

CULTURAS PURAS NA FABRICAÇÃO DE VINHOS\*  
Pure Yeast Cultures in Wine Making

Carlos Eugênio Daudt\*\*

RESUMO

Mostos foram fermentados industrialmente com culturas puras de *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet. Descrição do recipiente para reprodução de células de leveduras (pê de cuba) assim como o método e quantidades adicionadas são fornecidas. Os vinhos obtidos foram comparados em alguns aspectos com os vinhos produzidos por leveduras selvagens, como é normal até hoje na maioria de nossas cantinas. Aspectos comparados foram assepsia e rendimento de fermentação; também qualidade de vinhos obtidos com e sem cultura pura foram analisados por teste de preferência sem preocupação de análise sensorial mais profunda. Este é um trabalho muito mais prático do que científico e o objetivo foi provar que culturas puras de leveduras, quando usadas nas quantidades exatas, não sofrem competição de leveduras selvagens como era proposto até então.

SUMMARY

Fermentation with *Sacch. cerevisiae* Montrachet was done with musts in a industry scale. Description of the tank used as starter plus the method and yeast quantities used are given. Wines produced were compared in some aspects with wines produced in the same winery by the traditional method-used until today by the majority of our wineries-with wild yeast fermentation. Compared were cleanlines of fermentation ethanol yield and also wine quality; no sensory analysis, however, was done to measure quality. This work was more of practical sense than scientific and the aim was to prove that using pure yeasts in the right amount there would be no competition by wild yeasts as it was believed some time ago.

INTRODUÇÃO

O uso de leveduras selecionadas (culturas puras) é comum na fabricação de vinhos, na maioria dos países. Esta prática, quando usada devidamente, produz uma fermentação que inicia rapidamente, procede de um modo regular e termina num es-

\* Trabalho financiado parcialmente pelo Projeto MIC-STI-UFSM. 25.4.05.

\*\* Executor do Projeto e Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia e Ciências do Alimento, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 97100 - Santa Maria, RS.

paço de tempo relativamente mais curto. Ocorre também uma maior utilização do açúcar o qual assegura uma preservação melhor do produto e um aumento na produção de álcool.

A maioria dos técnicos concorda que a fermentação deva ser conduzida de maneira a favorecer as leveduras do mosto; mas nem todos concordam sobre os métodos a serem utilizados para conseguir este resultado. Alguns enólogos (13, 22) afirmam que vinhos finos podem ser obtidos inoculando mostos comuns com leveduras provenientes de regiões onde os melhores vinhos são produzidos. Embora uma cepa particular de levedura possa ter alguma qualidade inerente que produza determinado flavor, não é correto pensar por exemplo que um vinho fino de Bordeaux possa ser feito fermentando simplesmente mosto derivado de Barbera com leveduras provenientes de Bordeaux, assim também como se um vinho Burgundy de alta qualidade pudesse ser feito a partir de uva Isabel ou Concord. Entretanto, as leveduras de superfície utilizadas em cervejaria produzem um flavor de cereal em mostos de uvas, enquanto as leveduras de vinhos produzem um flavor vinhoso ou de fruta mesmo no mosto de malte adocicado. As várias cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* diferem na quantidade e tipo de sabores vinhosos desejáveis que elas produzem, na velocidade e eficiência da fermentação, na velocidade da decantação após a fermentação, na tendência à formação de espuma e assim por diante. WINDISCH (25) revisou a literatura até 1906 e concluiu que o caráter varietal de um mosto não pode ser trocado pelo simples uso de uma determinada levedura; acrescentou, entretanto, que vinhos de frutas pareceram ter um melhor caráter de vinho quando são utilizadas leveduras de vinhos, e que os microrganismos de uma certa região poderiam dar um caráter levemente similar aos vinhos desta região quando usados para fermentar mostos de outras regiões. Entretanto afirmou que o valor de uma levedura pura está na produção de uma fermentação limpa e asséptica. Do mesmo modo, FORNACHON (14) concluiu que não se deve esperar muito de leveduras puras e que uma cultura pura por si só não produzirá um vinho de alta qualidade a partir de uvas de má qualidade.

