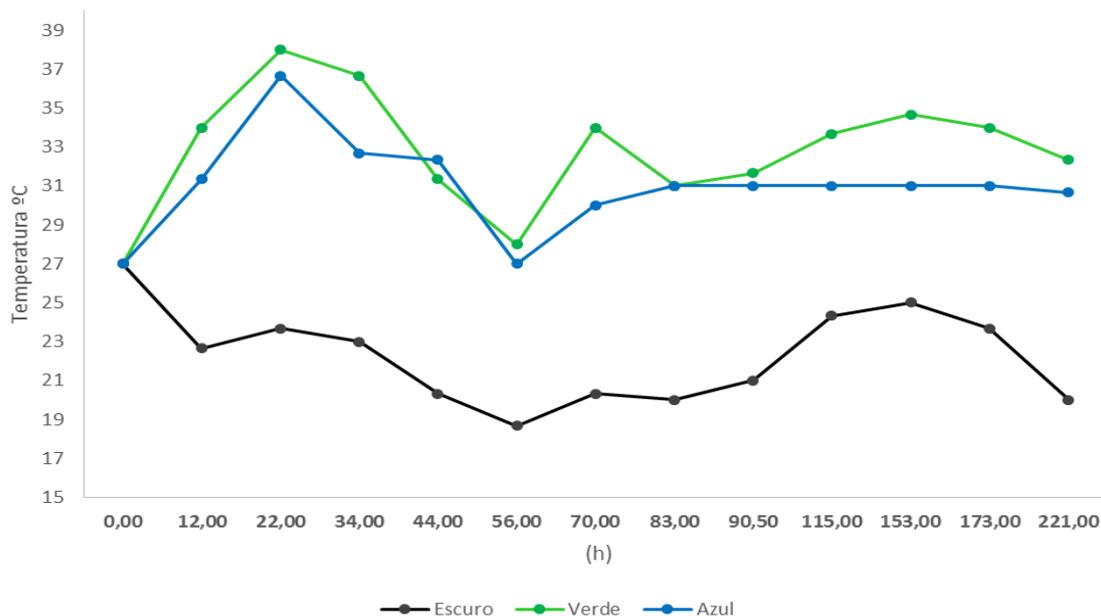
O Gráfico 1 apresenta a evolução do teor de etanol das amostras durante a fermentação.

Gráfico 1 - Teor alcoólico médio alcançado pelas amostras em função do tempo de fermentação



Fonte: Autoria própria.

Pode-se perceber que durante a fermentação tumultosa (primeiras 96h), houve um aumento considerável do teor de etanol nas amostras fotoestimuladas. A partir disso, pode-se afirmar que a luz agiu sobre o metabolismo das células durante a fase de crescimento, aumentando a formação de produto. Durante o processo, notou-se nesses fermentadores uma maior formação de bolhas (liberação de gás carbônico), o que confirma a maior atividade metabólica das leveduras, indicando que a fotoestimulação com as cores azul e verde podem ser interessantes durante a fase inicial da fermentação, momento em que há o crescimento celular, pois proporciona maior grau alcoólico em um menor período. Ao fim da fase inicial o processo pode prosseguir na ausência de luz, já que, ao final da fermentação a fotoestimulação não favoreceu a produção de etanol na etapa final do processo.

Gráfico 2 - Variação de temperatura no decorrer da fermentação

Fonte: Autoria própria.

De acordo com o apresentado nos gráficos 1 e 2 e com o escrito por RIB'EREAU-GAYON et al (2006), o aumento da temperatura nas amostras verde e azul sugere aumento no metabolismo das leveduras em relação à amostra escura. Sabe-se que as lâmpadas LED tem um sistema de dissipação de calor, ou seja, não aquecem o ambiente em que estão instaladas. Dessa forma, pode-se afirmar que as lâmpadas não são as responsáveis pelo aquecimento dos reatores.

Devido a uma grande preocupação com o superaquecimento dos fermentadores fotoestimulados, a temperatura da BOD foi diminuída duas vezes durante o processo, a primeira com 22 horas de fermentação para 18°C e a segunda com 70 horas para 16° C.

A tabela 3 apresenta os dados referentes ao processo fermentativo dos três experimentos.

