



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO MULTIDISCIPLINAR EM SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

MAGDA SOUZA VIANA

**RECURSOS FOTÔNICOS APLICADOS AO PROCESSO FERMENTATIVO DA
PRODUÇÃO DE VINHO TINTO: AVALIAÇÃO DO PROCESSO INICIAL**

Vitória da Conquista – BA

2019

MAGDA SOUZA VIANA

**RECURSOS FOTÔNICOS APLICADOS AO PROCESSO FERMENTATIVO DA
PRODUÇÃO DE VINHO TINTO: AVALIAÇÃO DO PROCESSO INICIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Pereira Rosa
Universidade Federal da Bahia – UFBA
Co-orientador: Prof. Ms. Daniel Mario Tapia Tapia
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Vitória da Conquista – BA

2019

Biblioteca Universitária Campus Anísio Teixeira – UFBA

V614

Viana, Magda Souza.

Recursos fotônicos para inibição microbiana e estimulação da fermentação em mosto de uvas roxas para fabricação de vinho tinto: avaliação do processo inicial. / Magda Souza Viana - 2019. 62 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Pereira Rosa

Coorientador: Prof. Ms. Daniel Mario Tapia Tapia

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biociências, 2019.

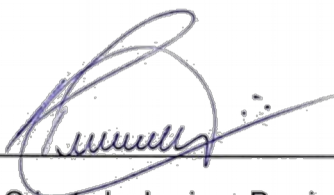
1. Vinho. 2. Uvas. 3. Fermentação. 4. LED. I. Universidade Federal da Bahia. Instituto Multidisciplinar em Saúde. II. Rosa, Luciano Pereira. III. Tapia, Daniel Mario Tapia. IV. Título.

CDU: 663.257

MAGDA SOUZA VIANA

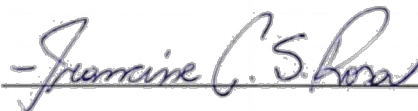
**RECURSOS FOTÔNICOS APLICADOS AO PROCESSO FERMENTATIVO
DA PRODUÇÃO DE VINHO TINTO: AVALIAÇÃO DO PROCESSO INICIAL**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação
em Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia. Vitória da Conquista – BA, 28
de Novembro de 2019



Prof. Dr. Orientador Luciano Pereira Rosa

Universidade Federal da Bahia



Profa. Dra. Francine Cristina Pereira Silva

Universidade Federal Bahia



Prof. Dr. Bruno Lopes Bastos

Universidade Federal da Bahia

O vinho torna a vida mais fácil e suportável,
com menos tensões e mais tolerância.

Benjamin Franklin

A penicilina cura os homens,
mas é o vinho que os torna felizes.

Alexander Fleming

Aos meus amados pais Cândido e Agda, o meu porto seguro, meu farol em dias nublados. Sem eles vitória alguma seria possível ou teria sentido.

AGRADECIMENTOS

Um ditado francês tem a seguinte mensagem: “A gratidão é a memória do coração”. E meu coração encontra-se cheio de gratidão e de memórias... Agradeço inicialmente ao nosso **Pai Celeste** por me conceder a dádiva da vida e ter me dado o privilégio de ser filha de pessoas tão nobres que me ensinaram desde cedo o valor do estudo. **Cândido e Agda**, meu pais, esse trabalho é por vocês. Aos meus irmãos **Custódio e Walter** que mesmo distantes sempre vibram com cada conquista. A minha irmã **Líliam**, minha maior incentivadora desde sempre, obrigada por todo apoio e por tornar isso possível. Agradeço principalmente por no meio desse processo me presentear com meu “pacotinho de amor”, **Adrian**, uma criança de tanta luz que transformou todas as dificuldades enfrentadas nessa época em aprendizado, e fez isso da forma mais inocente do mundo.

Ao Professor **Félix Gonçalves de Siqueira** quem me proporcionou o ingresso no programa de mestrado e entendeu todas as minhas dificuldades enfrentadas na época.

Ao Professor **Luciano Pereira Rosa** que mais uma vez me acolheu e permitiu que eu continuasse nessa batalha. Obrigada por tudo que fez desde a época da graduação, por sua paciência, disposição e coragem em realizar este trabalho comigo.

Agradeço também ao Professor **Daniel Mário Tápia Tápia**, que abraçou essa causa junto conosco e tornou todo este trabalho possível. Gratidão também a Professora **Francine Cristina Pereira Rosa**, por toda atenção, carinho e cuidado.

À **Rafael Ciqueira** por todo apoio, torcida e por toda a ajuda em meus experimentos.

À **Walkiria Cavalcante**, por ter me dado forças para continuar quando as minhas pareciam esgotadas.

Ainda com o coração grato, me lembro de uma frase de Cora Carolina que diz „nada do que fazemos tem sentido se não tocarmos o coração das pessoas“, e por isso sou imensamente grata a todos os amigos que o Mestrado me proporcionou, em especial, **Marisol Porto, Bruno Araújo, Lorena Oliveira**

e **Suzete Carvalho**, vocês com toda certeza tornaram a jornada mais amena, mais leve e feliz. Obrigada por cada momento compartilhado.

À **Secretaria Municipal de Educação** por todo apoio ao longo desse tempo. Ao **Colégio Estadual Jorge Amado** pelo apoio e por me proporcionar um amor ímpar pela educação, foi nesse Colégio que me descobri como professora. Impossível falar desse Colégio e não me lembrar da **Turma de Ensino Médio 3ºAM do ano de 2018**, pessoas incríveis e de muita luz que tive o prazer de ensinar e aprender ao mesmo tempo.

Às minhas grandes amigas e incentivadoras **Poliana Rocha, Fátima Viana, Diérica Cangussu, Amanda Almeida, Eliana Viana e Daniela Prates**, por sempre entenderem meus anseios de querer mais e sempre se manterem presentes nessa jornada mesmo nos inúmeros momentos em que eu precisei me ausentar.

Enfim, um agradecimento a todos aqueles que cruzaram meu caminho nessa jornada contribuindo de forma direta ou indireta. Obrigada.

VIANA, Magda Souza. Recursos fotônicos aplicados ao processo fermentativo da produção de vinho tinto: avaliação do processo inicial. 2019. Dissertação (Mestrado) – Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2019.

RESUMO

O vinho é considerado uma bebida alcoólica resultante da fermentação da uva. A obtenção de vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, dentre estes, fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados, resultam em um aumento significativo da qualidade do processo inicial e conseqüentemente em melhoria do produto final. Neste cenário, a busca por melhorias no processo de produção do vinho vem sendo estudadas. Uma delas é o uso da fotoestimulação, visto que a luz é capaz de potencializar o metabolismo da levedura, levando a redução do tempo gasto na fermentação sem alterar a qualidade da bebida, como já comprovado em estudos com cerveja. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de Diodos Emissores de Luzes (LEDs) na seleção microbiana, no rendimento e produtividade da fermentação durante o processo inicial de produção de vinho tinto. Os reatores fotônicos utilizados no processo foram confeccionados com quatro fitas de LED RGB (Red – Green – Blue) medindo 10 cm de comprimento, fixadas nas paredes externas de um tubo de ensaio de vidro de 12 x 100 mm. Cada fita continha 6 LEDs RGB, perfazendo o conjunto um total de 24 LEDs RGB. Os reatores foram inseridos em erlenmeyer contendo mosto de uva com leveduras do gênero *Saccharomyces*, isoladas das próprias uvas. Para grupos em que foi avaliada a descontaminação microbiológica do mosto, foi utilizada a luz LED azul e para os grupos que foi avaliada a produtividade e rendimento da fermentação, foi utilizada a luz LED vermelha. Para que não houvesse interferência da luz ambiente, em todos os grupos irradiados o [erlenmeyer](#) contendo o mosto foi totalmente recoberto por papel alumínio. Ao realizar as análises intergrupos, pode-se observar que o LED foi eficiente na diminuição bacteriana principalmente nos tempos de 48 e 72 horas de aplicação, mostrando diferença estatística significativa ($p < 0,001$) quando comparados a todos os tempos do grupo Puro (P24h, P48h e P72h) e aos tempos de 24 horas do grupo Metabissulfito (M24h). Outro ponto positivo foi o

teor alcoólico obtido nas amostras que foram irradiadas com LED vermelho de 630 nm, estas obtiveram resultados superiores quando comparados a todos os demais grupos ($p < 0,001$) no tempo final avaliado de 72 horas, mostrando que a luz estimula a produção de etanol pelas leveduras. Todos os grupos que receberam um tratamento específico foram comparados com o grupo controle, grupo em que as amostras não foram irradiadas e também não houve adição de metabissulfito. Assim percebe-se que a utilização das luzes azul (460 nm) e vermelha (630 nm) tem efeito positivo em mostos de uvas tanto para a seleção microbiana quanto na obtenção de etanol, podendo assim ser utilizada como uma técnica inovadora aprimorando a produção de vinho tinto.

Palavras-chave: Vinho, uvas, LED, fermentação, fotoestimulação.

VIANA, Magda Souza. Photonic resources applied to the fermentative process of red wine production: evaluation of the initial process. 2019. Dissertation (Master degree) - Multidisciplinary Institute in Health, Federal University of Bahia, Vitória da Conquista, 2019

ABSTRACT

Wine is considered an alcoholic beverage resulting from the fermentation of grapes. Obtaining quality wine depends on a number of prerequisites, including environmental factors and human intervention, which, when optimized, result in a significant increase in the quality of the initial process and consequently in the improvement of the final product. In this scenario, the search for improvements in the wine production process has been studied. One of them, analyzed by this work is the application of photostimulation, since light is able to accelerate the yeast metabolism leading to a reduction in the time spent on fermentation without altering the quality of the drink, as already proven in studies with beer. Thus, the present work aimed to evaluate the effects of Light Emitting Diodes (LEDs) on microbial selection, fermentation yield and productivity during the initial process of red wine production. The photonic reactors used in the process were made with four RGB (Red - Green - Blue) LED strips measuring 10 cm in length, these strips were fixed to the outer walls of a 12 x 100 mm glass test tube. Each ribbon contained 6 RGB LEDs, making up a total of 24 RGB LEDs. The reactors were inserted in erlenmeyer containing grape must with yeast of the genus *Saccharomyces*, isolated from the grapes themselves. For groups that were evaluated for microbiological capacity, the blue LED light was used and for groups that were evaluated the productivity and yield of fermentation, the red light was used. In order to avoid interference from ambient light, in all groups irradiated with light the erlenmeyer containing the must was completely covered with aluminum paper. When performing the intergroup analyzes, it can be observed that the LED was efficient in the bacterial decrease mainly at 48 and 72 hours of application, showing a statistically significant difference ($p < 0.001$) when compared to all times of the Pure group (P24h, P48h and P72h) and at the 24 hour time of the Metabisulfite group (M24h). Another positive point was the alcohol content obtained in the samples that were irradiated with 630

nm red LED, which obtained superior results when compared to all other groups ($p < 0.001$) in the final time of 72 hours, showing that the light stimulates the production of ethanol by yeast. All groups that received specific treatment were compared to the control group, the group in which the items were not irradiated and were also not added to the metabisulfite. Thus, it can be seen that the use of blue (460 nm) and red (630 nm) lights has a positive effect on grape must both in the microbiological selection and ethanol production, and can thus be used as an innovative technique as a means of enhance the production of red wine.

Keywords: Wine, grapes, LED, fermentation, photostimulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Primeira fase de fermentação do vinho, denominada fermentação tumultuosa

Figura 2: Segunda fase da fermentação do vinho (separação do líquido da parte sólida)

Figura 3: Uvas roxas em forma de cacho constituídas pela parte herbácea, engaço e pelos grãos.

Figura 4: princípio de funcionamento do LED. Elétrons indo em direção ao polo P, após uma determinada voltagem.

Figura 5: a) aparato fotônico utilizado; b) reator fotônico. c) visão aproximada dos LEDs

Figura 6: a) reator fotônico ligado: LED azul b) reator fotônico ligado: LED vermelho

Figura 7: Refratômetro alcoômetro acima, Refratômetro medidor de Grau Brix abaixo e Fita de Ph ao lado.

Figura 8: Processo inicial para isolamento da levedura. a) mosto das uvas roxas. b) fermentação do mosto em meio anaeróbico. c) plaqueamento do mosto em meio Sabouraud para isolamento da levedura

Figura 9: Processo de obtenção do pé de cuba. a) Levedura isolada. b) novo mosto produzido contendo a levedura isolada. c) Pé de cuba (mosto coado contendo a levedura isolada)

Figura 10: Pé de cuba utilizado em todos os grupos experimentais

Figura 11: Grupo controle no processo de fermentação anaeróbico

Figura 12: Irradiação das amostras com a luz LED azul (475nm) com potência de 4,5 W e irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$

Figura 13- Placas com crescimento microbiano em meio Sabouraud e Plate Count Agar, diluídas nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}

Figura 14: Irradiação das amostras com Luz LED vermelha (625 nm) com potência de 4,5 W, irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$ e fluência de 486 J/cm^2

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Classificação de vinhos de acordo a legislação brasileira

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

Quadro 3 - Distribuição dos grupos experimentais, número de amostra e análises realizadas.

Tabela 1 - Produção mundial de vinho (em bilhões de litros)

Tabela 2 - Massa total dos componentes da baga da uva em porcentagens (Variante de acordo seu cultivo)

LISTA DE ABREVIATÓES

À Porcentagem

LDL Lipoproteína de baixa densidade

IBRAVIN Instituto Brasileiro do Vinho

LASER Light Amplification by Simulated Emission of Radiation

LED Light Emitting Diode

OMS Organização Mundial de Saúde

MONICA Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease

DVC Doenças Cardiovasculares

HDL Lipoproteína de alta densidade

HOMA IR Resistência à insulina

OIV Organização Internacional da Vinha e do Vinho

EUA Estados Unidos da América **Ph** Potencial

Hidrogeniônico

°(Graus Celcius

ATP Trifosfato de Adenosina

UFC Unidade Formadora de Colônia

Nn Nanometros

MI Mililitro

Cm Centímetro

SO₂ Dióxido de Enxofre

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	03
2) REFERENCIAL TEÓRICO	05
2.1 O vinho e seus benefícios	05
2.2 Produção e classificação do vinho	07
2.3 Tipos de uvas para produção de vinho tinto	12
2.4 O processo fermentativo	14
2.5 O papel da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na fermentação do Vinho	14
2.5.1 Leveduras Nativas	16
2.6 Principais componentes químicos do vinho tinto	17
2.7 Cor do vinho	19
2.8 Diodos emissores de luz	19
2.9 Fotoestimulação	21
3) OBJETIVO	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos	23
4) MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Delineamento do estudo	23
4.2 Aquisição das Uvas Roxas	23
4.3 Isolamento de Levedura Selvagem	24
4.4 Montagem dos reatores Fotônicos	25
4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana do LED azul de 475 nm	27
4.6 Avaliação da eficácia do LED vermelho de 625 nm para fotoestimulação do processo de fermentação	29
4.7 Avaliação do pH	31
4.8 Avaliação do Grau Brix	31
4.9 Determinação do Teor de Etanol	31
4.10 Produtividade e rendimento da fermentação alcoólica	32
4.11 Análises estatísticas	33
5) REFERÊNCIAS	35
6) CAPÍTULO 1	41
7) CONCLUSÃO	59

1. INTRODUÇÃO

A vinicultura é uma atividade econômica recente no Brasil, quando comparada a países Europeus, considerados tradicionais nessa produção. No Brasil, a produção de uvas é centralizada principalmente nas regiões Sudeste e Sul, sendo que cerca de 50% das uvas cultivadas são destinadas a produção de vinho, correspondendo em média a 97% de toda a produção nacional. (GRANATO, 2011).

Durante as últimas décadas, a vinicultura brasileira, tem sido alvo de grande interesse, pois, tem mostrado desenvolvimento significativo mesmo em situações adversas relacionadas não só ao clima, mas, principalmente as dificuldades decorrentes da crise econômica mundial. Mesmo neste cenário, a produção de vinhos de mesa no ano de 2017 foi superior quando comparada ao ano anterior, segundo dados do Instituto Brasileiro de Vinho (IBRAVIN, 2018).

Além de ser uma bebida extremamente apreciada em vários locais pelo mundo, o vinho desempenha papel importante na economia de diversos países, dentre eles, destacam-se Espanha, França, China e o Brasil. Entre seus muitos componentes responsáveis por sua qualidade e valor nutricional estão os flavonoides, fenólicos não flavonoides, lantanídeos, cromo, potássio, cobalto, selênio e zinco (NETO, 2016). Além disso, é uma das mais importantes fontes de antioxidantes polifenólicos aceita, tendo recebido atenção especial aos seus efeitos inibitórios da oxidação de lipoproteína de baixa densidade (colesterol LDL) tanto em ensaios *in vitro* quanto *in vivo* (GRANATO, 2011).

A produção do vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, dentre estes, os fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados, resultam em um aumento significativo da qualidade do produto final. Um destes fatores é o estágio de maturação, referente à evolução completa da uva, que engloba quatro períodos: herbáceo, mudança de cor, maturação e sobrematuração (EMBRAPA, 2003).