A fermentação com uma única cepa selecionada de levedura de mosto (*Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*) em comparação com fermentações realizadas com flora misturada, vem há longo tempo interessando os enólogos europeus. RENAUD (22) afirmou que vinhos de qualidade poderiam ser feitos somente com a flora natural mixta das uvas. Ele achou que o uso de leveduras selecionadas tende a produzir vinhos de flavor uniforme sem aquelas diferenças sutis tão apreciadas pelos "connoisseurs". Entretanto, os vinhos comuns são aprimorados quando suas fermentações são efetivadas com leveduras selecionadas e de boa qualidade.

A produção de compostos aromáticos pelos fermentos foi enfatizada por SUOMALAINEN & NYKANEN (24). Estes autores fermentaram um meio artificial e identificaram os componentes odoríferos usando cromatografia gasosa. Houve uma grande similaridade nos compostos identificados, em comparação com aqueles achados em conhaques e em wiskys (o primeiro, produto da destilação de vinhos).

Existe a possibilidade que as diferenças na qualidade dos vinhos provenientes de uvas próximas uma às outras sejam devidas à diferentes cepas de mi-

croorganismos.

DAUDT & OUGH (10) estudaram a formação dos compostos odoríferos, ésteres acetatos, em vinhos obtidos a partir de duas variedades de uvas fermentadas a diferentes temperaturas com três microrganismos diferentes e na presença e ausência de anidrido sulfuroso. Concluíram que a cepa de levedura influenciou na formação destes ésteres assim como o anidrido sulfuroso e a variedade de uva utilizada. Para quantificar estes ésteres os mesmos autores (9) tiveram que desenvolver um novo método em cromatografia gasosa que possibilitou a eliminação do pico de etanol.

FORNACHON (14) preferiu o uso de uma só cepa de levedura como pé-de-cuba, mas chamou a atenção que ele deve ser cuidadosamente preparado e usado propriamente para se obter os melhores resultados.

RANKINE & LLOYD (21) demonstraram que o uso de 2% de uma cultura pura de microrganismos, como pé de cuba, dominou a fermentação em mostos virgens ou em mostos com o bagaço. Entretanto, este domínio foi muito maior nos mostos sem o bagaço. Explicaram que os vinhos obtidos com as culturas puras foram significativamente melhores que os vinhos obtidos sem as culturas, sem no entanto apresentar dados sensoriais.

RANKINE (20) resumiu os dados obtidos num período de 20 anos na Austrália sobre a importância da variedade e cepa de microrganismos usadas sobre a composição e qualidade dos vinhos produzidos. Foram investigadas mais de 20 culturas individuais de microrganismos, tanto em fermentação de laboratório como em fermentações em cantina piloto. Os aspectos físicos das fermentações estudadas incluíram contagem de células, floculação e clarificação e potencial de oxirredução. Os estudos fisiológicos e metabólicos incluíram resistência ao anidrido sulfuroso e outros inibidores e metabolismo, incluindo a produção de etanol e álcoois superiores, decomposição do ácido málico, produção de gás sulfídrico e formação de compostos bissulfíticos. A dominância de fermentos em culturas mixtas e influência dos fermentos no aroma e flavor também foram estudadas. Afirmou que, além das vantagens mais óbvias do uso de leveduras selecionadas (um rápido e previsível início de fermentação, uma fermentação completa, sem problemas, e ausência de aromas e sabores indesejáveis), elas podem também influenciar diretamente o flavor e controlar a redução da acidez durante a fermentação.

Os dois principais açúcares das uvas, e que representam cerca de 99% dos açúcares totais em viníferas, são glicose e frutose. Na uva verde predomina glicose, na supermadura predomina frutose; no entanto, na uva madura os dois açúcares encontram-se mais ou menos em quantidades iguais. Como a uva "deve" ser colhida madura há um fato que merece consideração. Frutose é muito mais doce que glicose, aproximadamente 1,5 vezes. Durante a fermentação alcoólica a glicose normalmente fermenta mais rapidamente que a frutose. Por outro lado, são conhecidas várias cepas de leveduras que fermentam frutose mais rápido. A relação glicose-frutose pode ser modificada pela adição de mosto em fermentação, sacarose ou suco concentrado, os quais produzem um vinho com mais extrato e com menos gosto doce. O uso de leveduras selecionadas (dependendo da cepa utilizada) pode produ-

zir um vinho mais doce a partir de um mesmo conteúdo inicial de açúcar total.