Tabela 3 - Dados referentes ao processo fermentativo dos três experimentos

	Verde	Azul	Controle (Ausência de Luz)
Temperatura média (°C)	32,8	31	22,3
Densidade Final (g/L)	1,006	1,003	1
pH final	3,43	3,43	3,27
° Babo final	2,13	1,53	1,03
GL final	12,4	12,82	13,17

Fonte: Autoria própria

Observando a Tabela 2, nota-se que o pH de todos os reatores se manteve similar. Todas as amostras estão dentro da faixa de pH aceitável para vinho tinto, que varia de 2,9 a 4. Em relação à quantidade de etanol, todas as amostras alcançaram o teor alcoólico exigido legalmente, que é de 8,6% a 14% em volume. A densidade, para todas as amostras, apresentou valor superior do que o encontrado para os vinhos de mesa, que é, em média, 0.9965 g/L, ou seja, o vinho possui maior teor de açúcar do que observado nos produtos encontrados no mercado.

Os valores obtidos para produtividade e rendimento para a fermentação tumultuosa e lenta são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios para rendimento e produtividade das amostras para fermentação tumultuosa e lenta.

	Verde	Azul	Controle (Ausência de Luz)
Produtividade Média (%)	0,0538	0,0576	0,0596
Rendimento Médio	3,8595	8,6849	10,8499

Fonte: Autoria própria

Os valores da produtividade e do rendimento considerando a fase tumultuosa e a fase lenta, demonstram que as amostras mantidas na ausência de luz apresentaram maior rendimento e produtividade ao final do processo. Isso se deve ao fato de que durante a fase lenta da fermentação a fotoestimulação deixou de ter impacto positivo na produção de etanol. Porém, o rendimento e a produtividade foram mais expressivos para as amostras fotoestimuladas durante a fermentação tumultuosa, como pode ser observado na tabela 5.

Tabela 5 - Valores médios para rendimento e produtividade das amostras para fermentação tumultuosa.

	Verde	Azul	Controle (Ausência de Luz)
Produtividade Média	0,1289	0,1278	0,0920
Rendimento Médio	3,8502	2,7188	1,0460

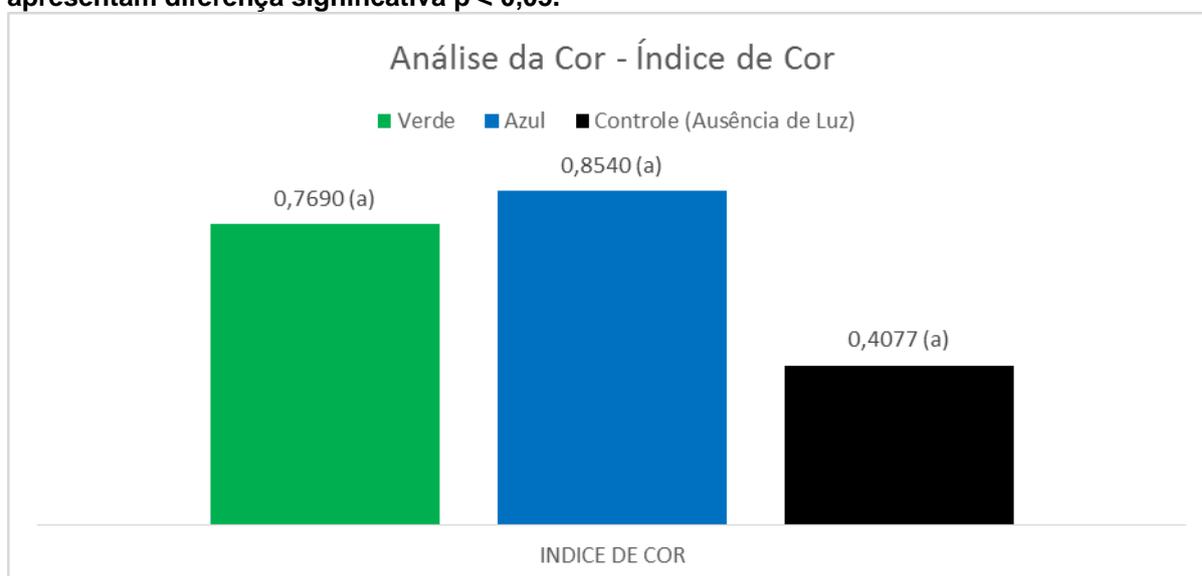
Fonte: Autoria própria

Segundo Gallice (2010), a cor do vinho se relaciona diretamente com a quantidade de compostos fenólicos encontradas no produto. Dentre o grupo de

fenóis presentes no vinho, os principais são os taninos e às antocianinas, os quais conferem colorações que vão do vermelho ao azul. O índice de cor é associada à presença destas espécies, enquanto que a tonalidade, que é uma função da presença de antocianinas. Desta forma, elevados índices de cor implicam em maior concentração de compostos fenólicos, a intensidade refere-se a presença de taninos e antocianinas, enquanto que elevadas tonalidades indicam uma menor concentração de antocianinas.