Neste cenário, pesquisas têm mostrado que a fotoestimulação é capaz de acelerar a fermentação na produção de bebidas alcólicas, 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 LASER e LED em diversas áreas do conhecimento pouco se sabe sobre as influências desses recursos na produção de vinhos.

A grande demanda do produto para consumo interno e para exportação faz com que as vinícolas busquem meios de aperfeiçoar a produção, diminuindo custos ou o tempo despendido no processo além de possivelmente potencializar seus efeitos benéficos (IBRAVIN, 2017).

Dessa forma, a utilização de fotoestimulação com luz LED é uma alternativa que se mostra promissora, tanto do ponto de vista de melhoria da produção quanto da qualidade final do produto, visto que, a luz pode realizar o processo de seleção microbológica, o que possibilitaria a retirada da utilização do agente químico, metabissulfito, usado para este fim; pode ainda acelerar o processo de fermentação melhorando sua produção, principalmente em produção de grande escala e ainda potencializa seus efeitos benéficos. Nesse contexto a utilização de fotoestimulação para a produção dessa bebida mostra-se de extrema importância, pois está intimamente ligada a melhorias na produção e qualidade do produto.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O vinho e seus benefícios

O consumo da bebida teve início aproximadamente há 7.000 anos no Mediterrâneo, porém, a comprovação de seus benefícios à saúde só ocorreu em 1992 com a publicação do Paradoxo Francês. Esta descoberta teve início na década de 1980 quando a Organização Mundial de Saúde (OMS) conduziu um estudo epidemiológico, em escala mundial, conhecido como MONICA (Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease). Esse estudo mostrou que na França, apesar de o consumo elevado de gorduras saturadas, havia menor incidência de doenças coronárias quando comparado a outros países, fato atribuído ao consumo de vinho (MORAIS; LOCATELLI, 2011). Desde então, muitas pesquisas científicas a respeito dessa bebida estão sendo realizadas com o intuito de comprovar a relação entre seus compostos e os efeitos positivos à saúde humana (MORAIS; LOCATELLI, 2011). A uva contém polifenóis, substâncias que atuam no organismo diminuindo o risco de doenças cardiovasculares (DCV) (CASTILHOS, 2012).

Sabe-se que a presença de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em um organismo vivo está intimamente ligada ao aumento do risco de doenças crônicas, principalmente doenças cardiovasculares; em contrapartida, o consumo de frutas, vegetais e vinhos, ricas fontes de substâncias antioxidantes, tendem a reduzir tal risco (ARCHELA; ANTONIA, 2013).

Muitos estudos mostram ainda, que os polifenóis presentes nessa bebida, como o resveratrol e a quercetina, reduzem a oxidação do LDL-C, promovendo a atenuação da inflamação e a disfunção endotelial, contribuindo assim, para a redução do processo aterosclerótico (SERAFINI, MAIMANI, FERRO-LUZZI, 1998; LOKE et al., 2010; HAYEK et al., 1997). O benefício dessa bebida, principalmente na fase inicial da placa de ateroma foi demonstrado em vários estudos, porém, é importante ressaltar que este efeito está diretamente ligado à qualidade da bebida em relação a alguns fatores como, a quantidade fenólica do vinho e conseqüentemente com sua capacidade antioxidante (MACEDO et al., 2012).

Um exemplo disso, foi o estudo realizado por Apostolidou et al. (2015), onde 40 indivíduos saudáveis foram divididos em 2 grupos de acordo a idade e seus níveis de colesterol total (hiper e normocolesterolêmicos). No primeiro momento consumiram diariamente o vinho, devido ao seu conteúdo de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante. A dosagem foi de 125 mL por dia para mulheres e 250 mL por dia para homens no período de um mês. Após esse período, os participantes da pesquisa consumiram uma bebida placebo, na mesma quantidade e com o mesmo período e frequência. A vitamina E, os lipídeos sanguíneos e a capacidade antioxidante total foram medidos antes e depois do consumo de vinho e placebo. A atividade antioxidante total aumentou após a intervenção do vinho em indivíduos hipercolesterolêmicos ($p < 0,001$) e normocolesterolêmicos ($p = 0,002$). A vitamina E aumentou em hipercolesterolêmico (13,1%) e em normocolesterolêmico (5,41%) após o consumo de vinho tinto. Normalmente, em indivíduos hipercolesterolêmicos assintomáticos há uma maior tendência de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, devido justamente a seus altos níveis de colesterol e baixas concentrações séricas de vitamina E. Nesse sentido esse risco pode ser diminuído com uma intervenção precoce e com um consumo regular de vinho tinto.

Outro estudo realizado em 2013, além de avaliar os efeitos do vinho tinto tradicional, avaliou também os benefícios do vinho tinto desalcoholizado e do gim. Nesse estudo cruzado, observou-se o metabolismo da glicose e o perfil lipídico de sessenta e sete homens com alto risco de problemas cardiovasculares. Todos os pacientes receberam vinho tinto (30g de álcool / dia e 798 mg de polifenóis / dia), vinho tinto desalcoholizado (1,14g de álcool / dia e 733 mg de polifenóis / dia) e gim (30g de álcool / dia) durante um período de 4 semanas, em uma ordem aleatória. Tanto a Glicemia e insulina plasmática em jejum, HOMA-IR, lipoproteínas plasmáticas, apolipoproteínas e adipocinas foram avaliadas no início e após cada intervenção. No final do acompanhamento, foi observado que a insulina plasmática média ajustada e o HOMA-IR diminuíram após a intervenção do vinho tinto e do vinho tinto desalcoholizado; O LDL-C diminuiu (4,5% do valor basal) após a intervenção

das três bebidas, o colesterol HDL e a apolipoproteína A-2 aumentaram (7% para ambos e 9% e 5%, respectivamente, da linha de base) . Esses resultados foram atribuídos aos polifenóis naturalmente presentes no vinho tinto, mostrando que essa bebida em particular pode promover uma proteção contra doenças cardiovasculares (Chiva-Blanch, et al., 2013).

Diante disso, são notórios os benefícios do consumo moderado dessa bebida como forma de prevenção a doenças principalmente de linhagem cardiovascular.

2.2 Produção e classificação do vinho

O vinho é considerado uma bebida alcoólica resultante da fermentação da uva. Nessa etapa, várias reações químicas são realizadas por leveduras, transformando os açúcares presentes na fruta em álcool e posteriormente dando origem a bebida (DOMENEGHINI; LEMES, 2011).

De acordo com a legislação brasileira, os diferentes tipos de vinho são classificados de acordo sua cor e o teor de açúcar apresentado na bebida (BRASIL, 1998; BRASIL, 2004). Essa classificação pode ser vista no quadro 1. Além destas classificações, existem outras, sendo elas, destilação do vinho com teor alcoólico de até 14%: aguardente de vinho, destilado alcoólico simples de vinho, destilado alcoólico simples de bagaço, destilado alcoólico simples de borras e álcool vínico.

Quadro 1- Classificação de vinhos de acordo a legislação brasileira

Vinho de mesa	Bebida com teor alcoólico de 8,6% a 14%;
Vinho de mesa de viníferas	Vinho produzido unicamente com uvas das variedades <i>Vitis vinífera</i>
Vinho de mesa de americanas	Utilização de uvas do grupo das uvas americanas e/ou híbridas, podendo conter vinhos de variedades <i>Vitis vinífera</i>
Vinho fino	Vinho apresentando teor alcoólico de 8,6% a 14% elaborado exclusivamente de variedades <i>Vitis vinífera</i> do grupo Nobres
Vinho frisante	Vinho com teor alcoólico de 7% a 14%, na forma natural ou gaseificado
Vinho leve	Vinho com teor alcoólico de 7% a 8,5%, produzido exclusivamente da fermentação dos açúcares naturais da uva, produzido durante a safra nas zonas de produção,

	sendo proibida sua elaboração a partir de vinho de mesa.
Champanha (champagne), espumante ou espumante natural	Vinho com teor alcoólico de 10% a 13%, onde o anidrido carbônico é formado exclusivamente de uma segunda fermentação alcoólica do vinho presente em garrafas ou em grandes recipientes.
Vinho moscato espumante ou moscatel espumante	Vinho apresentando teor alcoólico de 7% a 10%, cujo anidrido carbônico é oriundo da fermentação em recipiente fechado, de mosto ou de mosto conservado de uva moscatel.
Vinho gaseificado	Vinho que apresenta a introdução de anidrido carbônico puro, com teor alcoólico de 7% a 14%;
Vinho licoroso	Vinho com teor alcoólico de 14% a 18%, sendo permitido, na sua elaboração, a adição de álcool etílico potável de origem agrícola, mosto concentrado, caramelo, mistela simples, açúcar e caramelo de uva.

FONTE: Lei Federal nº 7.678, de 08/11/1988, Lei Federal nº 10.970, de 12/11/2004

Segundo dados da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV 2015), no ano de 2013 foram produzidos no mundo cerca de 290 bilhões de litros de vinho. Dentre os produtores, destacam-se Itália, Espanha, França, Estados Unidos, Argentina e Chile, correspondendo por 51% da produção mundial. Mesmo com esses dados, a produção de vinho ainda permanece abaixo do pico que a indústria alcançou nas décadas de 1970 a 1980. Neste período, a produção mundial atingiu cerca de 25% a mais quando comparado aos dias atuais (TRUONG, 2012).

Porém, essa queda não é representativa de todo o cenário de produção da bebida, visto que, em outros países como EUA, Austrália, Chile, Argentina e mesmo no Brasil houve um aumento de produção e consumo significativo. Segundos dados da OIV referentes à produção de vinho no ano de 2013, o Brasil foi apontado como o país parte do grupo dos novos produtores. Com relação à produção de uva e também de vinho, o Brasil, ocupa a 14^a posição, ficando a frente da Hungria e Áustria, como é observado na tabela 1.

Tabela 1- Produção mundial de vinho (em bilhões de litros)

	2010	2011	2012	2013
França	44,4	50,8	41,5	42
Itália	48,5	42,8	45,6	54
Espanha	35,4	33,4	31,1	45,3
EUA	20,9	19,1	21,7	23,6
Argentina	16,3	15,5	11,8	15
África do Sul	9,3	9,7	10,6	11
China	13	13,2	13,5	11,8
Chile	8,8	10,5	12,6	12,8
Alemanha	6,9	9,1	9	8,4
Portugal	7,1	5,6	6,3	6,3
Romênia	3,3	4,1	3,3	5,1
Nova Zelândia	1,9	2,4	1,9	2,5
Grécia	3	2,8	3,1	3,3
Brasil	2,5	3,5	3	2,7
Hungria	1,8	2,8	1,8	2,7
Áustria	1,7	2,8	2,1	2,4
Outros	40,2	39,9	39,1	42,1
	265	268	258	291

FONTE: OIV (2015)

Normalmente, em maiores escalas de produção, o vinho é extraído quase que unicamente da *Vitis vinifera* também conhecida por videira europeia (CHIAPETTA, 2010). Algumas características marcantes do setor vitivinícola brasileiro está relacionada com a concentração da produção da bebida (não a de uva) numa pequena região do Rio Grande do Sul e, além disso, essa produção no país é preponderantemente obtida de uvas americanas e híbridas, diferentemente de praticamente todos os demais produtores, nos quais normalmente utilizam videiras europeias.

À os únicos países em que o vinho é obtido principalmente de uvas americanas são o Brasil e o Paraguai. Vale ressaltar que as videiras americanas são espécies nativas da América do Norte, e não variedades da videira europeia cultivadas naquele continente, a exemplo do que acontece com os vinhos da Califórnia (mais de 90% do vinho dos Estados Unidos são provenientes da *Vitis vinifera*). (ROSA; SIMÕES, 2004).

De acordo a Portaria de nº 229, de 25 de outubro de 1988 que trata sobre os padrões de identidade e qualidade do vinho, essa bebida é exclusivamente 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).

Nesse processo de fermentação do vinho, destacam três fases: a primeira fase, denominada fermentação tumultuosa, contém ainda o „bagaço“ das uvas (como observado na figura 1); é uma fase rápida e se manifesta por uma grande liberação de gás carbônico e pela elevação da temperatura do meio (GUERRA; DA SILVA, 2016).



Figura 1: Primeira fase de fermentação do vinho, denominada fermentação tumultuosa (Imagem Revista Adega).

A segunda fase, fermentação alcoólica ocorre de forma mais lenta em relação à primeira. É diretamente proporcional a presença de açúcar no meio, ou seja, com o passar dos dias, a fermentação começa a diminuir de intensidade devido à diminuição da presença do açúcar. Nesta etapa, ocorre à separação do líquido da parte sólida (bagaço, cascas, etc), como ilustrado na figura 2. No término, são poucos os açúcares que ainda restam e, neste momento, o mosto já é o vinho propriamente dito (BOAS, 2017).

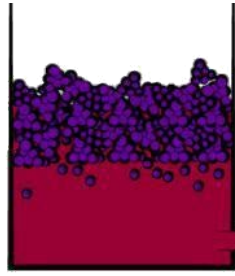


Figura 2: Segunda fase da fermentação do vinho (separação do líquido da parte sólida) (google imagens)

Depois de finalizada a fermentação alcoólica, a última etapa é caracterizada pela transformação do ácido málico em láctico, fase conhecida como fermentação malolática, nesse momento, ocorre redução da acidez total. Além disso, ocorrem também outras reações secundárias, como despreendimento de dióxido de carbono, pequena elevação da acidez volátil e do pH do vinho. Os agentes microbiológicos responsáveis por essa fase e suas conseqüentes transformações são as bactérias lácticas, microrganismos muito difundidos na natureza e que possuem elevado grau de especificidade (RIZZON; MANFROI, 2006).

A produção do vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, como fatores ambientais e intervenção humana. Um destes fatores é o estágio de maturação, referente à evolução completa da uva, que engloba quatro períodos: herbáceo, mudança de cor, maturação e sobrematuração (EMBRAPA, 2003). Além disso, é crucial que a fermentação ocorra de forma correta e satisfatória de modo que a qualidade no produto final produzido esteja de acordo com o esperado e os parâmetros destinados a essa bebida.

De acordo com a legislação vigente, no Brasil, é proibida a adição de qualquer quantidade de álcool e qualquer produto que não conste práticas enológicas lícitas, ou seja, que não esteja de acordo com o processo tecnológico, físico, químico ou biológico empregado em qualquer fase de elaboração do vinho ou do derivado da uva. Entretanto, caso as uvas não contenham o teor de açúcar necessário, é permitida sua adição para correção do mosto. É proibida, também, a segunda fermentação do bagaço da uva para a obtenção de vinho de mesa (Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988).

Outra característica dessa bebida está relacionada com sua longevidade, determinada por sua estrutura química. Vinhos jovens, aptos para consumo logo após sua produção, possuem tempo de vida limitado, pois 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 (GUERRA, 2005).

2.3 Tipos de uvas para produção de vinho tinto

A uva, principal ingrediente para a produção de vinho, ganha destaque dentre as frutas que são fontes de compostos fenólicos, pois nessa fruta se concentram os principais tipos, como os flavonoides (antocianinas, flavanóis e flavonóis), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzóicos) e uma grande variedade de taninos. Entretanto, os teores de fenólicos totais e de antocianinas nela encontrados estão relacionados com a espécie, sua variedade, sua maturidade, condições climáticas, condições de cultivo e as próprias condições de produção da bebida (KATO; TONHI; CLEMENTE, 2012).

Essa fruta como mostrada na figura 3, não é encontrada isolada e sim na forma de cacho, constituído pela parte herbácea que representa em torno de 4% a 10% de seu peso total, engaço e pelos grãos, sendo que essa composição varia de acordo com seu cultivo, como mostrado na tabela 2 (GUERRA, 2005).



Figura 3: Uvas roxas em forma de cacho constituídas pela parte herbácea, engaço e pelos grãos.

Tabela 2 - Massa total dos componentes da baga da uva em porcentagens
(Variante de acordo seu cultivo)

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

Fonte: Venturini Filho (2005)

Basicamente, as uvas se dividem em duas espécies sendo elas: *Vitis labrusca*, constituída das uvas comuns ou americanas e a espécie *Vitis vinífera*, formada pelas uvas europeias. Antigamente, no Brasil o cultivo dessa segunda espécie se restringia quase que unicamente aos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, devido principalmente ao clima mais frio quando comparado a outras regiões brasileiras. Com o aperfeiçoamento de técnicas de enxertia, plantas mais resistentes e com melhor adaptação aos diferentes tipos de solos e climas foram produzidas, possibilitando assim seu cultivo descentralizado num país como o Brasil (ABE et al., 2007).

De acordo dados da [Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento](#) (EMBRAPA), NO ANO DE 2017, o cultivo de uvas em regiões no Brasil teve início por volta do século XVI, porém, essa atividade tornou-se efetivamente comercial no ano de 1956, através do plantio de 100.000 pés de uvas híbridas pela empresa Cinzano S.A. com o objetivo de elaborar vinhos. Mas apenas nos anos seguintes é que a produção dessa bebida tornou-se mais difundida.

A obtenção de um produto final de qualidade está diretamente ligada à condição de sua matéria prima, relacionado desde o plantio até o momento de maceração; fatores como índice de maturação, relacionado à evolução completa do fruto, compreendendo os quatro períodos herbáceo, mudança de cor, maturação e sobrematuração estão intimamente ligados com esse padrão de qualidade que se deseja (EMBRAPA, 2017).