MLSTRE & JANE (16) concluíram que culturas puras de microorganismos produziram mais álcool e fermentaram os açúcares mais rápida e completamente que os fermentos nativos das uvas. Entretanto, os vinhos produzidos por fermentos puros não apresentaram o flavor característico de sua região de origem. Novamente, porém, os dados sensoriais apresentados foram insuficientes.

Há pouca evidência conclusiva de que a fermentação com flora natural pode estar envolvida na produção de vinhos finos. A possibilidade de controlar os sabores usando espécies diferentes de *Saccharomyces cerevisiae* atraiu a atenção de CASTELLI (3). Ele achou que *Saccharomyces rosei*, encontrado em larga escala em vinhos italianos, pode fermentar mostos e produzir vinhos com mais de 10% de etanol, produzir pequenas quantidades de ácidos voláteis sem formar acetilmetilcarbinoil e ser mais desejável que cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*.

Um possível interesse para o uso de culturas de fermentos selecionados mixtos foi estimulado pela descoberta da habilidade que *Schizosaccharomyces pombe* tem para fermentar ácido málico. RIBÉREAU-GAYON & PEYNAUD (23), PEYNAUD & SUDRAUD (19) tentaram utilizar esta habilidade do *Schizosaccharomyces pombe*. É um procedimento útil, principalmente quando os mostos tem um excessivo teor de ácido málico; entretanto este microorganismo fermenta vagarosamente e requer altas temperaturas. Tentativa para obter produtos de fusão entre *Saccharomyces cerevisiae* e *Schizosaccharomyces pombe* foi tentado por CARRAU et alii (2). Mais estudos com cepas selecionadas deste microorganismo são necessários.

DAUDT & OUGH (11) acharam as maiores quantidades de álcoois isobutílico e amílico (iso e ativo) nos vinhos obtidos de mostos fermentados entre 23° e 25°C, temperaturas nas quais o crescimento de microorganismos viáveis é máximo. A cepa de levedura também teve influência sobre a quantidade absoluta de álcoois superiores. Por outro lado, o álcool propílico foi produzido em maior quantidade nas temperaturas de fermentação mais baixas e mais altas que as mencionadas (menos que 20°C e mais que 27°C). Os autores tentaram explicar este fato, mostrando que quando a reprodução de microorganismos ocorre em grande quantidade, tal como a fermentação a médias (altas) temperaturas, há uma grande demanda para a produção de aminoácidos a partir de esqueletos de carbono e uma grande quantidade de álcoois superiores é produzida em detrimento do n-propanol formado em pequeníssimas quantidades nesta oportunidade. Nas temperaturas extremas, o inverso ocorrerá, ou seja, baixas quantidades de álcoois superiores e altas de n-propanol.

Quando várias cepas de leveduras alcoólicas nativas do Rio Grande do Sul foram comparadas com *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet por DAUDT & ALMEIDA (4) em fermentação em escala laboratorial foi verificado que o mosto fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet teve menor tempo relativo de fermentação e que o vinho oriundo deste mosto mostrou maior rendimento alcoólico, menor acidez volátil e clarificou mais depressa do que os outros vinhos. Estes outros vinhos foram oriundos de fermentações com microorganismos selecionados previamente por DAUDT & BRUM (5) em mostos industriais das cantinas do Rio Grande do Sul.

Apesar do uso de leveduras selecionadas ser prática comum na elaboração de

vinhos, no Rio Grande do Sul, seu uso correto nunca foi tentado até 1974-1975-1976 data em que este trabalho foi realizado. Este trabalho não foi publicado antes por várias razões e só está sendo publicado agora por insistentes pedidos de amigos. No entanto, seus resultados já são conhecidos de muitos e como fruto direto ou indireto de comunicações pessoais ou conferências, hoje várias indústrias já utilizam corretamente o pé de cuba. Só concordamos em escrevê-lo para que outras indústrias que não tiveram acesso a estas informações, possam usufruir destas que contribuíram e contribuem, em parte, para a melhoria dos nossos vinhos.