Pode-se observar no gráfico 3, os resultados obtidos para o índice de cor das amostras.

Gráfico 3 – Índice de cor das amostras fotoestimuladas e controle. *Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$.

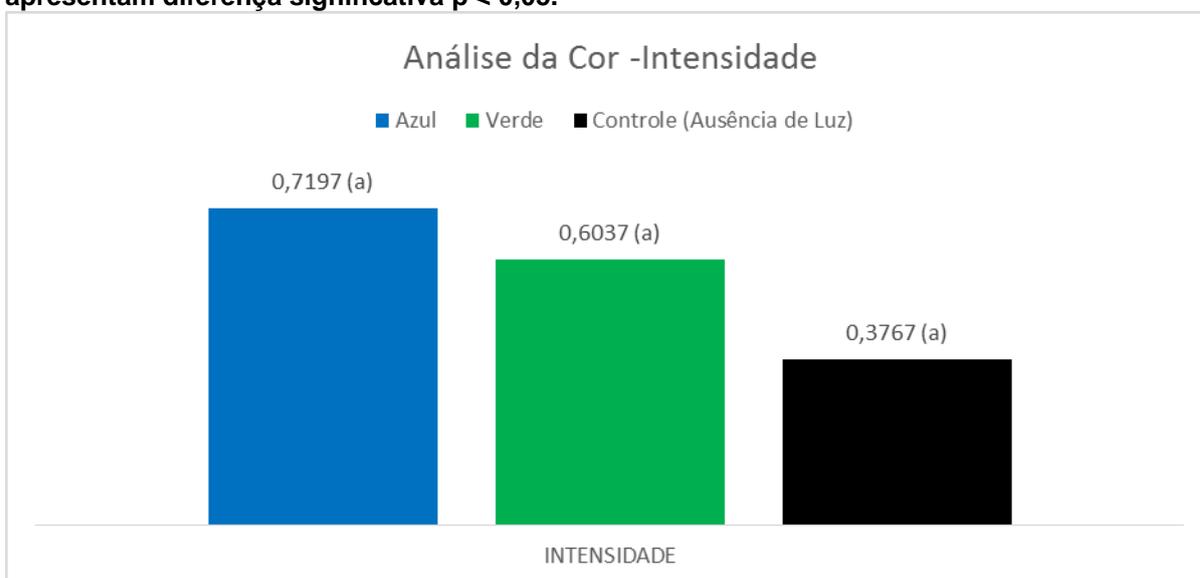


Fonte: Autoria própria

As amostras que apresentaram maior índice de cor foram as fotoestimuladas com a luz azul, o que evidencia seu alto teor de fenólicos totais. Porém, na comparação par a par, não se observaram variações estatisticamente significativas.

O gráfico 4 apresenta os valores encontrados para a intensidade de cor das amostras:

Gráfico 4 – Intensidade de cor das amostras fotoestimuladas e controle. *Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$.