Além disso, é importante ressaltar que o vinho tinto só pode ser elaborado com uvas tintas, ou seja, que possuam em sua casca antocianinas, compostos fenólicos responsáveis pela cor, passados para o mosto no início do

processo de produção, desde o esmagamento (maceração) até o final do processo, quando a parte sólida (sementes e película) é separada do mosto. Dessa forma, a maceração é considerada uma das etapas mais importantes no processo de elaboração do vinho tinto (EMBRAPA, 2017).

2.4 O processo fermentativo

Desde a antiguidade o processo fermentativo já fazia parte do cotidiano humano, mais comumente utilizado na produção de bebidas e fabricação de pães. Inicialmente, não se sabia ao certo como ocorria esse processo. Apenas com estudos de Pasteur, é que relacionaram as transformações nos alimentos à presença de leveduras. Nesse sentido, processos biotecnológicos, envolvendo a levedura do gênero *Saccharomyces cerevisiae* principalmente na produção de bebidas como vinho e cerveja obtiveram maiores e melhores resultados (BRUNNING, 2014).

A fermentação é um processo vivo, ou seja, a conversão do açúcar do meio em etanol depende exclusivamente da levedura responsável (VITOR, 2014). Dessa forma, para que esse procedimento ocorra de maneira satisfatória, dentro das especificações técnicas, é necessário que a quantidade de microorganismos inoculada no mosto consiga converter os açúcares em álcool e gás carbônico dentro de condições adequadas. Esse conjunto de microorganismos presente no mosto recebe o nome de “pé de cuba” (Guerra, SILVA, 2016).

De acordo a legislação brasileira, fermentado de fruta é definido como uma bebida com teor alcoólico variante entre 4 % a 14 % em volume (20 °C), além disso, deve ser obtida pela fermentação alcoólica do mosto da fruta sã, fresca, maturação adequada, de uma única espécie e sem nenhuma adição de algum elemento, ou seja, deve ser totalmente proveniente do suco integral, concentrado ou polpa (MAPA, 2009). Na produção de vinhos a levedura utilizada para a fermentação é a *Saccharomyces cerevisiae*. Esta por sua vez, viabiliza uma série de vantagens, tais como: fermentação completa e regular, elevada produção de etanol, possibilita que a etapa de clarificação seja mais rápida e ainda promove melhoria em sua estabilidade biológica (ALCÂNTARA;

MENEZES, 2017). Com isso, a utilização de linhagens devidamente selecionadas proporcionam maior tolerância e conseqüentemente maior sobrevivência a condições de estresse encontradas durante a fermentação, como: elevado teor de sacarose, altas temperaturas, concentrações elevadas de etanol e variações de pH (BARBOSA, 2016).

2.5 O papel da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação do vinho

Leveduras são fungos unicelulares que tem como principal característica a capacidade de fermentar açúcar para produção de etanol. Existem em média cerca de 800 espécies de leveduras descritas, agrupadas em 80 gêneros. Além da característica de fermentação, também são caracterizadas por sua grande dispersão em seu habitat natural, ou seja, são facilmente encontradas em água salgada, solo e folhas (ADRIANI, 2016).

Entre as diversas leveduras existentes, a *Saccharomyces cerevisiae*, é a principal levedura utilizada no processo fermentativo de bebidas. Essa levedura é responsável em transformar o açúcar presente no meio em álcool e liberação de gás carbônico (BEATO, 2016). Além de sua ampla aplicação na indústria alimentícia, essa levedura também tem sido utilizada para a produção de substâncias químicas dentro do conceito de “química branca”, como por exemplo, produção de biocombustíveis, proteínas heterólogas, dentre outras (BEATO, 2016).

A *Saccharomyces cerevisiae* foi a primeira levedura a ser totalmente sequenciada genomicamente e atualmente tem sido amplamente utilizada como modelo eucariótico para pesquisas em diversas áreas, inclusive na área da saúde humana (BEATO, 2016). Responsáveis também pela fermentação espontânea do mosto de uva, inúmeros autores investigaram a origem das cepas de *Saccharomyces* (WANG E LIU, 2013). Alguns destes autores afirmam que a levedura é oriunda da comunidade microbiana residente em vinícolas. Dessa forma, o vento ou insetos existentes na vinha agem, como um condutor, transportando as leveduras do solo para as uvas. Partindo desse pressuposto, bagas de uva danificadas são ricos depósitos de *S. cerevisiae*, tornando a vinha um reservatório natural desta levedura. A diversidade de linhagens de *S.*

cerevisiae difere de acordo com cada planta e cacho de uva. Desse modo dificilmente será possível produzir bebida com igual qualidade sensorial de uma fermentação espontânea do vinho (GOMES et al, 2014).

Assim, é correto afirmar que a vasta variedade dos vinhos está relacionada ao seu ambiente de produção, pois este está normalmente ligado ao favorecimento ou não da levedura (MARSIT e DEQUIN 2015). Em casos como esse, geralmente ocorrem mutações pontuais adaptativas, deleções e rearranjos no promotor e na sequência de codificação da FLO11 que promovem a floculação e flutuação, ocasionando o aumento da capacidade das células da levedura obter oxigênio mesmo em ambiente hipóxico das fermentações líquidas (FIDALGO, et al. 2006). Duplicações de CUP1, também podem ocorrer nesse processo de adaptação ao meio, nesse caso, essa alteração está fortemente associada à resistência ao cobre (WARRINGER, et al. 2011), que, em níveis elevados, podem causar fermentações emperradas, ou seja, fermentação lenta. Neste cenário adaptativo, há também o gene THI5, envolvido no metabolismo da tiamina cuja expressão está relacionada a um indesejável odor de ovo podre (BARTRA et al. 2010; BRION et al. 2014). Esses exemplos ilustram que essas mutações, presumivelmente adaptativas, são também variantes genômicas estruturais, como duplicações, inserções, inversões e translocações e estão relacionadas ao produto final da fermentação (PRETORIUS 2000; MARSIT E DEQUIN 2015).

Variações genômicas benéficas proporcionaram ao longo do tempo uma adaptação de microrganismos selvagens, como a *S.cerevisiae* a novos habitats que sofreram alguma intervenção humana, os chamados habitats antrópicos. Durante milênios, alimentos fermentados foram produzidos inicialmente, através de um processo desenvolvido como meio de preservação totalmente dependente de uma fermentação espontânea de microrganismos "selvagens". Essas práticas recorrentes ocasionaram na adaptação e conseqüente domesticação desses microrganismos a esses habitats. Mais especificamente no vinho, os microrganismos tiveram que se adaptar a ambientes muitas vezes agressivos e dinâmicos, fato que só foi possível devido às variações genômicas (TONDINI et al, 2019).

Por causa de suas características primordiais, a *Saccharomyces cerevisiae* é a mais conhecida e amplamente utilizada das leveduras em processos fermentativos. Dentre suas características destacam-se: tolerância ao etanol e dióxido de enxofre (SO₂), completo catabolismo de açúcar, baixa produção de acidez volátil, baixo consumo de nitrogênio assimilável, alta taxa de crescimento e reprodutibilidade da fermentação, pontos fundamentais para o sucesso da fermentação e produção de um vinho de qualidade (TONDINI et al, 2019).

2.5.1 Leveduras Nativas

Popularmente conhecidas como selvagens, as leveduras nativas, sendo estas *Saccharomyces* ou não, são aquelas provenientes do meio, ou seja, são oriundas da comunidade microbiana residente em vinícolas, naturalmente presentes na uva que será utilizada para a produção do vinho (CECCATO-ANTONINI, 2010).

Algumas dessas leveduras possuem características contaminantes. Normalmente esse episódio é detectado quando ocorre uma queda no rendimento da fermentação, identificada, por exemplo, pelo excesso de produção de espuma o que prejudica diretamente o processo fermentativo, ocasionando uma menor produção de etanol (VIANA, 2017). Porém, muitas dessas leveduras selvagens apresentam bom rendimento fermentativo podendo ser selecionadas para o processo de fermentação, geralmente, as leveduras selvagens mais encontradas no processo de fermentação alcoólica pertencem ao gênero *Saccharomyces* (MARTINI et al., 2010)

Assim, o grupo de leveduras nativas que se adequam ao perfil esperado para processos de seleção apresentam várias características, dentre estas, alta eficiência fermentativa, capacidade de resistência ao estresse e, além disso, desenvolvem capacidade de exercer a dominância e prosseguir no processo (BASSO et al, 2008).

A identificação dessas características promoveram avanços conceituais em enologia, permitindo a vinificação utilizando leveduras autóctones, prática já validada em vários países (SYNOS et al., 2015). Os pontos positivos dessa

utilização se deve ao fato de que, quando essas leveduras nativas com potencial enológico são isoladas, elas conferem ao produto final, características únicas, principalmente relacionadas à qualidade da bebida (LIANG et al., 2013). Em um trabalho feito por Settani e colaboradores (2012), foram isoladas três cepas autóctones com características compatíveis para a elaboração de vinhos. Parecido com esse estudo, Scacco et al. (2013) também comprovaram com sua pesquisa que algumas cepas de leveduras autóctones são capazes de produzir maiores concentrações de compostos responsáveis pelas notas frutadas de pêra, responsáveis em conferir aroma característico aos vinhos da Sicília.

2.6 Principais componentes químicos do vinho tinto

Entre os principais componentes do vinho destacam-se: açúcares, alcoóis, ácidos orgânicos, sais de ácidos minerais e orgânicos, compostos fenólicos, pigmentos, substâncias nitrogenadas, pectinas, gomas e mucilagens, compostos voláteis e aromáticos (ésteres, aldeídos e cetonas), vitaminas, sais e anidrido sulfuroso (MORAIS; LOCATELLI, 2010). Esses componentes estão relacionados a uma série de reações benéficas a saúde humana.

Dessa forma, o vinho tinto é corretamente considerado uma mistura complexa, formada por uma série de componentes químicos. Em média, essa bebida é constituída por 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). Numa análise quantitativa, o principal componente do vinho, depois da água, é o etanol, produto resultante da fermentação. Esse componente está relacionado com sua estabilidade, seu envelhecimento e as propriedades sensoriais do vinho, com papel importante na extração de pigmentos e taninos e ainda na dissolução de compostos voláteis (GUERRA; BARNABÉ, 2005). No processo de fermentação, o glicerol é o terceiro produto mais abundante do metabolismo das leveduras, após o etanol e o dióxido de carbono. Esse composto orgânico confere melhor textura ao vinho, contribuindo assim de forma positiva a bebida (CARLSON, 2004). O efeito aromático do vinho está relacionado à presença de álcoois superiores,

formados pelo metabolismo das leveduras a partir dos açúcares e aminoácidos contidos no mosto. Esses compostos, portanto, atuam melhorando sua qualidade sensorial (BLAZQUEZ, 2004).

Os polifenóis desempenham um papel de extrema importância no que diz respeito à indústria do vinho, sobretudo em vinhos tintos. Estes compostos desempenham funções na coloração das bagas, na regulação da maturação, na defesa contra vários agressores (bactérias, insetos, etc.) e, ainda, na resistência à degradação enzimática e putrefação. As propriedades benéficas relacionadas ao consumo moderado de vinho tinto são também relacionadas a esses compostos e são amplamente relatadas na literatura (BOAS, 2017).

Além disso, os polifenóis desempenham função antioxidante tendo recebido atenção especial pelos seus efeitos inibitórios na oxidação do colesterol LDL tanto em ensaios *in vitro* quanto *in vivo* (GRANATO, 2011). A oxidação dessa lipoproteína está diretamente ligada ao desenvolvimento de doença cardiovascular pela formação da placa de ateroma, o consumo moderado dessa bebida vem sendo estudado para prevenção de eventos cardiovasculares, além do potencial inibidor do desenvolvimento de alguns tipos de câncer e doenças inflamatórias (GRANATO, 2011).

Em 1992, essa relação foi utilizada por Renaud e Logeril para explicar porque os franceses mesmo ingerindo altas quantidades de gorduras saturadas regularmente em sua alimentação apresentavam baixa taxa de mortalidade em decorrência de isquemia coronariana, evento chamado de “Paradoxo Francês”. Os autores atribuíram esse fato ao consumo regular de vinho tinto pelos franceses baseado nas descobertas do MONICA (Sistema de Monitoramento de Doenças Cardiovasculares), um projeto de pesquisa organizado pelas Nações Unidas. Esse projeto envolveu cerca de 7 milhões de pessoas com idade de 35 e 64 anos e pesquisadores de 21 países pelo período de 1 década. Nesse projeto, os organizadores descobriram que a França apresentava menor mortalidade por doenças cardiovasculares quando comparado aos Estados Unidos e Reino Unido, por exemplo. A França também apresentava fatores de risco elevados como pressão arterial elevada, hábito

constante de fumar e alto índice de massa corpórea, sendo o consumo de vinho tinto o fator que diferenciava as populações avaliadas.

Dessa forma, é correto afirmar que a ingestão em doses moderadas possui várias vantagens à saúde humana, dentre elas, auxílio na digestão, pois sua constituição ácida promove o aumento da salivação e a conseqüentemente liberação de suco gástrico, além disso, apresenta alto teor de potássio, o que favorece uma ação diurética. (MORAIS; LOCATELLI, 2011).

2.7 Cor do vinho

Considerada uma das características sensoriais mais importantes do vinho, a cor, é o primeiro atributo observado na bebida, sendo assim um critério de fundamental importância. Qualquer alteração nesse quesito tanto em sua tonalidade quanto sua intensidade, são considerados possíveis problemas com a bebida decorrentes de alguma falha no processo de produção (SANTOS, 2011).

A cor do vinho é resultado de compostos fenólicos presentes na uva que ao serem dissolvidos principalmente no momento da maceração e fermentação, promovem a cor característica da bebida, ou seja, a cor do vinho - diretamente ligada às características da uva e com as técnicas de produção (BIRSE, 2007)

Em resumo, em um vinho jovem, com a presença de antocianinas livres ocorre sua auto associação e sua junção com outros fenóis promovendo a cor vermelho brilhante. Diferente disso, em vinhos envelhecidos, a presença de pigmentos mais estáveis como pigmentos oligoméricos e poliméricos, resultante da condensação das antocianinas promovem na bebida a coloração laranja tijolo (ESCUADERO,G.; GONZÁLEZ, M.; HEREDIA, 2010).

2.8 Diodos emissores de luz

Diodo Emissor de Luz ou Light Emitting Diode (LED) é um componente semicondutor que converte corrente elétrica em luz. Essa conversão é denominada eletroluminescência. O LED não possui filamentos, eletrodos, tubo de descarga ou gás, dessa forma, é bastante resistente a impactos devido à

ausência de componentes mecânicos (LIMA, 2013). Diferentemente do que ocorre em lâmpadas convencionais onde essa transformação necessita de filamentos metálicos, radiação ultravioleta e descarga de gases, nos LEDs ocorrem na matéria sendo denominado estado sólido (PEREZ, 2015).

Como ilustrado na figura 4, no princípio de funcionamento do LED, a maioria dos semicondutores ocorre por dopagem de silício com um material que cria um campo de carga negativa (N) com excesso de elétrons e outro com carga positiva (P) onde não há presença de elétrons. Ao incidir uma voltagem, os elétrons movem do polo N indo em direção ao polo P, neste movimento a energia do elétron é liberada em forma de calor ou fótons de luz, sendo então emitida pelo aparelho (PEREZ, 2015). Os fótons são unidades básicas de luz assim, são liberados com o movimento dos elétrons. Para que esse movimento aconteça, ou seja, para que o elétron saia de uma órbita com menor energia para uma com maior energia, é necessário que ocorra o aumento de energia. Ao retornar para a camada mais baixa, ocorre a liberação de energia na forma de fóton.

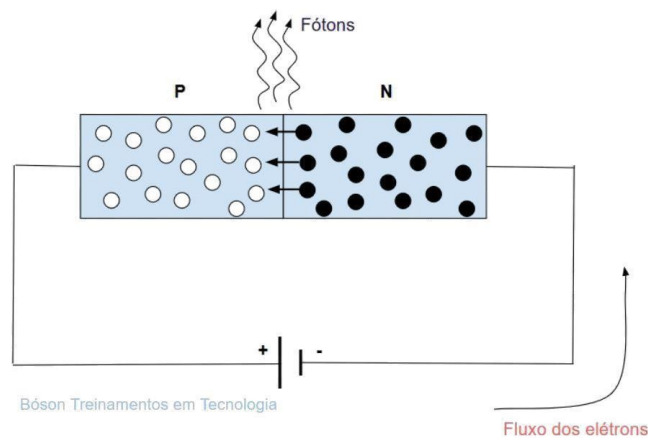


Figura 4: princípio de funcionamento do LED. Elétrons indo em direção ao polo P, após uma determinada voltagem. (google imagens)

A luz emitida pelo LED não é monocromática e o comprimento de onda está relacionado ao tipo de material utilizado na composição do semicondutor (BAGNATO, 2008). Perez (2015) aponta também que a junção P-N forma um diodo que, quando é diretamente polarizado, emite luz pela interação energética do elétron. As características da luz emitida por um LED (cor)

dependem de alguns fatores, dentre estes, a sua dopagem, o que promove diferença em seu band-gap, ou seja, diferença de energia existente entre as bandas de valência e de condução do material (BENEVIDES; BORTOLOSSO; OLIVEIRA, 2010).