Até então havia por parte dos técnicos locais a firme convicção de que uma cultura pura sofreria sempre a competição das leveduras selvagens encontradas na casca da uva. Este trabalho completado em 1975 demonstrou como é possível garantir a fermentação de culturas puras dentro das indústrias com total possibilidade de êxito; foi demonstrado também a maneira correta de adicionar o pé de cuba baseado em 3 anos de aplicação em laboratório e 2 anos de indústria. Esta parte do trabalho é mais prática que científica.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de mosto em diferentes estágios de fermentação foram colhidas em 1974 nas principais cantinas de Bento Gonçalves, Caxias do Sul e numa cantina de Jaguarí. Estas amostras foram colhidas em frascos esterilizados, colocadas rapidamente em gelo e trazidas para Santa Maria. No Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria foram semeadas em placas de Petri para observar a flora e tentar selecionar variedades de leveduras naturais, responsáveis pela fermentação alcoólica em cantinas do Rio Grande do Sul. Trabalhos específicos sobre as variedades selecionadas, comportamento bioquímico, conteúdo das placas, bem como comportamentos sobre o mosto, foram publicados por DAUDT & BRUM (5) e DAUDT & OLIVEIRA (4). Estas variedades foram selecionadas, principalmente por sua velocidade de fermentação e decantação, formação de produtos secundários e qualidade do produto final.

Após estes experimentos, os mostos foram fermentados em escala laboratorial e piloto, usando *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* cepa Montrachet obtido da Universal Yeast Co. Milwaukee, Wisconsin, USA. Mostos utilizados foram da variedade híbrida Goethe cultivadas em Jaguarí. A seguir foram fermentados dentro da indústria. Certos parâmetros foram seguidos para a escolha da indústria: proximidade de Santa Maria, necessidade de auxílio e, de preferência, que fosse uma cooperativa. A Cooperativa Agrária São José Ltda., de Jaguarí, RS, cedeu suas instalações tradicionais para a realização do experimento em 1975. O pé de cuba foi iniciado no Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM e uma vez pronto foi levado para Jaguarí. Na indústria, as uvas após esmagadas sofreram adição de 80-140 ppm de SO<sub>2</sub> (dependendo do estado sanitário das mesmas) e após uma hora sofreram a adição de 1% de pé de cuba. Uma pipa de 10.000 litros foi utilizada para o experimento. Os vinhos obtidos foram analisados periodicamente.

Em 1976 repetiu-se o experimento sô que o pē de cuba foi feito na própria indústria utilizando recipientes de aço inox especialmente construídos para a multiplicação (ver Resultados e Discussão); ao invés de uma pipa como no ano anterior, desta vez todas as uvas brancas (Goethe) foram separadas das cascas e fermentadas com culturas puras. O microrganismo utilizado foi o mesmo citado anteriormente e a percentagem de adição, bem como a quantidade de  $\text{SO}_2$  adicionado foram idênticas. Semeaduras em placas idênticas às realizadas em 1974 para observação da flora foram repetidas em 1975 e 1976 com amostras provenientes das pipas semeadas com culturas puras.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os recipientes de aço inoxidável utilizados para o pē de cuba industrial constaram de um recipiente com paredes duplas para passagem do vapor ou de água fria localizado na parte superior e de um recipiente simples de inoculação localizado na parte inferior (Figura 1). No primeiro, inicialmente, foram colocados 300 litros de mosto que foram submetidos ao aquecimento a  $60-65^\circ\text{C}$  no mosto; quando frio, este mosto foi transportado por gravidade ao segundo recipiente (inferior) onde foram adicionados 150-180 ppm de  $\text{SO}_2$ . Uma hora após a adição de  $\text{SO}_2$  foram adicionados 2% (6 litros) de uma cultura pura da cepa Montrachet; 24-48 horas após esta adição o mosto encontrava-se em plena fermentação - cerca de  $1 \times 10^8$  células/ml de acordo com DAUDT et alii (6) variando com a temperatura inicial da fermentação e ao teor de nitrogênio total existente na uva (7) quer seja em forma de aminoácidos (15), amins (12, 18), amônia (17), proteínas, nitratos, vitaminas (1) - e apto a ser adicionado nas proporções de 1-2% (ou mais) no mosto total. Exemplificando: dois dias após a adição de culturas puras aos 300 litros de mosto do pē de cuba, a indústria começou a receber uvas da variedade que desejava fermentar; no primeiro dia de recebimento 2 pipas de 10.000 litros foram cheias e adicionadas com 80-140 ppm de  $\text{SO}_2$ . Uma hora após a adição de  $\text{SO}_2$ , foram adicionadas em cada pipa 100 litros do pē de cuba em plena fermentação, restando portanto 100 litros no segundo tanque inoxidável. Ao mesmo tempo que o mosto era passado do primeiro ao segundo recipiente de aço inoxidável, nova quantidade de mosto era levado ao primeiro tanque e submetido ao aquecimento a  $60-65^\circ\text{C}$ , de tal maneira que quando os 200 litros foram retirados para inocular as duas pipas de 10.000 litros nova quantidade de mosto já estava pronta para ser colocada do primeiro ao segundo recipiente de aço inox. Ao chegar no segundo recipiente, esta nova quantidade de mosto já adicionada de 150-180 ppm de  $\text{SO}_2$  encontrava 100 litros em plena fermentação e em cerca de 24 horas já estava pronta para ser adicionada dentro de pipas maiores e assim por diante. A finalidade da adição de 150-180 ppm de  $\text{SO}_2$  no pē de cuba é adaptar as leveduras a doses elevadas de anidrido sulfuroso. Desta maneira o processo se torna quase contínuo e para o tamanho da indústria em questão, os tamanhos dos recipientes de aço inox foram mais que suficientes. Se a indústria for maior, basta aumentar o tamanho e o nũ-