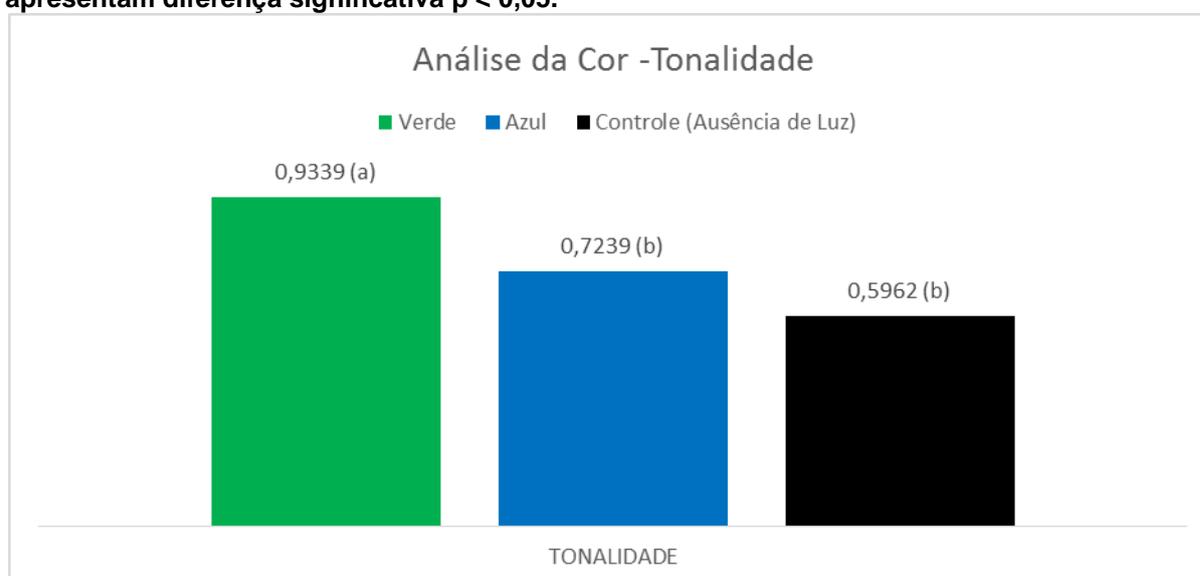


Fonte: Autoria própria

O maior valor de intensidade foi encontrado para a amostra fotoestimulada com luz azul. A amostra fotoestimulada com luz verde apresentou valor intermediário de intensidade. As três amostras não diferem estatisticamente em relação à intensidade de cor.

O gráfico 5 apresenta os valores encontrados para a tonalidade de cor das amostras:

Gráfico 5 – Intensidade de cor das amostras fotoestimuladas e controle. Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$.



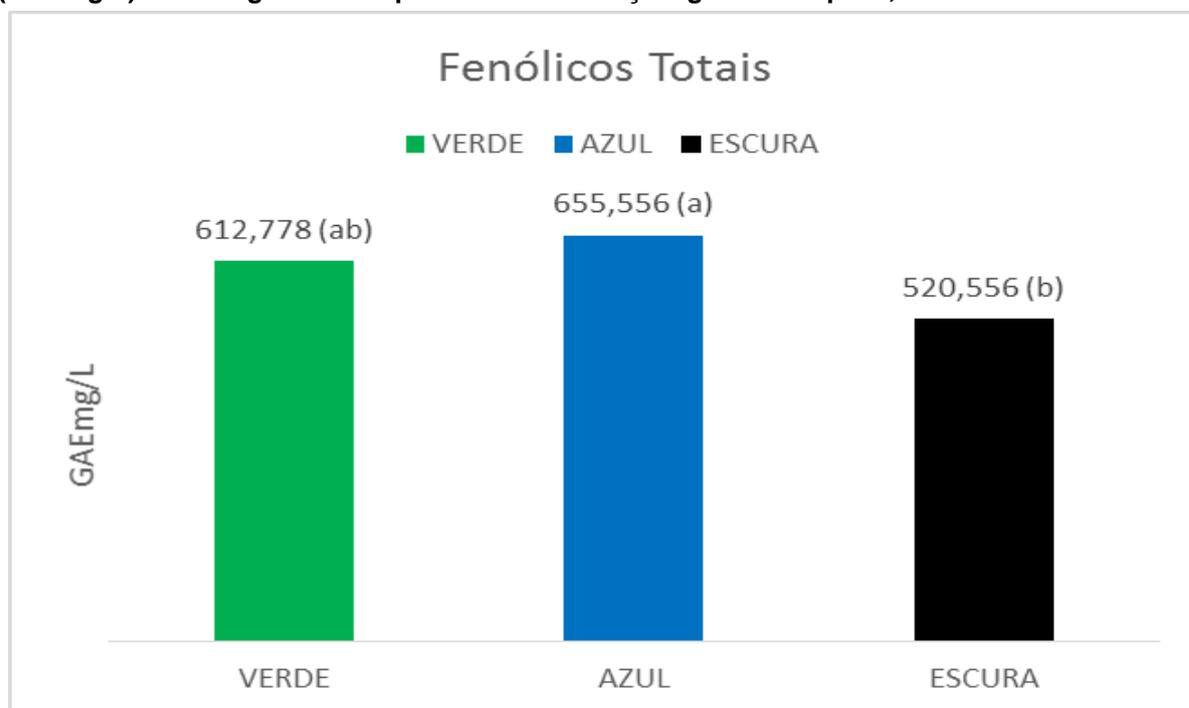
Fonte: Autoria própria

A maior média de tonalidade foi apresentada pela amostra fotoestimulada com luz verde, que difere estatisticamente das demais, e a menor para a amostra mantida na ausência de luz. Como a tonalidade é inversamente proporcional ao teor de antocianinas, chega-se a conclusão que as amostras fotoestimuladas com luz verde possuem menor teor de antocianinas.