A fotoestimulação em sistemas biológicos é um processo conhecido. A utilização de LED em leveduras como a *Saccharomyces* já comprovou ser estimulante de sua atividade respiratória favorecendo assim a reprodução celular. A utilização de diodo emissor de luz em processos de fermentação, sejam alcoólicos ou não, é rara. Pesquisadores do Instituto de Física da Universidade de São Carlos, tendo a Universidade de São Paulo como provedora depositaram patente em um experimento realizado com cerveja, no ano de 2012. Nesse estudo os pesquisadores descobriram que em determinados comprimentos de onda característicos de uma faixa do espectro vermelho e de outra do infravermelho o metabolismo da levedura se acelera. Assim conseguiram observar que a luz melhorou a permeabilidade da membrana celular da *Saccharomyces* proporcionando a metabolização de forma mais rápida do açúcar contido no malte e a excreção de etanol e CO₂ para fora do meio celular. A produção dessa cerveja foi premiada como a melhor do tipo Irish Red Ale – cerveja de cor vermelho-escura com sabor seco e de malte bem acentuado – na edição 2012 do Concurso Nacional das Acervas, as associações regionais de cervejeiros artesanais (ESTRACANHOLLI, BAGNATO, POLICARPOV, 2013).

2.9 Fotoestimulação

Há cerca de 40 anos, desde a invenção dos lasers, o uso da luz em baixos níveis ou próxima ao infravermelho para fins medicinais já são praticados. Em determinados comprimentos de onda e densidade de potência, a luz é capaz de promover a regeneração celular e, conseqüentemente, reduzir o dano em tecidos e a inflamação e a acelerar a cicatrização (HAMBLIN, 2013). A resposta celular com a aplicação da luz varia de acordo com o seu emprego (SAKAMOTO; ANDERSON, 2011), e, além disso, o mecanismo exato de ação da luz sobre as células ainda não está totalmente elucidado (ALGHAMADI,

KUMAR e MOUSSA 2011). Uma hipótese comumente aceita propõe que a luz 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. Os cromóforos são conjuntos de átomos presentes em uma molécula responsáveis pela cor, ou seja, são capazes de absorver a energia ou luz do visível, excitando-se. Assim, a energia fotônica é convertida em energia química, na forma de ATP, promovendo um aumento significativo no metabolismo celular. Diversos cromóforos envolvidos nesse processo já foram identificados, especialmente na mitocôndria. (SAKAMOTO; ANDERSON, 2011). Assim, a resposta celular difere dependendo do cromóforo que absorve a luz emitida, como podemos observar no 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 da Luz
Citocromo e Oxidase	Respiração Celular	Vermelho 625, 632.78, 650, 660, 725, 820 nm.	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, 625 nm.	Estimulação dos tecidos pela proliferação celular
Flavoproteínas	Início de reações com radicais livres.	<500 nm.	Menor estresse oxidativo. Reparação do DNA. Morte celular (Apoptose)

Fonte: Sakamoto; Anderson (2011)

A aplicação de fotoestimulação na fermentação de cerveja ou chope favoreceu a produção de álcool, a partir do consumo dos açúcares pelas leveduras, de forma mais rápida quando comparada a forma tradicional, ou seja, onde não há incidência de luz, levando a diminuição do tempo de fermentação do produto (ESTRACANHOLLI, POLICARPOV E BAGNATO

2013). Além disso, outro ponto favorável para a utilização de luz neste processo está na versatilidade de obtenção podendo ser monocromáticas ou policromáticas, oriunda de diferentes fontes. 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 (ESTRACANHOLLI, POLICARPOV E BAGNATO 2013), gerando mais facilidade no processo de fermentação.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de Diodos Emissores de Luzes (LEDs) na seleção microbiana e fermentação durante o processo de produção de vinho tinto.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar o efeito do LED azul no processo de eliminação bacteriana e seleção de leveduras durante a fermentação do mosto de uvas roxas.
- Avaliar o efeito da LED vermelho sobre a produtividade da fermentação durante a etapa inicial da produção de vinho tinto, através da quantidade de etanol produzido.
- Avaliar o efeito da LED vermelho sobre o rendimento da fermentação durante a etapa inicial de produção de vinho tinto, através da quantidade de etanol produzido.
- Avaliar as alterações no pH promovidas pela irradiação com LEDs azul e vermelho durante as etapas de produção do vinho tinto.
- Avaliar as alterações do Grau Brix promovidas pela irradiação com LEDs azul e vermelho durante as etapas de produção do vinho tinto.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Montagem dos reatores fotônicos.

Para a irradiação das amostras com as luzes azul e vermelha nas diferentes etapas do processo de produção do vinho, reatores fotônicos foram montados. Quatro fitas de LED RGB (Red – Green – Blue) (MSS LED Lightning Co., Ltda., Shenzhen, Guangdong, China) medindo 10 cm de comprimento foram fixadas nas paredes externas de um tubo de ensaio de vidro de 12 x 100 mm. Cada fita continha 6 LEDs RGB, perfazendo o conjunto um total de 24 LEDs RGB. Fios de cobre de 0,5 mm foram soldados nos terminais elétricos das fitas de LED para levarem o suprimento elétrico para o conjunto por meio de uma fonte de 12 v (MSS LED Lightning Co., Ltda., Shenzhen, Guangdong, China) O conjunto foi inserido em outro tubo de ensaio de vidro de 20 x 150 mm com a finalidade de proteger as fitas de LED e os terminais elétricos do contato com o mosto. Em seguida, o dispositivo foi inserido no interior de um erlenmeyer com capacidade de 250 mL. O sistema possuía controle remoto sem fio (MSS LED Lightning Co., Ltda., Shenzhen, Guangdong, China) que permitia a seleção do comprimento de onda desejado (625 nm – vermelho; 525 nm – verde; 475 nm – azul) (Figura 5).

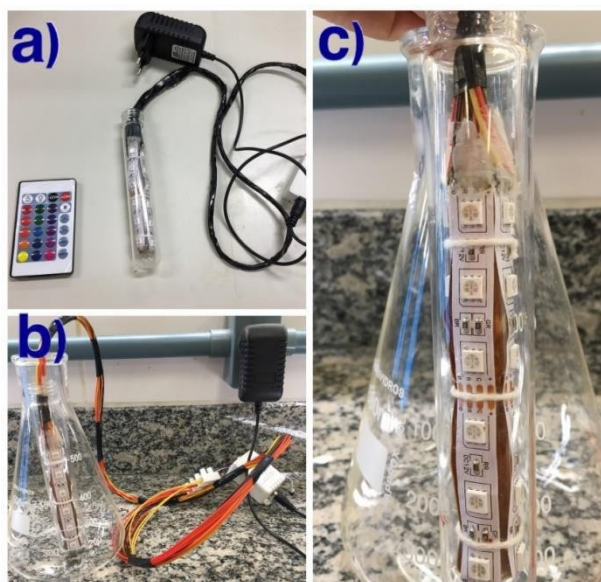


Figura 5: a) aparato fotônico utilizado; b) reator fotônico. c) visão aproximada dos LEDs;

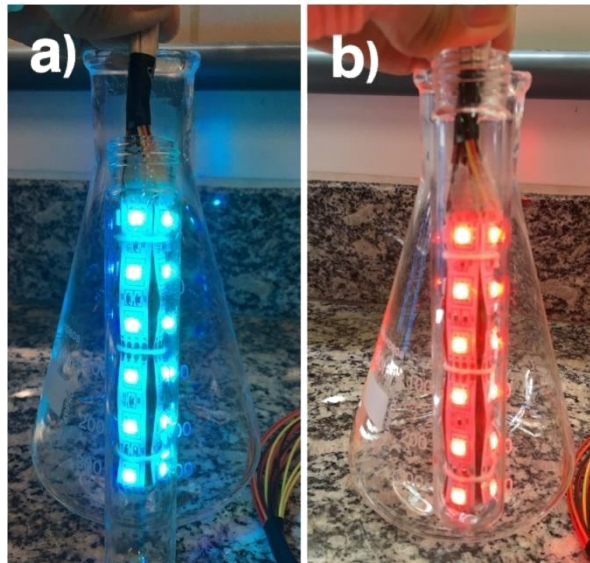


Figura 6: a) reator fotônico ligado: LED azul b) reator fotônico ligado: LED vermelho

4.2 Aquisição e preparação das Uvas

As uvas do tipo Itália foram provenientes da cidade de Juazeiro, município Brasileiro localizado na Macrorregião do Vale São Francisco da Bahia sendo todas adquiridas do mesmo produtor. Após aquisição, as uvas foram selecionadas, mantendo no experimento as que não apresentavam nenhum dano físico no exterior, depois foram lavadas em água corrente e então maceradas com as mãos que estavam devidamente higienizadas e com luvas do tipo cirúrgicas. A maceração foi feita para a obtenção do mosto que depois de obtido foi avaliado em todos os momentos o pH e grau Brix.

4.3 Avaliação do pH

Para a avaliação do Ph foi utilizada a Fita Universal (Faixa de pH: 0-12 Tempo de resposta: 1-10 minutos/ Embalagem: c/ 100 tiras- Figura 7). Essa fita foi imersa no mosto durante alguns segundos (cerca de 3-5). Após esse tempo foi retirada da solução, foi removido o excesso de líquido e então foi comparada com as cores da tabela presente na embalagem. As soluções menos ácidas compreendem as cores do laranja ao amarelo, resultado percebido na análise do mosto. A cor vermelha compreende substâncias extremamente ácidas e as

soluções neutras são verdes. O pH foi considerado ótimo com valores de 3 a 4 em todos os grupos do estudo.

4.4 Avaliação do Grau Brix

Para avaliação do Grau Brix, refratômetro (Q-767-1 % AÇÚCAR, faixa 0 a 32%, escalas 1, precisão 0,2 Brix, 18 cm, 125 g- Figura 7) foi inicialmente calibrado, para isso, a tampa do aparelho foi aberta e com o conta gotas foram colocadas duas gotas de água destilada, fechou-se a tampa e o aparelho foi apontado em direção da luz para melhor visualização, quando necessário, o anel de ajuste do foco era girado até que a escala de marcação pudesse ser vista nitidamente. Após a calibração, a tampa foi novamente aberta, a superfície do prisma foi secada com papel toalha e foi colocada uma gota do mosto para a medição. A tampa foi então fechada, pressionada suavemente e a leitura foi feita na escala correspondente ao limite entre a luz clara e a luz escura. Após a medição o aparelho foi devidamente higienizado. O Grau Brix foi considerado ótimo com valor mínimo de 15% em todos os grupos do estudo.

4.5 Determinação do Teor de Etanol

O teor de etanol durante a fermentação foi determinado a partir da leitura direta do Refratômetro alcoômetro (Faixa de medição de 0 A 80%vv Álcool Atc: Compensação Automática de Temperatura 10°C A 30°C Medidas 13x2x2cm Peso: 200 Gramas-Figura 7). O refratômetro foi inicialmente calibrado, para isso, a tampa do aparelho foi aberta e com o conta gotas foram colocadas duas gotas de água destilada, fechou-se a tampa e o aparelho foi apontado em direção da luz para melhor visualização, quando necessário, o anel de ajuste do foco era girado até que a escala de marcação pudesse ser vista nitidamente. Após a calibração, a tampa foi novamente aberta, a superfície do prisma foi secado com papel toalha e foi colocada uma gota do mosto para a medição. A tampa foi então fechada, pressionada suavemente e a leitura foi feita na escala correspondente ao limite entre a luz clara e a luz escura. Após a medição o aparelho foi devidamente higienizado.



Figura 7: Refratômetro alcoômetro acima, Refratômetro medidor de Grau Brix abaixo e Fita de Ph ao lado.

4.5 Isolamento da Levedura Selvagem

A levedura do gênero *Saccaromyces* utilizada para produção do vinho foi isolada das próprias uvas roxas, da maneira descrita a seguir:

O mosto preparado foi colocado em [erlenmeyer](#) para início da fermentação, realizada de forma anaeróbica com temperatura de 35°C incubados por 72 horas, sem adição de metabissulfito. Para garantir o meio anaeróbico, o [erlenmeyer](#) foi vedado com parafilme e uma mangueira de borracha foi inserida para que o gás carbônico proveniente da fermentação pudesse ser eliminado. Depois do tempo de fermentação, o mosto fermentado foi diluído na proporção de 1ml de amostra para 9ml de água peptonada em tubo falcon. As diluições foram feitas até a concentração de 10^{-3} , cada tubo foi agitado em vortex por 1 minuto e semeados em triplicata em meio Sabouraud para isolamento da levedura. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35° C, como podemos observar na figura abaixo:

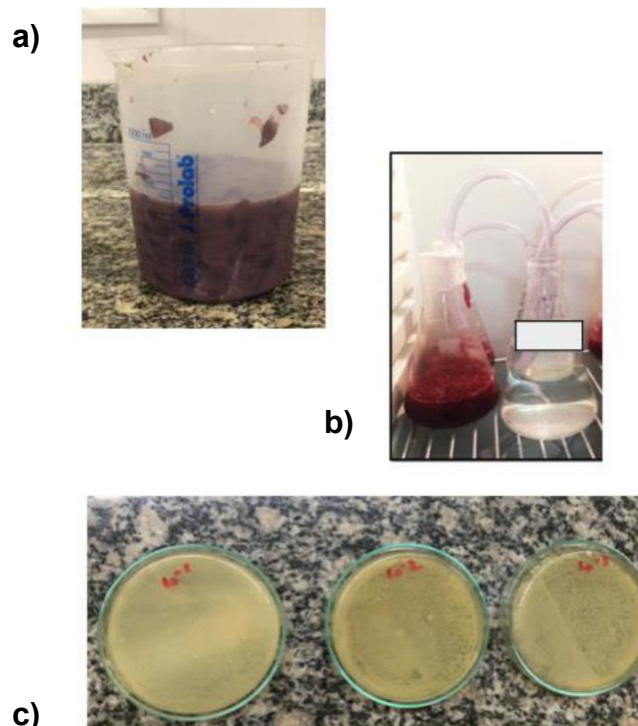


Figura 8: Processo inicial para isolamento da levedura. a) mosto das uvas roxas. b) fermentação do mosto em meio anaeróbico. c) plaqueamento do mosto em meio Sabouraud para isolamento da levedura.

Depois do período de 24 horas, as placas semeadas foram analisadas por microscopia. Para contagem das leveduras foi utilizado o método de contagem em placa. Um novo mosto foi produzido da mesma forma que o anterior para utilização da levedura e sua ativação. Foram produzidos 1000 ml de mosto de uvas roxas com casca e após pronto (segundo os mesmos passos já citados), foram acrescentados 2 alçadas da levedura semeada, logo em seguida o novo mosto foi incubado por 72 horas a temperatura de 35°C.

Após o período de incubação, o mosto foi filtrado utilizando coador de pano autoclavado para retirada das cascas e após isso, foi vedado e devidamente armazenado na geladeira até o momento da utilização. Esse mosto coado contendo a levedura recebe o nome de pé de cuba e em todos os grupos experimentais foi adicionado 50 ml desse mosto, garantindo assim que todos os grupos teriam a mesma quantidade de mosto contendo a levedura

isolada. O esquema de obtenção do mosto pode ser visto logo abaixo na figura 9.

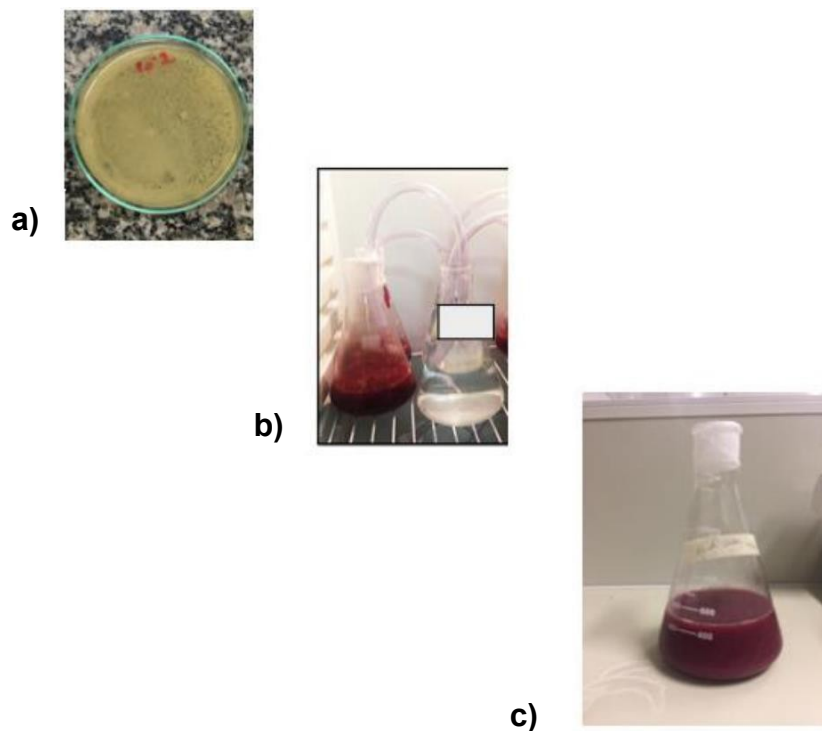


Figura 9: Processo de obtenção do pé de cuba. a) Levedura isolada. b) Novo mosto produzido contendo a levedura isolada. c) Pé de cuba (mosto coado contendo a levedura isolada).