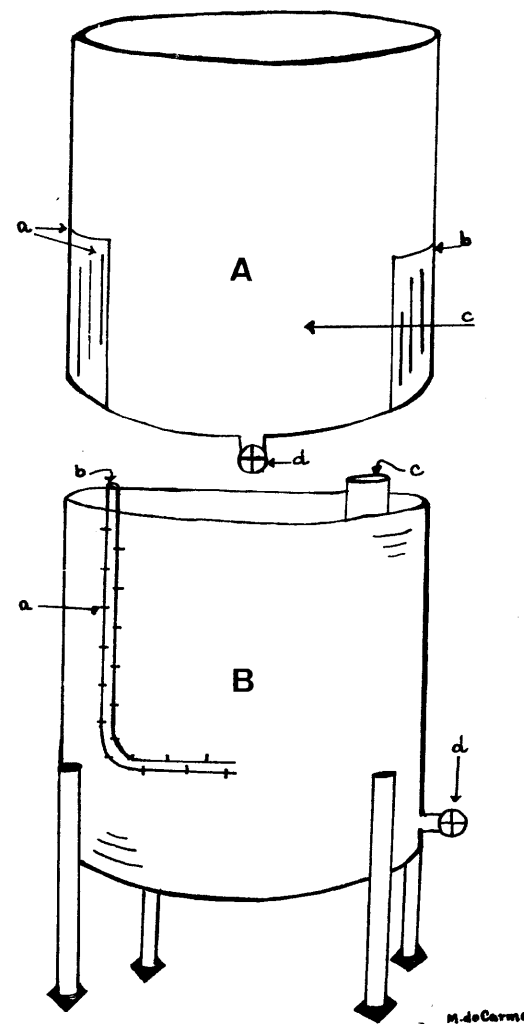


FIGURA 1. Tanques de aço inox:  
 A- Tanque superior (500 litros de capacidade ou mais).  
 a- aço inox (camisa dupla para permitir aquecimento e esfriamento do mosto);  
 b- entrada de vapor para aquecimento e de água fria para resfriamento;  
 c- espaço reservado ao mosto;  
 d- válvula que permite passagem do mosto esfriado.  
 B- Tanque inferior de aço inox para inoculação (capacidade 500 litros ou mais).  
 a- Forma de L ou serpentina de aço inox perfurada para permitir a passagem de ar comprimido através do mosto para arejã-lo e estimular a velocidade de multiplicação de leveduras (opcional pois o ar comprimido deve ser completamente limpo);  
 b- entrada de ar comprimido;  
 c- dispositivo que permita saída de  $\text{CO}_2$ ;  
 d- válvula para retirada do pē de cuba.<sup>2</sup>