Segundo Hernández (2002), a cor de um vinho tinto não depende somente da riqueza em antocianinas, mas do processo de polimerização fundamentalmente com os taninos. Dessa forma, justifica-se à maior concentração de cor nas amostras fotoestimuladas com a cor azul.

O Gráfico 6 apresenta o teor de fenólicos totais encontrados nas amostras.

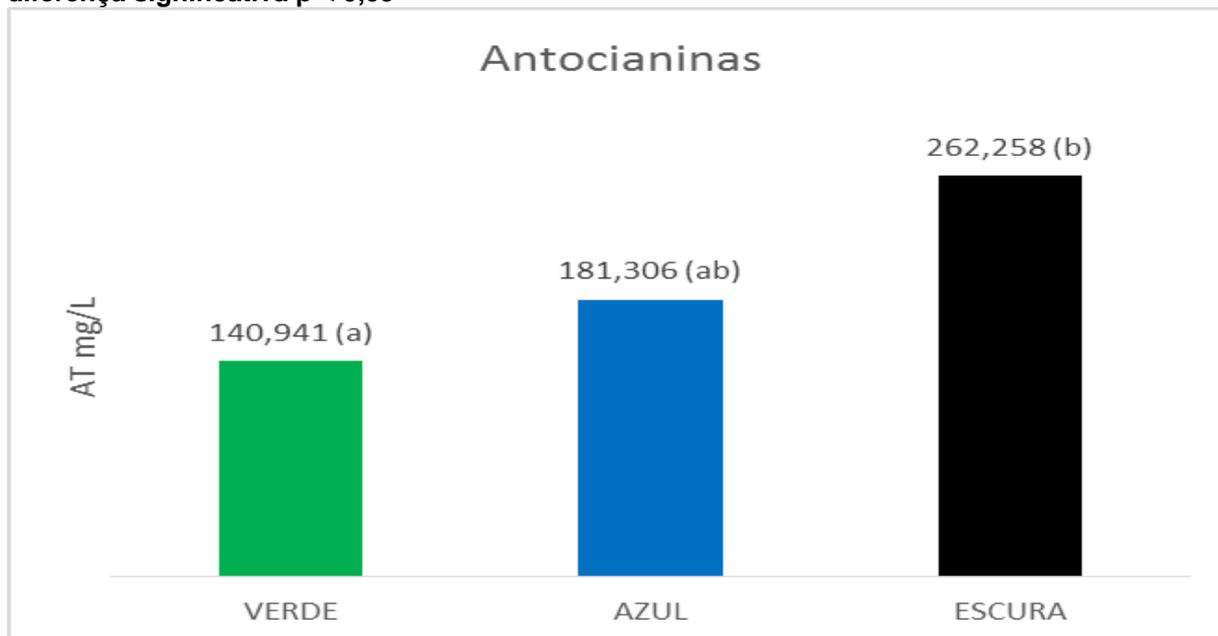
Gráfico 6 – Teor de compostos fenólicos totais das amostras em equivalente ao ácido gálico (GAEmg/L). Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$.



Fonte: Autoria própria

Verifica-se que as amostras fotoestimuladas com luz azul apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos em relação a amostra escura. A amostra fotoestimulada com luz verde possui teor intermediário de fenólicos. Este fato está de acordo com Rib'ereau-Gayon *et al* (2006), que afirma que temperaturas elevadas durante a fermentação favorecem a extração de compostos fenólicos.