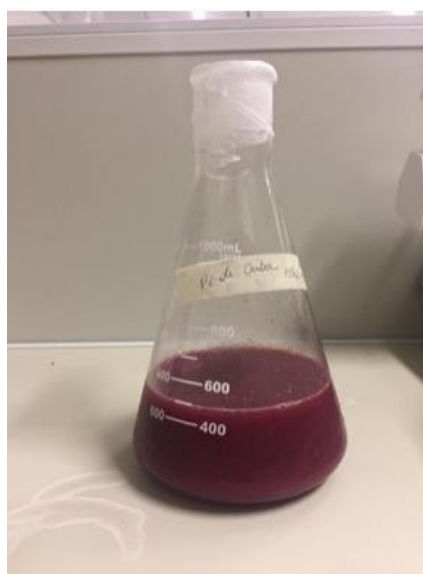


Figura 10: Pé de cuba utilizado em todos os grupos experimentais.

4.6 Grupos controle

Foram preparadas 10 amostras de 200 ml de mosto de uvas roxas juntamente com 50 mL do Pé de Cuba que não receberam nenhum tipo de tratamento. Para a fermentação, uma mangueira foi introduzida para a saída do gás carbônico sendo o conjunto vedado com parafilm, mantido a temperatura de 35°C em estufa pelo período de 72 horas.

As amostras foram avaliadas nos tempos de 0 (zero), 24, 48 e 72 horas por meio da coleta de 1,0 ml de cada amostra diluído em 8,0 ml de água peptonada nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , semeados em triplicata em meio Sabouraud e Plate Count Agar. As placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35°C. Após esse período foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC). Em todos os tempos avaliados houve averiguação do pH, Grau Brix e teor alcóolico.



Figura 11: Grupo controle no processo de fermentação anaeróbica.

4.7 Etapa de descontaminação do mosto: Avaliação da atividade antimicrobiana do LED azul de 475 nm

Foram preparadas 10 amostras de 200 ml de mosto de uvas roxas inserindo separadamente no interior de cada uma o reator fotônico juntamente

com 50 mL do Pé de Cuba. Uma mangueira foi introduzida para a saída do gás carbônico e o conjunto vedado com parafilm, mantido a temperatura de 35°C em estufa. Para que não houvesse interferência de outras luzes, as amostras foram recobertas com papel alumínio e a luz LED azul (475 nm) foi então acionada e as amostras irradiadas pelo período de 72 horas com os seguintes parâmetros: potência de 4,5 W e irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$ como observado na figura 12 abaixo.



Figura 12: Irradiação das amostras com a luz LED azul (475nm) com potência de 4,5 W e irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$

As amostras foram avaliadas nos tempos de 0 (zero), 24, 48 e 72 horas (gerando fluências de 162 J/cm^2 , 324 J/cm^2 e 486 J/cm^2 , respectivamente) por meio da coleta de 1,0 ml de cada amostra diluída em 8,0 ml de água peptonada nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , sendo então semeados em triplicata em meio Sabouraud e Plate Count Agar. As placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35°C. Após esse período foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), como mostrado na figura 13. Para todos os tempos avaliados, houve averiguação do pH, Grau Brix e teor alcóolico



Figura 13- Placas com crescimento microbiano em meio Sabouraud e Plate Count Agar, diluídas nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}

4.8 Etapa de produção de Etanol: Avaliação da eficácia do LED vermelho de 625 nm para fotoestimulação do processo de fermentação

A etapa de fotoestimulação da fermentação foi realizada com novos grupos. Para cada grupo o número de 10 amostras contendo 200 mL de mosto de uvas roxas foram preparadas inserindo separadamente no interior de cada amostra o reator fotônico juntamente com 50 mL do Pé de Cuba. Uma mangueira também foi introduzida para a saída do gás carbônico e então o conjunto vedado com parafilm, mantido em temperatura de 35°C. Para que não houvesse interferência de outras luzes, as amostras foram recobertas com papel alumínio e então a luz LED vermelha de 625 nm foi ativada durante o período de 72 horas com os seguintes parâmetros: potência de 4,5 W, irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$ e fluência de 486 J/cm^2 (figura 14). Foi avaliado em todas as amostras o pH, Grau Brix e teor de etanol no tempo inicial da fermentação (tempo zero) e tempo final da fermentação (72 horas).



Figura 14: Irradiação das amostras com Luz LED vermelha (625 nm) com potência de 4,5 W, irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$ e fluência de 486 J/cm^2

Nas amostras desse grupo não foi realizada o plaqueamento em nenhum dos meios, como estava sendo avaliado a fermentação, foi calculado a produtividade e rendimento da fermentação alcóolica, como descrito a seguir.

. 4.9 Produtividade e rendimento da fermentação alcóolica

O rendimento da fermentação alcoólica ($Y_{p/s}$) foi calculado pela correlação dos valores de etanol produzido com os teores de açúcares consumidos, pois, para que ocorra a fermentação, a sacarose presente no meio é utilizada como substrato pelas leveduras. Para isso foi utilizada a equação descrita por SCHMIDELL et al., 2001:

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S}$$

Sendo:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P₀ = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

S₀ = Concentração de substrato (sacarose) no início da fermentação (tempo zero).

S = Concentração de substrato (sacarose) ao final de fermentação.

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

$$Q_p = \frac{P - P_0}{t_f}$$

Onde:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P₀ = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

t_f = Tempo total da fermentação.

A fermentação foi avaliada no tempo inicial (zero) e final (72 horas).

O quadro 3 representa o resumo da distribuição dos grupos deste estudo.

Quadro 3 – Distribuição dos grupos experimentais, número de amostra e análises realizadas.

GRUPO	DESCRIÇÃO	N	ANÁLISES
I	Puro	10	Contagem de UFC, pH, Grau Brix
II	Metabissulfito	10	Contagem de UFC, pH, Grau Brix
III	LED 475 nm	10	Contagem de UFC, pH, Grau Brix
IV	LED 475 nm + Metabissulfito	10	Contagem de UFC, pH, Grau Brix
V	Puro	10	pH, Grau Brix, teor de etanol, produtividade/rendimento da fermentação alcoólica
VI	Metabissulfito	10	pH, Grau Brix, teor de etanol, produtividade/rendimento da fermentação alcoólica
VII	LED 625 nm	10	pH, Grau Brix, teor de etanol, produtividade/rendimento da fermentação alcoólica
VIII	LED 625 nm + Metabissulfito	10	pH, Grau Brix, teor de etanol, produtividade/rendimento da fermentação alcoólica

4.11 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk e homogeneidade das variâncias de Bartlett. Os dados referentes a contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) foram transformados em \log_{10} .

Os dados da fase experimental em que a atividade antimicrobiana, atividade antifúngica, avaliação do pH, avaliação da porcentagem Brix e avaliação da porcentagem de álcool das amostras submetidas ao LED azul (475 nm) foram comparados intragrupos por meio do teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95 %). As análises intergrupos foram realizadas por meio do teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95 %).

Os dados da fase experimental em que a avaliação do pH, avaliação da porcentagem Brix, avaliação da porcentagem de álcool e avaliações do rendimento e produtividade da fermentação das amostras submetidas ao LED vermelho (625 nm) foram comparados intragrupos por meio do teste T-pareado (95 %). As análises intergrupos foram realizadas por meio do teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95 %).

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- ADRIANI, P. P. Sistema de expressão induzido por estradiol em *Saccharomyces Cerevisiae*. 2016. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ALCÂNTARA, V. C.; MENEZES, E. G. T. Vinho de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces Cerevisiae*. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*. [v. 3, n. 6. 2017.](#)
- ALGHAMDI, K. M.; KUMAR, A.; MOUSSA, N. 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.
- APOSTOLIDOU, C. et al. Cardiovascular risk and benefits from antioxidant dietary intervention with red wine in asymptomatic hypercholesterolemic. *Clin. Nutr. ESPEN*, v. 10, n. 6, e224-e233, 2015.
- ARCHELA, E.; ANTONIA, L. H. Determination of Phenolic Compounds in Wine: A Review. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 34, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2013.
- ASTILHOS, Maurício Bonatto Machado de. Desenvolvimento e caracterização de vinhos tintos a partir de uvas cultivadas no noroeste paulista. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2012.
- BARBOSA, B.; ALMEIDA, P.; SAFAR, S. V. B. et al. Evidence of natural hybridization in Brazilian wild lineages of *Saccharomyces Cerevisiae*. *Genome Biology and Evolution*, v.8, n.2, p.317-329, 2016.
- BASSO, L.C. et al. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. *FEMS Yeast Res.*, v. 8, p. 1155-1163, 2008.
- BEATO, F.B. Physiology of *Saccharomyces cerevisiae*. Strains isolated from Brazilian biomes: new insights into biodiversity and industrial applications. 2016. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BENEVIDES, A. B. Y.; BORTOLOSSO, C.; OLIVEIRA, M. B. Diodos Emissores de Luz (LEDs). 2010. Disponível em: <https://chasqueweb.ufrgs.br/~hklmach/E061/Trabalho_2/LEDs.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2019.

BIRSE, M. J. The color of red wine. 2007. Tese (Doctorate of School of Agriculture, Food & Wine of Faculty of Sciences)- University of Adelaide, Austrália.

BLAZQUEZ, Rodrigo. Higher Alcohols. What is in wine. Disponível em: <<http://waterhouse.ucdavis.edu/whats-in-wine/higher-alcohols>>. Acesso em: 16 out. 2019.

BOAS, A. C. V. Caracterização físico-química, atividade antioxidante e perfil de compostos fenólicos em vinhos de inverno produzidos e comercializados no sul de Minas Gerais. 2017. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)- Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

BRASIL. Lei nº 10970, de 12 de Novembro de 2004. Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. **Lei de nº 10.970, de 12 de Novembro de 2004**. Brasília, 12 nov. 2004. Disponível em < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2004/Lei/L10.970.htm> Acesso em: 10 mai, 2019.

BRASIL. Lei nº7678, de 08 de Novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. **Lei nº7678, de 08 de Novembro de 1988**. Brasília, 08 nov. 1988. Disponível em < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/1980-1988/L7678.htm> Acesso em: 10 mai, 2019.

BRUNNING, A.. 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 maio. 2019.

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 Jun. 2019.

CARLSON, Christin. Glycerol in red wine. Disponível em: <<http://waterhouse.ucdavis.edu/whats-in-wine/glycerol>>. Acesso em: 16 out. 2019.

CHIAPETTA, R. V. A Territorialização do Setor Vitivinícola do Estado de São Paulo (1994-2009): Processo de Institucionalização, Grau de Desenvolvimento Territorial e Papel das Políticas Públicas. 2010. Dissertação (Mestrado). Curso de Geografia. Departamento de Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Campus de Rio Claro. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo, 2010.

CHIVA-BLANCH, G. et al. Effects of red wine polyphenols and alcohol on glucose metabolism and the lipid profile: A randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, v. 32, n. 2, p. 200- 206, 2013.

DOMENEGHINI, D. C. S. J.; LEMES, S. A. F. Effects of wine components on cardiovascular function. *Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 36, n. 1, p. 163-176, abr. 2011.

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 2019.

[Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.](https://www.embrapa.br/) Disponível em < <https://www.embrapa.br/>> Acesso em: 10 junho, 2019.

[Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.](https://www.embrapa.br/) Disponível em < <https://www.embrapa.br/>> Acesso em: 10 junho, 2019.

ESCUADERO, G. M. L.; GONZÁLEZ, M. L.; HEREDIA, F. J. Implications of blending wines on the relationships between the colour and the anthocyanic composition. *Food Research International*, v. 43, p. 745-752, 2010.

GRANATO, D. Associação entre atividade antioxidante *in vitro* e características químicas, sensoriais, cromáticas e comerciais de vinhos tintos Sul-Americanos. 2011. Tese (Doutorado em Ciências do Alimentos- Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

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 Blucher, 2005.

GUERRA, C. C.; DA SILVA, G. A. Processo de elaboração. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/uva_para_processamento/arvore/CONT000gasuo51v02wx5ok04xjloy1d1b300.htm>. Acesso em: 27 Agosto, 2019.

HAMBLIN, M. R. Mechanisms of Low Level Light Therapy. 2013. Disponível em: <<http://www.photobiology.info/Hamblin.html>>. Acesso em: 31 out. 2019.

HAYEK, T. et al. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation

aggregation. *Arterioscler. Thromb..Vasc. Biol.*, v. 17, n. 11, p. 2744- 2752, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE VINHO. Disponível em <
<https://www.ibravin.org.br/>> Acesso em: 20 março, 2019).

KATO, C. G.; TONHI, C. D.; CLEMENTE, E. Antocianinas de uvas (*Vitis Vinifera L.*) produzidas em sistema convencional. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, v. 6, n. 2, p. 809-821, 2012.

LIANG, H. Y., CHEN, J. Y., REEVES, M., HAN, B. Z. Aromatic and sensorial profiles of young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Research International*, v. 51, p. 855-865, 2013.

LIMA, V. A. Estudo comparativo entre lâmpada com led de alta potência e lâmpadas comuns, considerando a viabilidade econômica. Curitiba: Curso Superior de Tecnologia em Eletrotécnica. 2013. Disponível em <
http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2067/1/CT_COALT_2013_1_02.pdf> Acesso em 10 Agosto 2019.

LOKE, W. M. et al. Specific dietary polyphenols attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-Knockout mice by alleviating inflammation and endothelial dysfunction. *Arterioscler. Thromb..Vasc. Biol.*, v.30, n 4, p. 749-757, 2010.

MACEDO, L. F. L.; ROGERO, M. M.; GUIMARÃES, J. P. et al. Effect of red wines with diferente in vitro antioxidante activity on oxidative stress of high-fat diet rats. *Food Chem* 137: 122- 129, 2012.

MARSIT, S., DEQUIN, S. Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces* wine yeast: a review. *Journal Article*, v. 15, n. 7, p. 411-416, 2015.

MARTINI, C.; MARGARIDO, L.A.C.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Microbiological and physicochemical evaluations of juice extracted from different parts of sugar cane stalks from three varieties cultivated under organic management. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 3, n. 30, p.808-813, 2010.

MARTINI, C.; MARGARIDO, L.A.C.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Microbiological and physicochemical evaluations of juice extracted from different parts of sugar cane stalks from three varieties cultivated under organic management. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 3, n. 30, p.808-813, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei** nº 8.918, de **14** de julho de 1994. Disponível em <
http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pag_indisponivel.html> Acesso em: 07 de jul. de 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. 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 2019.

MORAES, V.; LOCATELLI, C. Vinho: uma revisão sobre a composição química 20 benefícios à saúde. Evidência, Joaçaba v. 10 n. 1-2, p. 57-68, janeiro/dezembro 2010.

NETO, B. E. Cenários Futuros para a Vinicultura em Jundiaí: Perspectivas sobre a atuação dos produtores de vinho artesanal da região. 2016. Dissertação (Mestrado em Administração) – Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO. Disponível em <<http://www.oiv.int/> > Acesso em: 20 março, 2019).

PEREZ, V. LED: O que é e como funciona. Disponível em: <<http://www.iar.unicamp.br/lab/luz/dicasemail/led/dica36.htm>>. Acesso em: 01 jun. 2019.

PONZZES-GOMES, C. M. P B. S., MÉLO, D. L. F. M., SANTANA, C. A., PEREIRA, G. E. et al. Saccharomyces cerevisiae and non-Saccharomyces yeasts in grape varieties of the São Francisco Valley. Brazilian Journal of Microbiology, n. 45, v. 2, p. 411-416, 2014.

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 jun. de 2019.

ROSA, S. E. S.; SIMÕES, P. M. Desafio da vinicultura Brasileira. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 19, p.67-90, Março, 2004.

SAKAMOTO, F. H.; ANDERSON, R. R. Research and Future Directions. In: NOURI, Keyvan (Ed.).Lasers in Dermatology and Medicine. Miami: Springer, p. 417-424, 2011.

SANTOS, H.P CHAVARRIA, G.; ZANUS, M.C.; ZORZAN, C.;MARODIN, G.A.B. Caracterização físico-química do mosto e do vinho Moscato Giallo em videiras cultivadas sob cobertura de plástico, Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 43, n. 7, p. 911-91, 2011.

SCACCO, A., OLIVA, D., DI MAIO, S., POLIZZOTTO, G., GENNA, G., TRIPODI, G.; LANZA, C. M., VERZERA, A. Indigenous Saccharomyces cerevisiae strains and their influence on the quality of Cataratto, Inzolia and Grillo white wines. Food Research International, v. 46, p. 1-9, 2013.

SERRAFINI, M.; MAIMANI, G.; FERRO- LUZZI, A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr.*, v. 128, n 6, p. 1003-1007, 1998.

SETTANI, L., SANNINO, C., FRANCESCA, N., GUARCELLO, R., MOSCHETTI, G. Yeast ecology of vineyards within Marsala wine area (western Sicily) in two consecutive vintages and selection of autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, p. 114, 606-614, 2012.