mero de recipientes; se a meta for inocular tintos e brancos, são colocados 2 ou mais recipientes na parte inferior. A pureza da fermentação no segundo recipiente (inferior) é indiscutível e foi comprovada através de semeadura em placas; no entanto isto era esperado e portanto não é incomum. O que surpreende, entretanto, foi a pureza da fermentação industrial ou seja, dentro das pipas maiores onde o mosto não foi aquecido previamente, mas sim somente adicionado de SO<sub>2</sub>. Amostras foram recolhidas do interior das pipas industriais fermentadas com culturas puras e leveduras selvagens, sendo estas últimas provenientes de Jaguarí, Bento Gonçalves e Caxias do Sul. Todas elas foram colhidas em frascos esterilizados, guardadas no gelo e depois foram semeadas em meio Agar malte previamente estratificado. Nas amostras de pipas em fermentação (vários estágios) com culturas puras observou-se a pureza da fermentação pela visualização quase que somente de células do Montrachet. Nas amostras de pipas em fermentação (vários estágios) pelo processo tradicional sem adição de leveduras alcoólicas puras, observou-se células de mofos, bolores, *Saccharomyces*, etc. Evidentemente, algumas fermentações industriais naturais (sem adição de culturas puras) apresentavam-se em melhores e piores condições. No entanto em muitas destas fermentações até larvas de *Drosophila celaris* se desenvolveram nas placas. O primeiro ponto foi atingido pois a assepsia da fermentação com culturas puras é muito maior que a de fermentação sem culturas puras. Industrialmente a assepsia de uma fermentação não é muito cogitada, o que é um erro, pois não se deve esquecer que decorrente desta assepsia obtêm-se melhores rendimentos da fermentação e qualidade dos vinhos. Nas experiências industriais foram obtidos sempre de 98 a 100% de rendimento de fermentação (no que diz respeito à formação de etanol) com culturas puras. Enquanto isto os rendimentos de fermentação pelo processo tradicional são excepcionalmente (anos excepcionais) atingem estas cifras. O rendimento da fermentação é obtido dividindo o álcool prático pelo álcool teórico e multiplicando por 100. Consequentemente, o segundo objetivo, maior quantidade de álcool a partir da mesma quantidade de açúcar também foi atingido.

Em 1975 a pipa de 10.000 litros com culturas puras fermentou ao lado de outras pipas que fermentaram naturalmente. A velocidade de fermentação foi maior na pipa experimental que nas outras, mas o fato marcante foi a rapidez de decantação da pipa experimental. O vinho limpou duas vezes mais rápido, o que é explicado pela aglomeração das leveduras alcoólicas puras. A cepa de cultura pura se aglomerou após a fermentação formando grumos pesados que se precipitaram rapidamente ao fundo da pipa. Enquanto isso no processo tradicional de fermentação as leveduras selvagens levaram mais tempo para se depositarem e limparem o vinho. A quantidade de bentonite adicionada foi menor em comparação com as outras pipas e a perda de vinho foi também menor. Portanto, o terceiro objetivo deste processo foi também atingido, pois a limpeza ou decantação do vinho foi também mais rápida. Quando a bentonite foi usada durante o processo fermentativo (como se usa muito nos dias atuais) houve evidentemente maior rapidez também na limpeza do vinho. Seu efeito sobre as leveduras (contagem) durante a fermentação bem como sobre o aroma do vinho obtido estão sendo estudados por DAUDT & DURAN-

TE (8).

O último ponto a estudar foi a qualidade do vinho obtido. Qualidade é um termo difícil de se avaliar. Os parâmetros para tipificar a qualidade dos vinhos há muito tempo estão sendo estudados pelo Ministério da Agricultura e pelo Ministério da Indústria e Comércio. No entanto testes de análise sensorial baseados na preferência foram aplicados nos vinhos obtidos da uva Goethe fermentados com e sem culturas puras; a preferência sempre recaiu nos vinhos obtidos com culturas puras. Quando os vinhos da Indústria foram colocados no comércio, a preferência do público também foi para os mesmos vinhos.

Várias outras indústrias estão hoje fabricando vinhos com culturas puras com muito sucesso, principalmente com variedade de uvas viníferas, fabricando diferentes tipos de vinho de muita aceitação pelo público consumidor.

Esperamos que em poucos anos esta prática seja comum na industrialização deste produto.