Gráfico 7 – Teor de antocianinas totais das amostras em mg/L. Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$



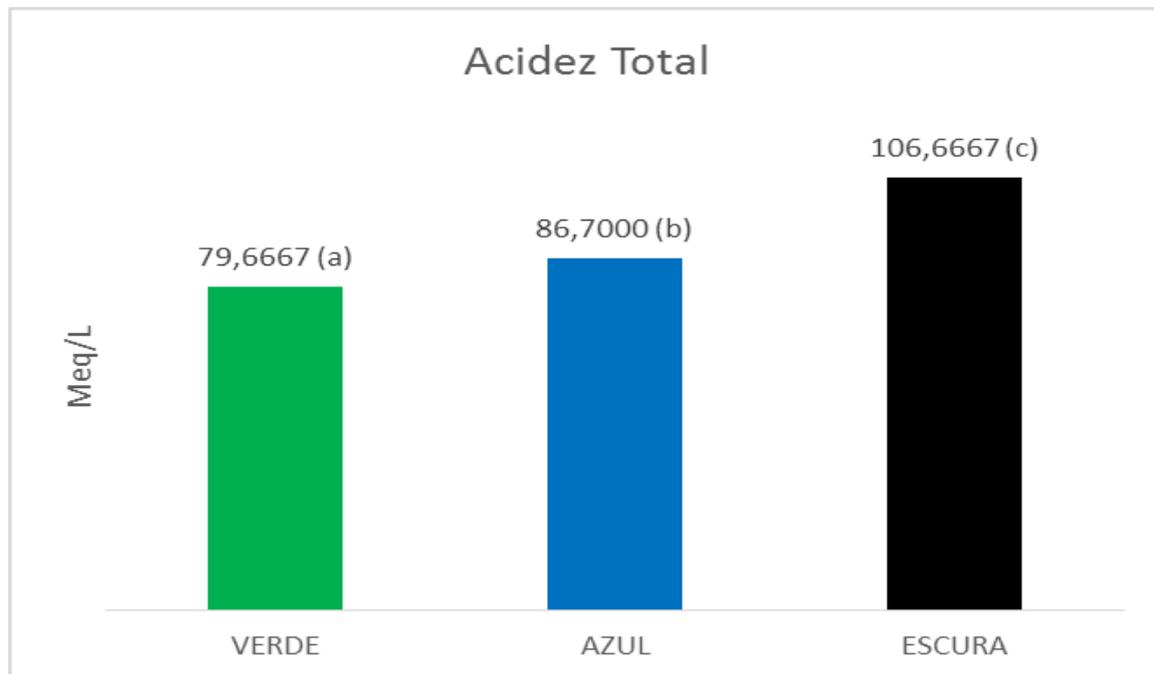
Fonte: Autoria própria

O teor médio de antocianinas se apresentou maior na amostra escura, que difere estatisticamente da amostra verde.

De acordo com Stringheta (1991), a luz tem um grande efeito destruidor sobre as antocianinas. Além disso, segundo Rosso (2015), o aumento da temperatura é um forte agente de degradação de antocianinas. Justifica-se assim o fato das amostras verde e azul apresentarem menor concentração de antocianinas e a amostra escura a maior concentração.

Ao observar o gráfico 6, percebe-se que amostra que apresentou maior acidez total média foi a escura. De acordo com o resultado do Teste Tukey as variações foram estatisticamente significativas.

Gráfico 4 - Resultados obtidos nas análises de acidez total em Meq/L. Letras iguais não apresentam diferença significativa $p < 0,05$.



Fonte: Autoria própria

De acordo com UVIBRA (1998), os vinhos tintos devem apresentar acidez total entre 55 e 130 mEq/L. Sendo assim, todas as amostras estão dentro da especificação, apesar de serem diferentes estatisticamente. Segundo Castilhos (2012), a acidez dos vinhos está diretamente relacionada a sua coloração, uma vez que o aumento do pH promove descoloração das antocianinas.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que o uso da fotoestimulação do mosto com lâmpadas LED acarretam em um aumento expressivo no metabolismo das leveduras na primeira fase da fermentação, pois as amostras fotoestimuladas levaram menos tempo para atingir determinados valores °GL em relação ao mosto fermentado na ausência de luz.

Em relação ao teor de compostos fenólicos os valores apresentados pelas amostras fotoestimuladas foram superiores ao apresentado pela amostra escura, porém, não se pode concluir se esse incremento foi acarretado pelo efeito da luz ou se, simplesmente, foi um efeito do aumento da temperatura. Já o menor teor de antocianinas encontrados nas amostras fotoestimuladas, responsáveis por características organolépticas e importante atrativo nutricional da bebida, pode representar uma desvantagem do método.

O aumento na velocidade de obtenção de etanol na primeira fase da fermentação dá indícios de que a fotoestimulação pode ser vantajosa, principalmente quando o produto final não é valorizado por seus teores de antocianinas ou outros compostos especiais, como é o caso da produção de vinhos e cachaças de baixo valor de mercado ou até mesmo de álcool combustível.