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

SYNOS, K., REYNOLDS, A.G., BOWEN, A.J. Effect of yeast strain on aroma compounds in Cabernet franc icewines. *LWT - Food Sci. Technol*, v.64, p. 227– 235, 2015.

TONDINIA, F. B., CHEN, T. L., et al. Linking gene expression and oenological traits: Comparison between *Torulasporea delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* strains. *International Journal of Food Microbiology*, n. 42, n. 49, 2019.

TRUONG, Q. D. *The Global Wine Industry I: An Overview*. Danvers: Global Angivesting, 2012. p.14.

VIANA, N.C. Caracterização morfológica e molecular de isolados de fermentação alcoólica. 2017. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade de São Paulo, Piracicaba.

VITOR, T. M. S. Fermentação em mostos com altos teores de açúcar. 2014. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo.

WANG, C., LIU, Y., 2013. Dynamic study of yeast species and *Saccharomyces cerevisiae* strains during the spontaneous fermentations of Muscat blanc in Jingyang, China. *Food Microbiology*, 33, 172-177

6 CAPÍTULO 1

RECURSOS FOTÔNICOS APLICADOS AO PROCESSO FERMENTATIVO DA PRODUÇÃO DE VINHO TINTO: AVALIAÇÃO DO PROCESSO INICIAL

Magda Souza Viana^{1,2,3}, Francine Cristina Silva Rosa^{1,2}; Daniel Mário Tápia
Tápia^{1,4}, Luciano Pereira Rosa^{1,2,3}

^Δ Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia,
Vitória da Conquista, BA, Brasil

^Δ Grupo de Biofônica Aplicada a Saúde, Universidade Federal da Bahia,
Vitória da Conquista, BA, Brasil

^Δ Endereço para correspondência. (email: magdanutviana@gmail.com)

[/] Endereço para correspondência. (email: drlucianorosa@yahoo.com.br)

[/] Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, BA, Brasil

RESUMO

O vinho é considerado uma bebida alcoólica resultante da fermentação da uva. A obtenção de vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, dentre estes, fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados, resultam em um aumento significativo da qualidade do processo inicial e conseqüentemente em melhorias do produto final. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de Diodos Emissores de Luzes (LEDs) na seleção microbiana, no rendimento e produtividade da fermentação durante o processo inicial de produção de vinho tinto. Reatores Fotônicos emitindo luzes azul e/ou vermelha foram desenvolvidos e introduzidos em erlenmeyers contendo mosto de uva com leveduras do gênero *Saccharomyces*, isoladas das próprias uvas. Para os grupos que foram avaliados a atividade microbiológica, foi utilizada a luz LED azul e para os grupos que foram avaliados a produtividade e rendimento da fermentação, foi utilizada a luz vermelha. O LED azul (475 nm) foi eficiente na diminuição bacteriana principalmente nos tempos de 48 e 72 horas de aplicação, mostrando

diferença estatística significativa ($p < 0,001$) quando comparados a todos os tempos do grupo Puro (P24h, P48h e P72h) e aos tempos de 24 horas do grupo Metabissulfito (M24h). O teor alcoólico obtido nas amostras que foram irradiadas com LED vermelho de 625 nm obtiveram resultados superiores quando comparados a todos os demais grupos ($p < 0,001$) no tempo final avaliado de 72 horas, mostrando que a luz estimula produção de etanol pelas leveduras. A fotoestimulação teve efeito positivo em mostos de uvas tanto para a seleção microbiana quando na obtenção de etanol, podendo assim ser utilizada como uma técnica inovadora aprimorando a produção de vinho tinto.

Palavras-chave: Vinho, uvas, LED, fermentação, fotoestimulação.

INTRODUÇÃO

A viticultura é uma atividade econômica recente no Brasil, quando comparada a países Europeus, considerados tradicionais nessa produção. No Brasil, a produção de uvas centraliza principalmente nas regiões Sudeste e Sul, correspondendo em média a 97% de toda a produção nacional de vinhos, dessa produção cerca de 50% das uvas cultivadas são destinadas a produção dessa bebida.

O vinho, além de ser uma bebida extremamente apreciada em vários locais pelo mundo, desempenha papel importante na economia de diversos países, dentre eles, destacam-se Espanha, França, China e o Brasil. Entre seus muitos componentes responsáveis por sua qualidade e valor nutricional estão os flavonoides, fenólicos não flavonoides, lantanídeos, cromo, potássio, cobalto, selênio e zinco. Além disso, é uma das mais importantes fontes de antioxidante polifenólicos aceita, tendo recebido atenção especial aos seus efeitos inibitórios da oxidação do colesterol LDL tanto em ensaios *in vitro* quanto *in vivo*.

A produção do vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, dentre estes, os fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados, resultam em um aumento significativo da qualidade do processo inicial de produção e consequentemente, melhoria do produto final. Um destes fatores é o estágio de

maturação, referente à evolução completa da uva, que engloba quatro períodos: herbáceo, mudança de cor, maturação e sobrematuração.

A grande demanda do produto para consumo interno e para exportação faz com que as vinícolas busquem meios de aperfeiçoar a produção, diminuindo custos ou o tempo despendido no processo além de possivelmente potencializar seus efeitos benéficos. Neste cenário, é necessária a utilização de novas tecnologias com o intuito de aperfeiçoar o processo já existente. Pesquisas têm mostrado que a fotoestimulação é capaz de acelerar a fermentação na produção de bebidas alcólicas, como observado num estudo realizado em São Carlos, onde a fotoestimulação foi empregada no momento da fermentação obtendo resultados bastante promissores.

Dessa forma, a utilização de fotoestimulação com luz LED é uma alternativa promissora, visto que, a luz pode realizar o processo de seleção microbiológica, possibilitando a retirada da utilização do agente químico, metabissulfito, usado para este fim; pode ainda acelerar o processo de fermentação melhorando sua produção, principalmente em produção de grande escala e ainda pode possivelmente potencializar seus efeitos benéficos. Dessa forma, a utilização de fotoestimulação para a produção dessa bebida mostra-se de extrema importância, pois está intimamente ligada a melhorias na produção e qualidade do produto. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de Diodos Emissores de Luzes (LEDs) na seleção microbiana, no rendimento e produtividade da fermentação durante o processo inicial de produção de vinho tinto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolamento de levedura selvagem

As uvas utilizadas neste estudo foram provenientes de um mesmo produtor da cidade de Juazeiro, município Brasileiro localizado na Macrorregião do Vale São Francisco da Bahia. O isolamento da levedura do gênero *Saccharomyces* para posterior fermentação do mosto foi realizado após a seleção, sanitização e retirada das semente das uvas. Após essa etapa as frutas foram colocadas no almofariz e maceradas com as mãos, foi averiguado o Grau Brix (Q-767-1 % AÇÚCAR, faixa 0 a 32%, escalas 1, precisão 0,2 Brix, 18 cm, 125 g) e Ph (Faixa de pH: 0-12 Tempo de resposta: 1-10

minutos/ Embalagem: c/ 100 tiras). O Grau Brix foi considerado ótimo com valor mínimo de 15 e o pH com valor de 3 a 4. Depois, o mosto foi colocado em [erlenmeyer](#) para início da fermentação, realizada de forma anaeróbica com temperatura de 35° incubados por 72 horas, sem adição de metabissulfito. Para garantir o meio anaeróbico, o [erlenmeyer](#) foi vedado com parafilme e uma mangueira de borracha foi inserida para que o gás carbônico liberado durante o processo fosse eliminado.

Depois do tempo de fermentação, o mosto fermentado foi diluído na proporção de 1ml de amostra para 9ml de água peptonada em tubo falcon. As diluições foram feitas até a concentração de 10^{-3} , cada tubo foi agitado em vortex por 1 minuto e semeados em triplicata em meio Sabouraud para isolamento da levedura. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35° C.

Após o período de 24 horas, as placas semeadas foram analisadas por microscopia. Para contagem das leveduras foi utilizado o método de contagem em placa. Um novo mosto foi produzido da mesma forma que o anterior para utilização da levedura e sua ativação. Foram produzidos 1000 ml de mosto de uvas roxas com casca e após pronto (seguindo os mesmos passos já citados), foram acrescentados 2 alçadas da levedura semeada e logo em seguida o novo mosto foi incubado por 72 horas a temperatura de 35°C.

Finalizado o tempo de incubação, o mosto foi filtrado utilizando coador de pano autoclavado para retirada das cascas e após isso, foi vedado e devidamente armazenado na geladeira até o momento da utilização. Esse novo mosto contendo a levedura isolada à chamado de Pé de Cuba e foi utilizado em todos os grupos experimentais, garantindo assim que todos recebessem o mosto contendo a levedura..

Grupos controle

Foram preparadas 10 amostras de 200 ml de mosto de uvas roxas juntamente com 50 mL do Pé de Cuba que não receberam nenhum tipo de tratamento. Para a fermentação, uma mangueira foi introduzida para a saída do gás carbônico sendo o conjunto vedado com parafilm, mantido a temperatura de 35°C em estufa pelo período de 72 horas.

As amostras foram avaliadas nos tempos de 0 (zero), 24, 48 e 72 horas por meio da coleta de 1,0 ml de cada amostra diluído em 8,0 ml de água

peptonada nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , semeados em triplicata em meio Sabouraud e Plate Count Agar. As placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35°C. Após esse período foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC). Em todos os tempos avaliados houve averiguação do pH, Grau Brix e teor alcóolico.

Avaliação da atividade antimicrobiana do LED azul de 475 nm

Foram preparadas 10 amostras de 200 ml de mosto de uvas roxas inserindo separadamente no interior de cada amostra o reator fotônico juntamente com 50 mL do Pé de Cuba. Uma mangueira foi introduzida para a saída do gás carbônico e o conjunto vedado com parafilm mantido a temperatura de 35°C em estufa. A luz LED azul (475nm) foi acionada inicialmente e as amostras foram irradiadas potência de 4,5 W e irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$.

As amostras foram avaliadas nos tempos de 0 (zero), 24, 48 e 72 horas por meio da coleta de 1,0 ml de cada amostra diluída em 8,0 ml de água peptonada nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , semeados em triplicata em meio Sabouraud e Plate Count Agar (PCA). As placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35°C. Após esse período foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) (Figura 3). Em todos os tempos avaliados, houve averiguação do pH e Grau Brix.

Avaliação da eficácia do LED vermelho de 625 nm para fotoestimulação do processo de fermentação

A etapa de fotoestimulação da fermentação foi realizada com novos grupos. Para cada grupo o número de 10 amostras contendo 200 mL de mosto de uvas roxas foram preparadas inserindo separadamente no interior de cada amostra o reator fotônico juntamente com 50 mL do Pé de Cuba. Uma mangueira foi introduzida para a saída do gás carbônico e o conjunto vedado com parafilm mantido em temperatura de 35°C. Para que não houvesse interferência da luz externa, todas as amostras foram recobertas com papel alumínio e então foram irradiadas com a luz LED vermelha de 625 nm durante o período de 72 horas com os seguintes parâmetros: potência de 4,5 W e irradiância de $112,5 \text{ mW/cm}^2$ e fluência de 486 J/cm^2 .

Em cada amostra foi avaliados o pH, Grau Brix e o teor de etanol em dois tempos diferentes: 0 (zero) e 72 horas (tempo final da fermentação).

Avaliação do pH

Para a avaliação do pH foi utilizado a Fita Universal (Faixa de pH: 0-12 Tempo de resposta: 1-10 minutos/ Embalagem: c/ 100 tiras). Essa fita foi imersa no mosto durante alguns segundos (cerca de 3-5). Após esse tempo foi retirada da solução, removido o excesso de líquido e então foi comparada com as cores da tabela presente na embalagem. As soluções menos ácidas compreendem as cores do laranja ao amarelo, resultado percebido na análise do mosto. A cor vermelha compreende substâncias extremamente ácidas, enquanto soluções neutras são verdes.

Avaliação do Grau Brix

Para avaliação do Grau Brix foi utilizado o refratômetro (Q-767-1 % açúcar, faixa 0 a 32%, escalas 1, precisão 0,2 Brix, 18 cm, 125 g) inicialmente calibrado, para isso, a tampa do aparelho foi aberta e com o conta gotas foi colocado duas gotas de água destilada, fechou-se a tampa e o aparelho foi apontado em direção da luz para melhor visualização, quando necessário, o anel de ajuste do foco era girado até que a escala de marcação pudesse ser vista nitidamente. Após a calibração, a tampa foi novamente aberta, a superfície do prisma foi secado com papel toalha e foi colocada uma gota do mosto para a medição. A tampa foi então fechada, pressionada suavemente e a leitura foi feita na escala correspondente ao limite entre a luz clara e a luz escura. Após a medição o aparelho foi devidamente higienizado.

Determinação do Teor de Etanol

O teor de etanol durante a fermentação foi determinado a partir da leitura direta do Refratômetro alcoômetro (Faixa de medição de 0 A 80%vv Álcool Atc: Compensação Automática de Temperatura 10°C A 30°C Medidas 13x2x2cm Peso: 200 Gramas) O aparelho foi inicialmente calibrado, para isso, a tampa do aparelho foi aberta e com o conta gotas foi colocado duas gotas de água destilada, fechou-se a tampa e o aparelho foi apontado em direção da luz para melhor visualização, quando necessário, o anel de ajuste do foco era girado até que a escala de

marcação pudesse ser vista nitidamente. Após a calibração, a tampa foi novamente aberta, a superfície do prisma foi secado com papel toalha e foi colocada uma gota do mosto para a medição. A tampa foi então fechada, pressionada suavemente e a leitura foi feita na escala correspondente ao limite entre a luz clara e a luz escura. Após a medição o aparelho foi devidamente higienizado.

Produtividade e rendimento da fermentação alcoólica

O rendimento da fermentação alcoólica ($Y_{p/s}$) foi calculado pela correlação dos valores de etanol produzido com os teores de açúcares consumidos, pois, para que ocorra a fermentação, a sacarose presente no meio é utilizada como substrato pelas leveduras. Para isso foi utilizada a equação descrita por SCHMIDELL et al., 2001:

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S}$$

Sendo:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P₀ = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

S₀ = Concentração de substrato (sacarose) no início da fermentação (tempo zero).

S = Concentração de substrato (sacarose) ao final de fermentação.

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

$$Q_p = \frac{P - P_0}{t_f}$$

Onde:

P = Concentração de etanol ao final de fermentação.

P₀ = Concentração de etanol no início da fermentação (tempo zero).

t_f = Tempo total da fermentação.

A fermentação foi avaliada no tempo inicial (zero) e final (72 horas).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção do vinho de qualidade depende de uma série de pré-requisitos, dentre estes, os fatores ambientais e intervenção humana que, quando otimizados principalmente no início do processo, resultam em um aumento significativo da qualidade do produto produzido quanto do próprio processo de produção.

A primeira etapa de produção que essa bebida engloba, tem como principal objetivo, a seleção da levedura nativa e eliminação dos outros microrganismos presentes no meio. Normalmente na fermentação alcoólica, as bactérias comumente encontradas são as pertencentes ao gênero *Bacillus* e *Lactobacillus*, sendo as Gram negativas, as de maior ocorrência (ESTRACANHOLLI, BAGNATO, POLICARPOV, 2013).

Atualmente, as vinícolas utilizam metabissulfito de Potássio ($K_2S_2O_5$) como agente descontaminante do mosto. Este produto químico possui em sua composição cerca de 50% de Dióxido de Enxofre (SO_2) e é este elemento que age como agente de controle bacteriano e de leveduras não-*Saccharomyces* através de interferência e/ou bloqueio em seus mecanismos intracelulares (DIVOL et al., 2012), tendo o mínimo efeito sobre a espécie *S. cerevisiae*. Porém, este produto químico é dependente da temperatura e do pH devido sua forte interação no meio, assim sua melhor ação se dá em pH alcalino (ESTRACANHOLLI, BAGNATO, POLICARPOV, 2013). Mesmo sendo efetivo neste processo, pouco se sabe sobre os efeitos desse agente químico no organismo humano, assim, o presente trabalho utilizou o LED azul de 475 nm em diferentes tempos para avaliar a eficácia dessa luz na atividade antimicrobiana, como uma possível forma de substituir este agente químico.

A figura 1 mostra a efetividade da luz LED de 475 nm na diminuição da contaminação bacteriana do mosto produzido. A análise intragrupos mostrou que para os diferentes tempos do grupo Puro (P0h, P24h, P48h e P72h) não houve diferença estatística ($p > 0,05$) com relação à contagem de UFC/mL de bactérias. Já para os grupos Metabissulfito e LED pode-se observar diferença significativa intragrupos ($p < 0,05$) para os tempos de 48 e 72 horas (M48h, M72h, L48h e L72h) quando comparados aos tempos de 0 e de 24 horas. O grupo em que foi feita a associação do metabissulfito com o LED de 475 nm mostrou diferença intragrupo nos tempos de 24, 48 e 72 horas (M+L475 24h, M+L475 48h, M+L475 72h) ao ser comparado com o tempo 0. Ao realizar as análises intergrupos, pode-se observar que o LED foi eficiente na diminuição bacteriana principalmente nos tempos de 48 e 72 horas de aplicação,

mostrando diferença estatística significativa ($p < 0,001$) quando comparados a todos os tempos do grupo Puro (P24h, P48h e P72h) e aos tempos de 24 horas do grupo Metabissulfito (M24h). Resultado semelhante aos grupos onde foi feita apenas a adição do metabissulfito de potássio nos mesmos tempos avaliados. Ao combinar o agente químico com a irradiação da luz, o efeito foi potencializado e o declínio dos microrganismos iniciou já no início do processo.