#### BIBLIOGRAFIA

1. AMERINE, M. A. & OUGH, C. S. *Methods for analysis of musts and wines*. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1980. 341 p.
2. CARRAU, J. L.; AZEVEDO, J. L.; SUDBERY, P. & CAMPBELL, D. Methods for recovering fusion products among oenological strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Rev. Brasil. Genet.*, 1:221-226, 1982.
3. CASTELLI, T. Nella vinificazione con fermenti selezionati e bene attenersi sempre a culture di *Saccharomyces ellipsoideus*. *Nuovi Ann. Agr.*, 2(4): 131-134, 1942.
4. DAUDT, C. E. & ALMEIDA, J. P. Fabricação de vinhos por leveduras alcoólicas nativas selecionadas no Rio Grande do Sul e por *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet. *Rev. do Centro de Ciências Rurais*, 12(1):21-27, 1982.
5. DAUDT, C. E. & BRUM, M. A. R. Aspectos microbiológicos dos mostos do Rio Grande do Sul. I - Isolamento e testes morfológicos e bioquímicos. *Rev. do Centro de Ciências Rurais*, 7(2):123-128, 1977.
6. DAUDT, C. E.; BRUM, M. A. R. & OUGH, C. S. Controle das altas temperaturas de fermentação na fabricação de vinhos brancos. *Rev. do Centro de Ciências Rurais*, 5(2):71-78, 1975.
7. DAUDT, C. E.; CONTE, A. & MENEGUZZO, J. Teor de Nitrogênio total e Fósforo em algumas variedades de uvas. *Rev. do Centro de Ciências Rurais*, 5(4): 317-322, 1975.
8. DAUDT, C. E. & DURANTE, E. C. Adição de bentonite durante a fermentação. I. Contagem de células viáveis. Comunicação pessoal.
9. DAUDT, C. E. & OUGH, C. S. A method for the quantitative measurement of volatile acetate esters from wine. *Am. J. of Enol. Vit.*, 24(3):125-129, 1973.
10. DAUDT, C. E. & OUGH, C. S. Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation. Effects of fermentation, temperature, SO<sub>2</sub>, yeast strain and grape variety. *Am. J. Enol. Vit.*, 24(3):130-135, 1973.
11. DAUDT, C. E. & OUGH, C. S. Efeitos da cepa de levedura, SO<sub>2</sub>, temperatura e variedade de uva sobre a formação de álcoois superiores. *Rev. Bras. de Tecnologia*, 6(4):301-305, 1975.

12. DAUDT, C. E. & OUGH, C. S. Volatile amines in vitis vinifera and changes during maturation - Flüchtige amine in vitis-vinifera-sorten und ihre Veränderungen Während der Beerenreife. *Vitis*, 21:105-110, 1982.
13. FLORENZANO, G. La microflora blastomiceta dei mosti e dei vini di alcune ona Toscana. *Ann. Sper. Agrar.*, (Roma), [N.S.], 3(4):887-918, 1949.
14. FORNACHON, J. C. M. Yeast cultures. *Austr. Brew. and Wine J.*, 69(3):32, 1950.
15. KLIEWER, W. M. Changes in the concentration of free amino acids in grape berries during maturation. *Am. J. Enol. Vit.*, 19(3):166-174, 1981.
16. MESTRE, A. C.; JANE, A. Fermentaciones comparativas con diferentes leveduras. *Minist. Agr. Inst. Nac. Invest. Agron. Estac. Vit. Enol., Villafranca del Panadés*, Cuaderno 68:1-28, 1945.
17. OUGH, C. S. Ammonia contem of California Grapes. *Am. J. of Enol. & Vit.*, 0:213-220, 1969.
18. OUGH, C. S.; DAUDT, C. E. & CROWELL, E. A. Identification of new volatile amines in grapes and wines. *J. Agricult. Food Chem.*, 29(5):938-941, 1981.
19. PEYNAUD, E. & SUDRAUD, P. Utilisation de l'effect desacidifiant des *Schizosaccharomyces* en vinification de raisins acides. *Ann. Technol. Agr.*, 13:309-328, 1964.
20. RANKINE, B. C. The importance of yeasts in determining the composition of quality wine. *Vitis*, 7:22-49, 1968.
21. RANKINE, B. C. & LLOYD, B. Quantitative assessment of dominance of added yeast in wine fermentations. *J. Sci. Food Agr.*, 14:793-798, 1963.
22. RENAUD, J. La microflora des levures du vin. Son rôle dans la vinification. *Ann. Ferm.*, 5:410-417, 1939-1940.
23. RIBÉREAU-GAYON, J. & PEYNAUD, E. Application à la vinification de levures métabolisant l'acide malique. *Compt. Rend. Acad. Agr.*, France, 48:555-560, 1963.
24. SUOMALAINEN, H. & NIKANEN, L. The formation of aroma compounds by yeast in sugar fermentation. *Suomem Kemistilehti*, B, 37:230-237, 1964.
25. WINDISCH, K. Die Chemischen Vorgänge beim Werden des Weines. Stuttgart, Eugen Ulmer. 1906. 122 p.