REFERÊNCIAS

ABE et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, p. 394-400, 2007.

ALGHAMDI, Khalid M.; KUMAR, Ashok; MOUSSA, Noura A. **Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells**. **Lasers In Medical Science**, v. 27, n. 1, p.237-249, 28 jan. 2011. Springer Science + Business Media.

AMARANTE, José Osvaldo Albano do. **Os Segredos do Vinho para Iniciantes e Iniciados**. 4. ed. São Paulo: Mescla, 2015.

AQUARONE et al. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**, v. 4 São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

BENEVIDES, Alexandre Bergmann Ypiranga; BORTOLOSSO, Cássio; OLIVEIRA Matheus Berger. **DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDs)**. 2010. Disponível em: <https://chasqueweb.ufrgs.br/~hklimach/E061/Trabalho_2/LEDs.pdf>. Acesso em: 10 out. 2015.

BLAZQUEZ, Rodrigo. **Higher Alcohols**. What is in wine. Disponível em: <<http://waterhouse.ucdavis.edu/whats-in-wine/higher-alcohols>>. Acesso em: 16 out. 2016.

BLOUIN, Jacques; PEYNAUD, Émile. **Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino**. 4. ed. Madrid: Mundi Prensa, 2006. 355 p

BRUNNING, Andy. **The Key Chemicals in Red Wine: Colour, Flavour, and Potential Health Benefits**. 2014. Compound Interest. Disponível em: <<http://www.compoundchem.com/2014/05/28/redwinechemicals/>>. Acesso em: 16 ago. 2016.

CABRITA, M, J; DA SILVA, J, R; LAUREANO, O. **Compostos Polifenólicos das Uvas e dos Vinhos**. 2003. Disponível em <<http://www.isa.utl.pt/riav/Pdf/Memoria%20del%20Seminaro%202003.3.pdf>> Acesso em 10 de Setembro de 2016.

CARLSON, Christin. **Glycerol in red wine**. Disponível em: <<http://waterhouse.ucdavis.edu/whats-in-wine/glycerol>>. Acesso em: 16 out. 2016.

COOKE, George. **Making Table Wine at Home**. Califórnia: University Of California, 2004.

CASTILHOS, Maurício Bonatto Machado de. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VINHOS TINTOS A PARTIR DE UVAS CULTIVADAS NO NOROESTE PAULISTA**. 2012. 153 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2012. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88381/castilhos_mbm_me_sjrp.pdf?sequence=1>. Acesso em: 10 out. 2016.

EMBRAPA. **A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas**. 2002. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura/>>. Acesso em 08 de Set. de 2016.

EMBRAPA. **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. 2003. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/colheita.htm>>. Acesso em 08 de Setembro de 2016.

FERREIRA, T, I, L. **QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS NO FRUTO, POLPA E PRODUTO PROCESSADO DA JUÇARA** (*Euterpe edulis Martius*). Disponível em <<http://www.akarui.org.br/sites/default/files/Quantificacao%20de%20Antocianinas%20no%20Fruto,%20Polpa%20e%20Produto%20Processado%20da%20Jucara.pdf>> Acesso em 10 de Setembro de 2016.

FLEET, Graham. **Wine Microbiology and Biotechnology**. Sydney: Taylor e Francis, 1993.

GALLICE, Wellington Cesar. **CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VINHOS E QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E TRANS-RESVERATROL UTILIZANDO TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROSCÓPICAS MULTIVARIADAS**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W.G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgar Blücher, 2005.

HAMBLIN, Michael R. **Mechanisms of Low Level Light Therapy**. Disponível em: <<http://www.photobiology.info/Hamblin.html>>. Acesso em: 31 out. 2015.

HERNÁNDEZ, Manoel Ruiz. **La crianza del vino tinto desde la perspectiva vitícola**. 2ª ed. AMV Ediciones. Ediciones Mundi-Prensa. Espanha (Madrid), 2002.

HORNSAY, Ian Spencer. **The Chemistry and Biology of Winemaking**. Cambridge: The Royal Society Of Chemistry, 2007.

IBRAVIN. **Demonstrativo da Elaboração de Vinhos e Derivados de 2006 até 2016 (RS)**. Disponível em <<http://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1473079626.pdf>> Acesso em: 10 de out. de 2016.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE (IOVW). **COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF WINE AND MUST ANALYSIS**. Paris: OIV, 2015. 2 v.