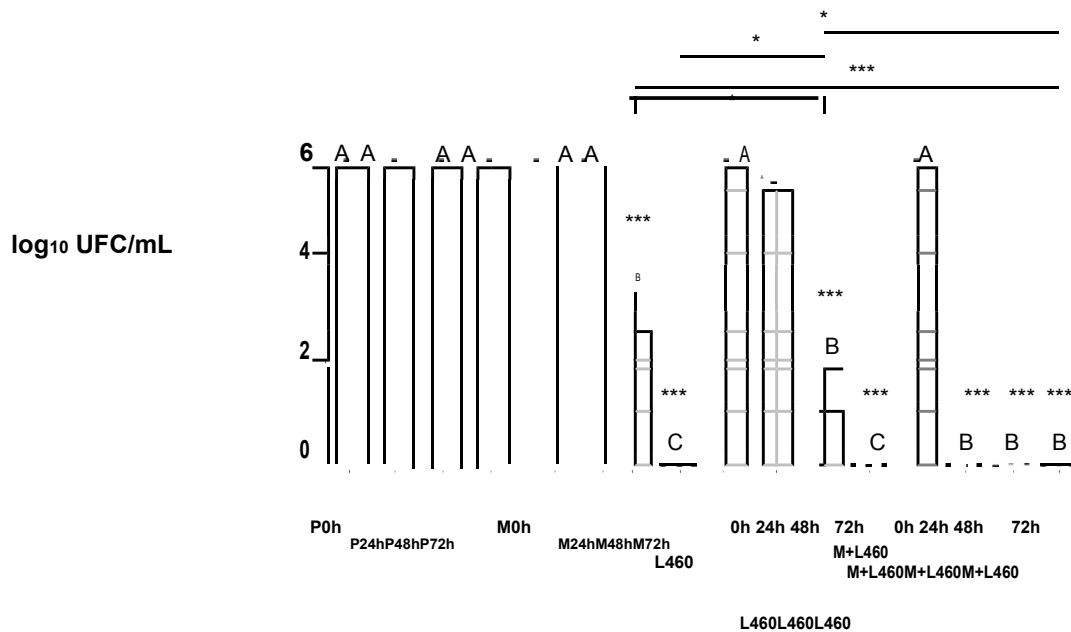


FIGURA 1- Média expressa em log₁₀ de UFC/mL e desvio padrão (barras de erro) para avaliação da atividade antimicrobiana do LED azul (475 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

A resposta celular com a aplicação da luz varia de acordo com o seu emprego (SAKAMOTO; ANDERSON, 2011), e, além disso, o mecanismo exato de ação da luz sobre as células ainda não está totalmente elucidado (ALGHAMADI, KUMAR E MOUSSA 2011). Uma hipótese comumente aceita propõe que a luz seja capaz de influenciar os fotorreceptores nas células, assim ele pode lesar a membrana celular dos microrganismos ocasionando sua morte.

Apesar de *S. cerevisiae* ser um microrganismo tolerante a ácidos (ABBOTT et al., 2009), a exposição a concentrações elevadas de ácidos orgânicos produzidos por contaminantes bacterianos pode retardar o metabolismo da levedura e reduzir sua

capacidade fermentativa (ESTRACANHOLLI, BAGNATO, POLICARPOV, 2013)., por isso essa etapa de descontaminação microbiológica é de fundamental importância, porém é necessário que o método utilizado não interfira nas leveduras nativas presentes no mosto (ESTRACANHOLLI, BAGNATO, POLICARPOV, 2013). Bassi et al. (2015) estudaram o efeito do SO₂, na forma de metabissulfito de potássio, sobre linhagens de *D. bruxellensis* e *S. cerevisiae*. Avaliando a eficácia do agente químico quando adicionado no processo fermentativo observaram que nas concentrações de 100 e 200 mg/L de MBP, três linhagens de *D. bruxellensis* apresentaram crescimento mais lento e total inibição do crescimento na concentração de 400 mg/L, indicando que o efeito do produto químico foi positivo. Já em cepas de *S. cerevisiae*, o efeito foi bem menor, independentemente do meio de cultura utilizado. Resultados semelhantes foram observados no presente estudo com a irradiação da luz azul, pois nos grupos que receberam este tratamento para descontaminação do mosto nos tempos de 48 e 72 horas (L475 48h e L475 72H), foi observada redução de leveduras semelhante ou menor daquela promovida pelo metabissulfito (M48h e M 72h, respectivamente) ($p > 0,05$). Apenas ao associar a luz e o metabissulfito ocorreu redução da população fúngica, principalmente nos tempos finais da etapa de fermentação ($p < 0,001$), como pode ser visto na figura 2.

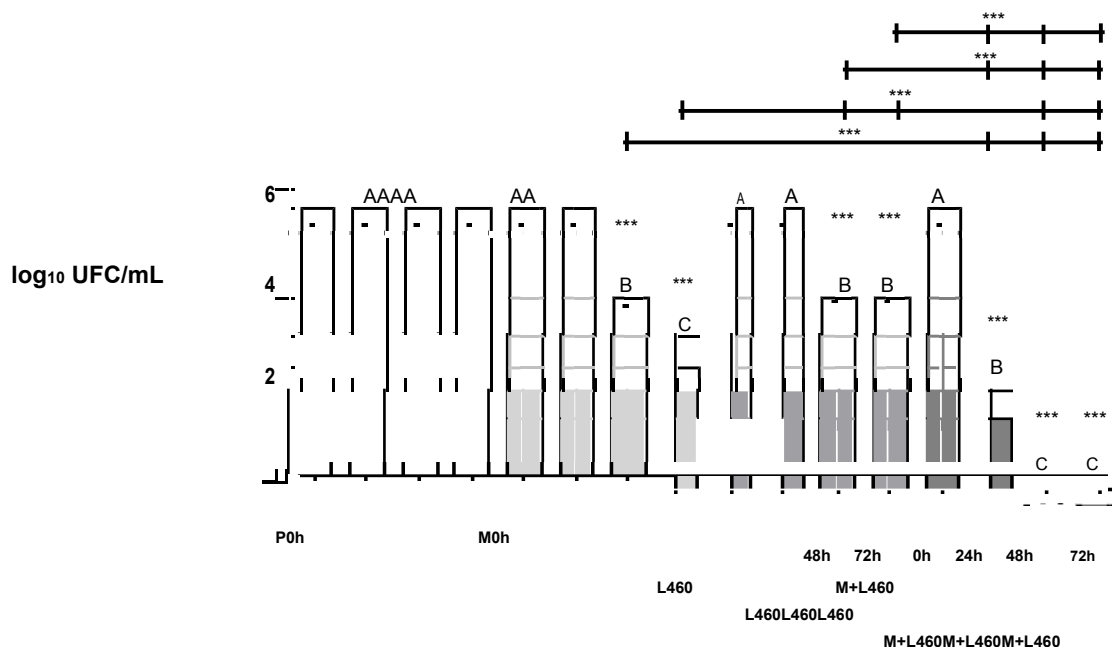


FIGURA 2- Média expressa em log₁₀ de UFC/mL e desvio padrão (barras de erro) para avaliação da atividade antifúngica do LED azul (475 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%).

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

No início do processo fermentativo outro ponto fundamental para ser observado e acompanhado é o potencial hidrogeniônico (pH) visto que, as leveduras responsáveis pela fermentação do mosto sobrevivem e atuam melhor em meio ácido, com pH em torno de 3 a 4. Esse fator influencia diversos aspectos da bebida como o sabor e a cor (BURIN, 2014). Como observado na Figura 3, o valor de pH não sofreu nenhum tipo de alteração no grupo Puro ($p > 0,005$), no grupo Metabissulfito ($p > 0,005$) e nas amostras que receberam irradiação do LED ($p > 0,005$), em nenhum dos tempos avaliados. Porém, a combinação de metabissulfito e a luz nos tempos de 24, 48 e 72 horas mostrou redução do pH com relação aos demais grupos ($p < 0,001$).

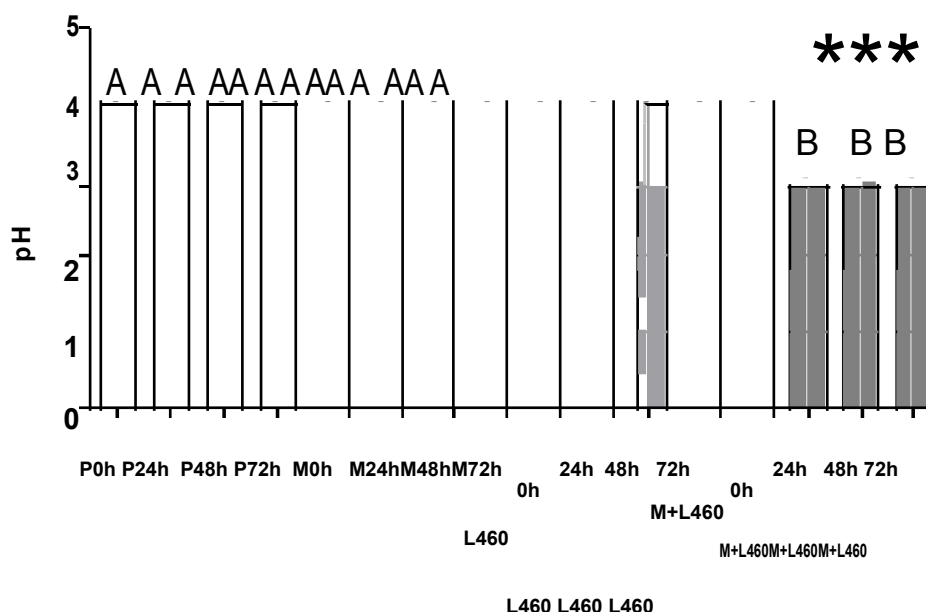


FIGURA 3- Avaliação do pH durante a irradiação com LED azul (475 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

Para a produção de etanol, as leveduras utilizam fonte de energia qualquer carboidrato presente no próprio meio, dentre estes a principal fonte é a sacarose. No processo fermentativo, a levedura metaboliza a sacarose em meio anaeróbico, liberando gás carbônico (CO₂) e consequentemente produzindo etanol (Universidade de São Paulo, 2014). Normalmente, a concentração de açúcar no mosto está aproximadamente

entre 170 e 220 g/L, para vinhos com 10 a 13 % volume de etanol no produto final (RIB'EREAUGAYON et al, 2006).

A etapa de descontaminação microbiológica visa unicamente preparar o meio e deixa-lo ainda mais propício para a fermentação, dessa forma, os agentes utilizados não podem afetar a sacarose presente naturalmente no mosto. Ao observarmos a Figura 4, percebe-se que a concentração de sólidos solúveis apresenta diminuição intragrupo em todos os grupos do estudo já a partir de 24 horas, sendo que para os grupos L475 48h e L475 72h a redução foi maior apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,005$) em relação aos tempos 0 e 24 horas. Dessa forma foi possível observar que a luz LED azul promoveu o mesmo nível de redução do grau Brix que o metabissulfito, comumente utilizado para a produção do vinho, mostrando que a aplicação da luz não promove o aumento da hidrólise da sacarose por outras vias que não seja apenas pelas leveduras.

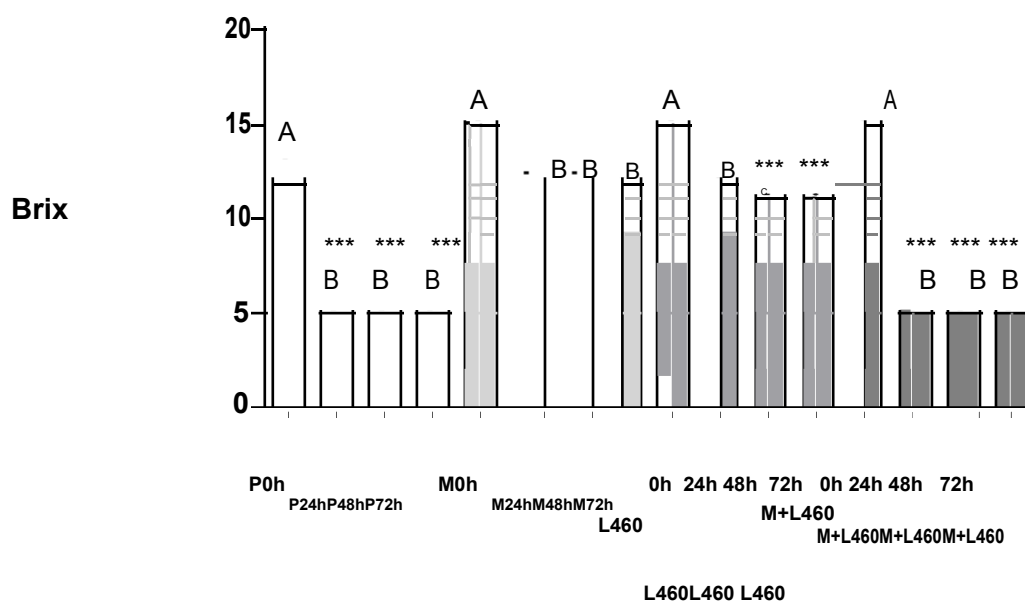


FIGURA 4- Avaliação da % Brix durante a irradiação com LED azul (475 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

A concentração de açúcar está diretamente relacionada ao sucesso ou não da fermentação, ou seja, em mostos com concentrações menores que 15g/l a fermentação ocorre de forma bem lenta, maior que esse valor ocorre um acréscimo na velocidade de

formação do álcool (RIB'EREAUGAYON et al, 2006;). Assim, O Grau Brix do mosto analisados foi considerado ótimo para este estudo com valor mínimo de 15%.

Em relação à produção de etanol, os grupos em que foi utilizado o metabissulfito, o LED azul e a associação do metabissulfito com a luz azul não apresentaram diferença estatisticamente relevante ($p > 0,005$) quando comparados entre si. Diferença estatística significativa foi observada quando esses grupos foram comparados com o grupo Puro ($p < 0,001$). Tal achado comprova que a luz azul não exerce nenhum efeito no processo fermentativo, o mesmo ocorreu quando a luz foi associada ao agente químico, esses dados podem ser observados na Figura 5.

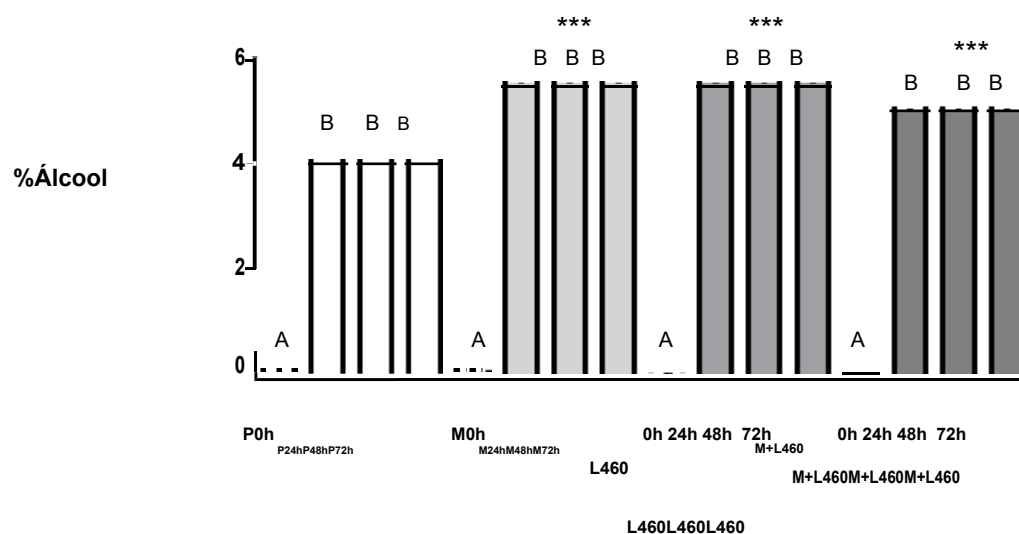


FIGURA 5- Avaliação da % de álcool durante a irradiação com LED azul (475 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste ANOVA para amostras dependentes com pós-teste de Bonferroni (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

Com a utilização da luz LED vermelha de 625 nm para estimulação do processo fermentativo, foi observado que com relação ao pH não houve alteração dos valores do mesmo, na maioria dos grupos testados ($p > 0,05$), porém, com a combinação da luz vermelha e do metabissulfito nos tempos finais da fermentação (48 e 72 horas) o pH foi alterado ficando mais ácido (M+L625 48h) e mais alcalino (M+L625 72h), não deixando um meio propício para a atuação das leveduras responsáveis para a fermentação (Figura 6).