JACKSON, R. S. Wine science: principles and applications. 3 ed. San Diego: Academic Press, 2008. 751p. KÖNIG, Helmut; UNDEN, Gottfried; FRÖHLICH, Jürgen. **Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine**. Berlin: Springer, 2009.

LAZARINI, Federico Carro; FALCÃO, Thays. **Fluxograma da Vinificação em Tinto**. 1999. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prfruta/vinhotin/flux.htm>>. Acesso em: 16 out. 2016.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LONA, Adolfo Alberto. **Vinhos: Degustação, Elaboração e Serviço**. Porto Alegre: AGE, 2003.

LOPES et al. **Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade**. Revista Brasileira de Agrociência, v.13, n.3, p. 291- 297, 2007.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

Ministérios da Agricultura. Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988. **Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho**.

OKAFOR, Nduka. **Modern Industrial Microbiology and Biotechnology**. New Hampshire: Science Publishers, 2007.

OUGH, Cornelius S. **Winemaking Basics**. Nova York: Haworth Press, 1992.

PEREZ, Valmir. **LED: O que é e como funciona**. Disponível em: <<http://www.iar.unicamp.br/lab/luz/dicasemail/led/dica36.htm>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

RIB'EREAU-GAYON, Pascal; DUBOURDIEU, Denis; DON'ECHE, Bernard. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments**. 2. ed. Talence: John Wiley & Sons Ltd. 2006. 2 v.

RIB'EREAU-GAYON, Pascal et al. **Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications**. 2. ed. Talence: John Wiley & Sons Ltd, 2006. 1 v.

RIZZON, Luiz Antenor. **Sistema de Produção de Vinho Tinto: Recebimento da Uva**. 2006. Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/VinhoTinto/recebimento.htm>>. Acesso em: 16 out. 2016.

RIZZON, L.A.; MAFROI, L. **Sistema de produção de vinho tinto: Fermentação**. Sistemas de Produção - EMBRAPA Uva e Vinho - CNPUV. Bento Gonçalves, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/VinhoTinto/fermentacao.htm>>. Acesso em 15 de out. de 2016.

RIZZON, L.A.; MANFROI, L. **Sistema de produção de vinho tinto: Envelhecimento do vinho na garrafa**. Sistemas de Produção - EMBRAPA Uva e Vinho - CNPUV. Bento Gonçalves, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/VinhoTinto/envelhecimento.htm>>. Acesso em 12 de out. de 2016.

RIZZON, L.A.; MENEGUZZO, J. **Sistema de produção de vinho tinto**. Sistemas de Produção - EMBRAPA Uva e Vinho - CNPUV. Bento Gonçalves, 2006. Disponível em: < <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/VinhoTinto/engarrafamento.htm>>. Acesso em 15 de out. de 2016.

ROSIER, J.P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas**. 2.ed. Florianópolis: EPAGRI, 1993. 72p.

ROSSO, Neiva. **EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE PIGMENTOS PARA FINS DE CORANTES EM ALIMENTOS**. 2015. Disponível em < http://www.sbcta-pr.org.br/Palestra02_NeivaRosso.pdf>. Acesso em 15 de out. de 2016.

SAKAMOTO, Fernanda Hidemi; ANDERSON, Richard Rox. Research and Future Directions. In: NOURI, Keyvan (Ed.). **Lasers in Dermatology and Medicine**. Miami: Springer, 2011. p. 417-424.

SCHMIDELL, W et al. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: E. Blücher, 2001. v. 2, 254 p.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA- RAVENTÓS, R.M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocateau reagent**. Methods Enzymol., San Diego, v. 299, p. 152- 178, 1999.

STRINGHETA, P.C.; **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.)**, Campinas, 1991, 138 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UNICAMP.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 894 p.

UVIBRA. **Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988**. Disponível em <http://www.uvibra.com.br/legislacao_portaria229.htm> Acesso em: 07 de jul. de 2016.

Vanderlei Salvador Bagnato; Everton Stracanholti; Igor Policarpov. **Uso de Fotoestimulação para Aceleração da Fermentação no Processo de Produção de Cerveja e Chope**. BR nº PI 1006279-8 A2, 29 dez. 2010, 16 abr. 2013.

VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**, vol. 1 – Editora Blucher, 2010.