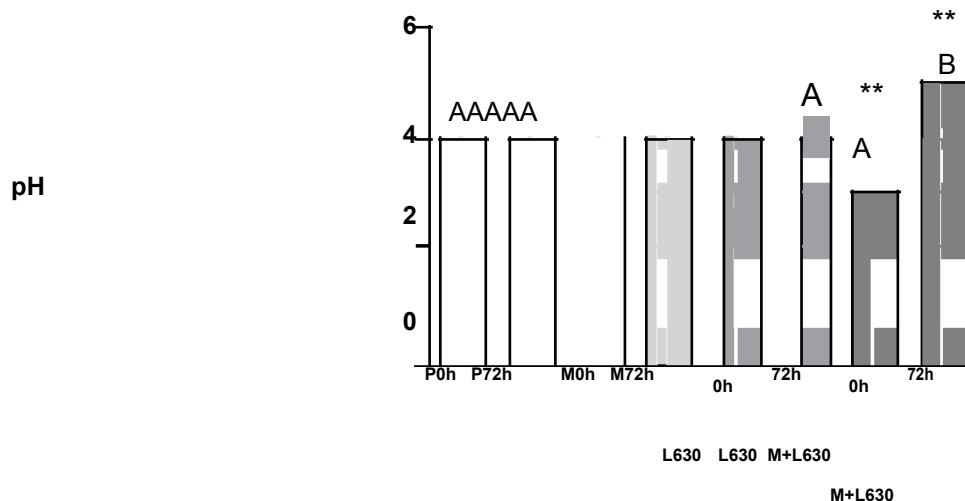


FIGURA 6- Avaliação do pH durante a irradiação com LED vermelho (625 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste T-pareado (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

A fermentação é um processo vivo, ou seja, a conversão do açúcar do meio em etanol depende exclusivamente da levedura responsável (VITOR, 2014). De acordo a legislação brasileira, fermentado de fruta é definido como uma bebida com teor alcoólico variante entre 4 % a 14 % em volume (20 °C), além disso, deve ser obtida pela fermentação alcoólica do mosto da fruta sã, fresca, maturação adequada, de uma única espécie e sem nenhuma adição de algum elemento, ou seja, deve ser totalmente proveniente do suco integral, concentrado ou polpa (MAPA, 2009). A fotoestimulação em sistemas biológicos é um processo conhecido. A utilização de LED em leveduras como a *Saccharomyces* já comprovou ser estimulante de sua atividade respiratória favorecendo assim a reprodução celular. A utilização de diodo emissor de luz em processos de fermentação, sejam alcoólicos ou não, é rara. Pesquisadores do Instituto de Física da Universidade de São Carlos, tendo a Universidade de São Paulo como provedora depositaram patente em um experimento realizado com cerveja, no ano de 2013. Nesse estudo os pesquisadores descobriram que em determinados comprimentos de onda característicos de uma faixa do espectro vermelho e de outra do infravermelho o metabolismo da levedura se acelera. Assim conseguiram observar que a luz melhorou a permeabilidade da membrana celular da *Saccharomyces* proporcionando a

metabolização de forma mais rápida do açúcar contido no malte e a excreção de etanol e CO₂ para fora do meio celular.

O presente estudo obteve resultados semelhantes, como pode ser observado na Figura 7, o teor alcoólico obtido nas amostras que foram irradiadas com LED vermelho de 525nm, obtiveram resultados superiores quando comparados a todos os demais grupos ($p < 0,001$), isso no tempo final avaliado de 72 horas, mostrando que a luz estimula produção de etanol pelas leveduras.

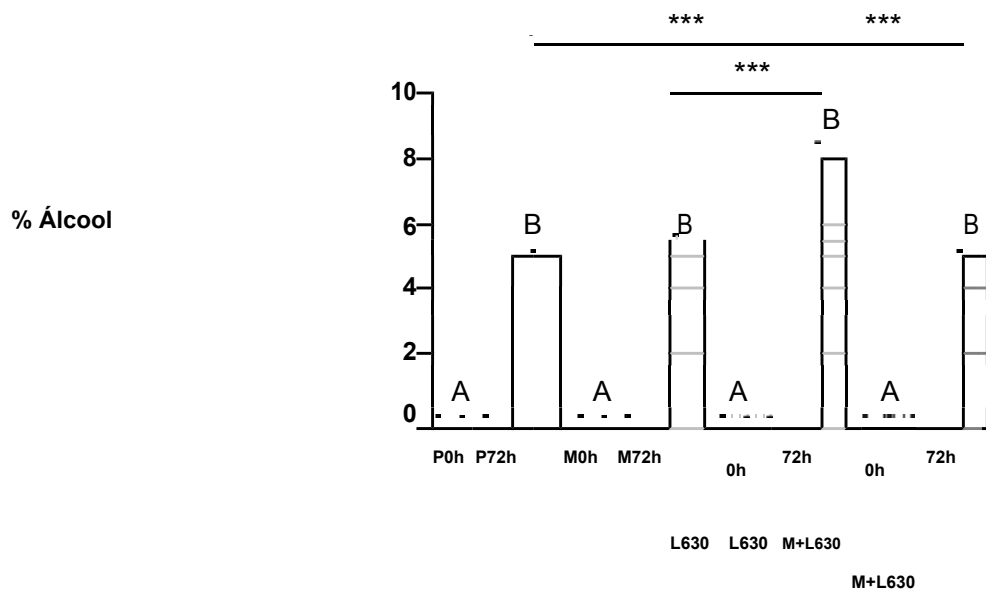


FIGURA 7- Avaliação da % de álcool durante a irradiação com LED vermelho (625 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste T-pareado (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

No processo fermentativo, a diminuição dos teores de sacarose deve ocorrer de forma gradativa, pois estes níveis estão diretamente ligados ao declínio das leveduras, assim espera-se que no final do processo a produção de álcool esteja completa e que não reste sacarose no meio, ou pelo menos que sua concentração seja mínima.

Como pode ser observado na Figura 8 o consumo de sacarose como fonte de energia está de acordo a produção de etanol quando comparamos com o gráfico anterior (Figura 7). É importante ressaltar que no tempo de 72 horas do grupo estimulado com luz, mesmo com o nível de álcool maior que os demais grupos, ainda estavam presentes uma quantidade significativa de sacarose no meio, com diferença estatística significativa

($p < 0,001$) quando comparado com os grupos Puro, Metabissulfito e associação de Metabissulfito com LED. Nossa hipótese para tal fato ter ocorrido é que a fotoestimulação pela luz vermelha fez com que os mecanismos de síntese de álcool da levedura tenham sido alterados, fazendo com que esses mecanismos sejam mais eficientes, assim a luz pode conseguir a concentração de álcool desejada em menor tempo.

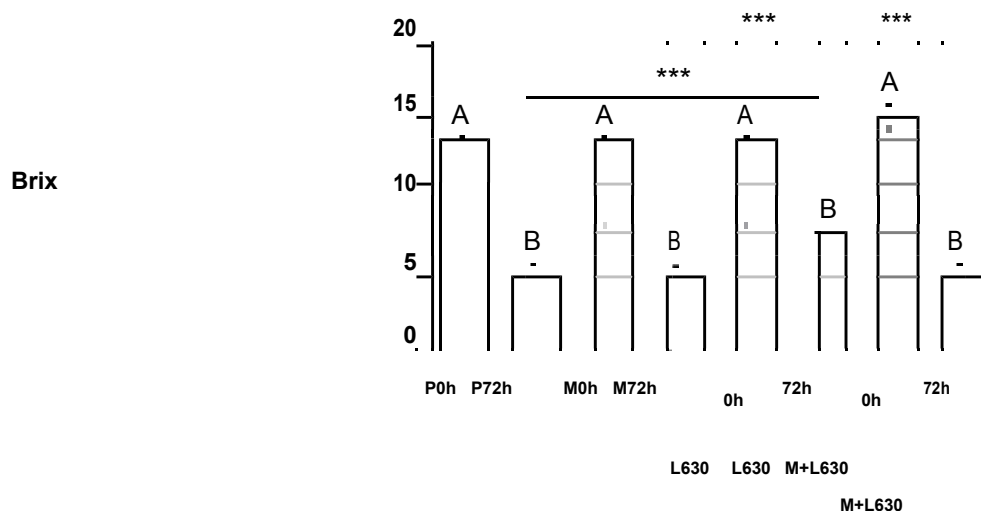


FIGURA 8- Avaliação da %Brix durante a irradiação com LED vermelho (625 nm). Comparações intragrupos obtidas com o teste T-pareado (95%). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para a comparação intragrupo. * = diferença estatística significativa para as comparações intergrupos. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

O vinho é considerado uma bebida alcoólica resultante da fermentação da uva. Nessa etapa, várias reações químicas são realizadas por leveduras, transformando os açúcares presentes na fruta em álcool e posteriormente dando origem a bebida (DOMENEGHINI; LEMES, 2011).

A quantidade de etanol produzido por unidade de açúcar durante a fermentação do mosto em vinho tem uma grande importância industrial. Normalmente, a conversão teórica de 180 gramas de açúcar em 88 gramas de CO₂ e 92 gramas de etanol (ou 51% em peso), poderia se conseguir caso houvesse todo o crescimento da levedura e que não ocorresse nenhuma perda de etanol por evaporação. Porém, sabe-se que, na prática, o rendimento em álcool não acontece dessa forma, devido uma série de fatores, dentre eles relacionados ao próprio processo (BARROS, 2013). Segundo Boulton et al. (2002), os experimentos originais de Pasteur indicaram que havia um rendimento de

etanol em 48,5%, 46,7% de dióxido de carbono e 4,8% de glicerina, succinato e outros produtos, incluindo a biomassa da levedura. É importante ainda ressaltar que o poder alcoogênico representa uma ampla variabilidade, ou seja, está diretamente relacionado às diferentes espécies de leveduras vnicas, e, em alguns casos, entre as diferentes cepas de uma mesma espécie (BARROS, 2013). Nas Figuras 9 e 10, avaliamos o rendimento da fermentação e conseqüentemente a produtividade desse processo. É importante ressaltar que são variáveis diretamente proporcionais, ou seja, a medida que a produção de álcool fica maior indica que a produtividade foi melhor. Nos grupos avaliados, percebemos que a luz vermelha, promoveu maior e melhor obtenção de álcool quando comparado com os outros grupos ($p < 0,001$), estando de acordo com os resultados anteriormente discutidos, em que a obtenção de etanol foi maior para esse grupo.

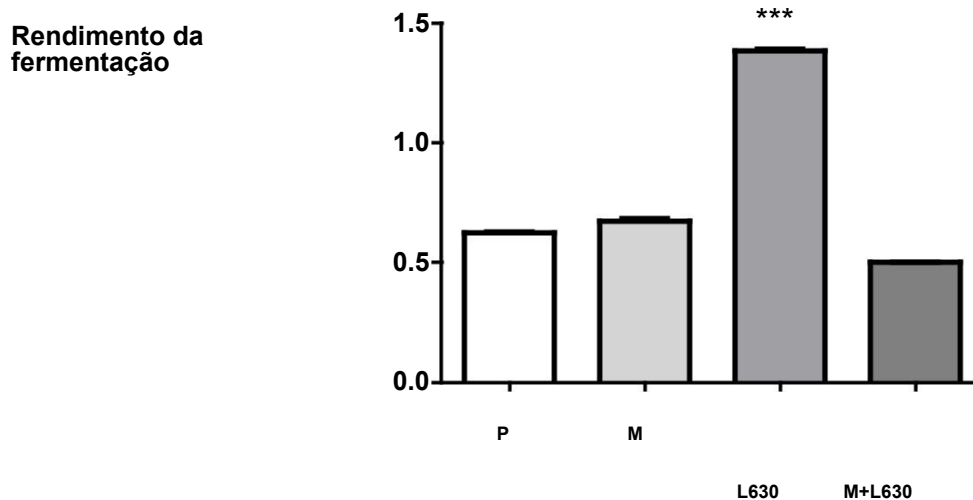


FIGURA 9- Avaliação do rendimento da fermentação durante a irradiação com LED vermelho (625 nm). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). * = diferença estatística significativa. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

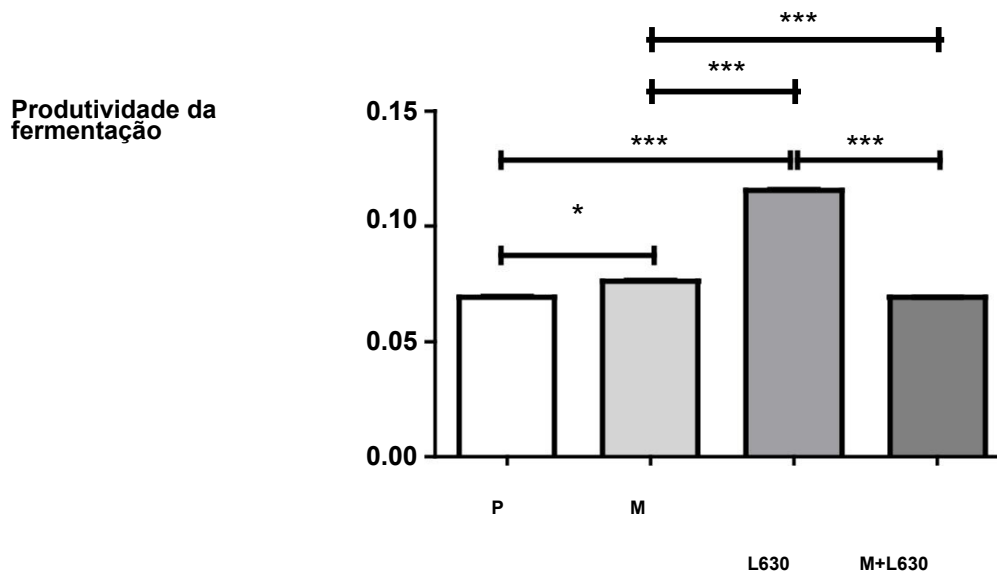


FIGURA 10- Média expressa em log₁₀ de UFC/mL e desvio padrão (barras de erro) para avaliação da produtividade da fermentação durante a irradiação com LED vermelho (625 nm). Comparações intergrupos obtidas com o teste ANOVA com pós-teste de Bonferroni (95%). * = diferença estatística significativa. P = puro; M = metabissulfito; L = LED; M+L = associação do metabissulfito com o LED.

CONCLUSÃO

Diante disso, percebe-se que a aplicação de fotoestimulação pode ser empregada na produção do vinho como uma forma de otimizar o processo pois a luz se mostrou eficaz sob a atividade antimicrobiana visto que, ao realizar as análises intergrupos, pode-se observar que o LED azul (475 nm) foi eficiente na diminuição bacteriana principalmente nos tempos de 48 e 72 horas de aplicação, mostrando diferença estatística quando comparados a todos os tempos do grupo Puro (P24h, P48h e P72h) e aos tempos de 24 horas do grupo Metabissulfito (M24h), dessa forma, o metabissulfito, agente químico utilizado para esta finalidade pode ser substituído pela luz, já que, pouco se sabe sob os efeitos deste produto químico no organismo humano. Com relação à fermentação, o teor alcoólico obtido nas amostras irradiadas com LED vermelho (625 nm), obtiveram resultados superiores quando comparados a todos os demais grupos no tempo final avaliado de 72 horas, mostrando que a luz estimula produção de etanol pelas leveduras sem ocasionar danos no mosto das uvas.

Assim percebe-se que a utilização das luzes azul (475 nm) e vermelha (625 nm) tem efeito positivo em mostos de uvas podendo ser usadas como técnicas de aprimoramento na produção de vinho tinto tanto em grande escala ou mesmo na

produção do vinho de mesa, pois o agente químico pode ser retirado e substituído por luz e, além disso, a obtenção de etanol ocorre em maior quantidade em menos tempo.

11. REFERÊNCIAS

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 2019

DIVOL, B.; TOIT, M.; DUCKITT, E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 95, p. 601–613, 2012.

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

ALGHAMDI, K. M.; KUMAR, A.; MOUSSA, N.A. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med. Sci.* v. 27, n. 1, p. 237-49, 2012.

ABBOTT, D.A. et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of carboxylic acids: current status and challenges. *FEMS Yeast Res.*, v. 9, p. 1123–1136, 2009.

BASSI, A.P.G. et al. Potassium metabisulphite as a potential biocide against *Dekkera bruxellensis* in fuel ethanol fermentations. *Lett. Appl. Microbiol.*, v. 60, n. 3, p. 248- 258, 2015.

BURIN, V. M.; LIMA, N.F.; Panceri, C.P. & Bordignon-Luiz, M.T.). 250 Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods, *Microchemical Journal*, n. 1, p. 155–16, 2014.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÉCHE, B. *Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. Talence: John Wiley & Sons Ltd. V.2, 2006.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei** nº 8.918, de **14** de julho de 1994. Disponível em <
http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pag_indisponivel.html> Acesso em: 07 de jul. de 2019

DOMENEGHINI, D. C. S. J.; LEMES, S. A. F. Effects of wine components on cardiovascular function. *Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 36, n. 1, p. 163-176, abr. 2011.

BARROS, A. P. A. Influência da cepa de levedura na composição fenólica e aromática de vinhos da cv. Syrah no vale do submédio São Francisco. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Centro Tecnológico, Universidade de Santa Catarina, Florianópolis

BOULTON, R. B.; SINGLETON, V. L.; BISSON, L. F.; KUNKEE, R. E. *Teoría y Práctica de La Elaboración Del Vino*. Editorial Acribia, S.A., Zagarosa, Espanha, p. 636, 2002.