

Utilização de radiação Ultravioleta (UV-C) como tecnologia alternativa aos sulfitos para a estabilização microbiológica de vinho tinto – Resultados prévios

Employment of ultra-violet (UV-C) radiation as na alternative technology to sulfites for the microbiological stability of red wine – preliminary results

M. Alves¹, J. Grácio¹, M. Simões² e H. Mira³

¹INOVLINIA – Centro de Transferência de Tecnologia Alimentar – TAGUSVALLEY. Abrantes, Portugal

²Quinta da Alorna Vinhos, Lda. Almeirim, Portugal

³Escola Superior Agrária de Santarém – Instituto Politécnico de Santarém. Santarém, Portugal

(*E-mail: helena.mira@esa.ipsantarem.pt)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA16177>

Recebido/received: 2016.12.22

Recebido em versão revista/received in revised form: 2017.04.05

Aceite/accepted: 2017.04.06

RESUMO

Neste trabalho avaliou-se o efeito da radiação UV-C sobre a estabilidade microbiológica do vinho tinto e, também, a sua influência sobre alguns parâmetros físico-químicos e sobre o perfil sensorial. Assim, o vinho sem sulfitos foi submetido a radiação UV-C com duas doses diferentes, 778 J.L⁻¹ e 1415 J.L⁻¹, e procedeu-se ainda à preparação de um controlo a que foi adicionado 40 mg.L⁻¹ de dióxido de enxofre. Os vinhos (C, dose 1 e dose 2) foram analisados ao longo do tempo (0, 1, 2, 3, 6 e 9 meses). Os resultados obtidos demonstram que a tecnologia UV-C é eficaz no controlo microbiológico do vinho, não se diferenciando do tratamento tradicional para os parâmetros considerados. No que respeita às características físico-químicas, não se verificou diferenças entre os vários tratamentos para a maioria dos parâmetros analisados. Verifica-se que esta tecnologia tem um efeito muito positivo sobre a estabilidade da cor (intensidade e tonalidade) ao longo do tempo, comparativamente com o vinho com dióxido de enxofre. A análise sensorial revelou que os vinhos submetidos ao tratamento com radiação UV-C apresentaram uma melhor estabilização da cor, contudo verificou-se alguma depreciação no aroma e no sabor dos vinhos, que se atenuou ao longo do tempo.

Palavras-chave: estabilidade microbiológica, sulfitos, radiação ultravioleta, vinho.

ABSTRACT

This work consisted in the evaluation of the effect of UV-C radiation on the microbiological stability of red wine as well as its and also its influence on some physical and chemical parameters and on the sensory profile. Thus, wine without sulfites was subjected to UV-C radiation in two different doses, 778 J.L⁻¹ and 1415 J.L⁻¹, and a control sample was also prepared to which 40 mg.L⁻¹ of sulfur dioxide was added. The wines (C dose 1 and dose 2) were analyzed over time (0, 1, 2, 3, 6 and 9 months). The results show that UV-C technology is effective in the microbiological control of wine, without any differences to the standard method for the considered parameters. As for the physical-chemical characteristics, there were no differences between the various treatments for the majority of parameters which were analyzed. It has been verified that this technology has a very positive effect on the stability of the colour (intensity and hue) over time, compared with the wine with sulfur dioxide. The sensory analysis of the wines showed that the wine subjected to treatment with UV-C radiation had better stabilization of colour, but there was some depreciation in the aroma and flavour of the wine, which attenuated over time.

Keywords: microbiological stability, sulfites, ultraviolet radiation, wine.

INTRODUÇÃO

A produção de vinho é realizada através um processo fermentativo bem conhecido, onde leveduras e bactérias lácticas desempenham funções essenciais que determinam a segurança e qualidade do produto final. Ao nível da fermentação alcoólica, destaca-se a importância das diferentes espécies de levedura *Saccharomyces*, predominando a *S. cerevisiae*, enquanto bactérias lácticas da espécie *Oenococcus oeni* são as principais responsáveis pela fermentação malolática (Boulton *et al.*, 1996; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

No entanto, apesar da produção de vinho ser totalmente dependente da ação de microrganismos, estes podem, em certas circunstâncias, afetar a sua estabilidade e a sua qualidade. A deterioração provocada por microrganismos manifesta-se principalmente através da turvação do vinho e por um aumento da acidez volátil (Toit e Pretorius, 2000; Malfeito-Ferreira, 2010).

O procedimento tradicional de controlo da atividade microbiana consiste na adição de dióxido de enxofre (SO₂) quer em mosto quer em vinho e que atua como agente antimicrobiano, antioxidante e como inibidor das enzimas prevenindo o escurecimento do mosto e a oxidação dos vinhos (Bartowsky, 2009; Oliveira *et al.*, 2011).

Apesar de esta adição ser considerada quase inevitável na produção de vinho, sabe-se que um excesso na ingestão de SO₂ pode causar problemas de saúde em pessoas mais sensíveis, nomeadamente, dores de cabeça, náuseas, alergias, dificuldades de respiração em pacientes com asma ou outras reações de intolerância (Vally e Thompson, 2003; Vally *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2012). Por estas razões, a legislação comunitária, impõe a obrigatoriedade de informar o consumidor com a expressão “Contém Sulfitos” caso a concentração no vinho seja superior a 10 mg.L⁻¹, além de existirem limites máximos a respeitar (Regulamento (CE) n.º 606/2009). A Organização Mundial de Saúde recomenda consumir diariamente, no máximo, o equivalente a 0,7 mg.L⁻¹ de SO₂ por quilo de peso. O que significa que uma pessoa com 70 kg pode consumir, por dia, até 49 mg de SO₂.

Para além das razões legais e de saúde, uma das

tendências de consumo atuais, no que respeita a produtos alimentares, é a procura, por parte do consumidor, de produtos mais saudáveis e livres de conservantes (Bjørndal *et al.*, 2014). Assim, a procura de métodos alternativos de controlo microbiológico, que eliminem ou minimizem a necessidade de utilização deste tipo de conservantes, é importante e necessária.

Novas tecnologias emergentes têm sido exploradas, incluindo campos pulsados elétricos (Garde-Cerdan *et al.*, 2008), altas pressões hidrostáticas (Bartowsky, 2009; Santos *et al.*, 2012), ultrassom (Piyasena *et al.*, 2003; Bartowsky, 2009) ou irradiação UV (Lorenzini *et al.*, 2010; Fredericks *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2012; Rizzotti *et al.*, 2015) e produtos naturais, incluindo bacteriocinas (Bartowsky, 2009; Nel *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2012), lisozima (Bartowsky, 2009; Sonni *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2012), quitosano (Santos *et al.*, 2012; Chinnici *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2016), glutatião (Comuzzo *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2015).

O tratamento por radiação UV-C (200-280 nm) é uma tecnologia promissora que permite o tratamento de superfícies e de produtos líquidos, possuindo diversas vantagens, de entre as quais se destacam o baixo custo, comparativamente a outras tecnologias emergentes, a possibilidade de pasteurizar sem recurso a processamento térmico, protegendo os produtos termolábeis, e a facilidade de *scale-up*. A radiação utilizada nos equipamentos destinados a desativação de microrganismos possui um comprimento de onda de 254 nm, muito próximo do valor máximo de absorção do ADN que é aproximadamente de 264 nm e é produzida, geralmente, por lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (Koutchma *et al.*, 2009).

O potencial antimicrobiano desta tecnologia tem por base dois mecanismos de ação distintos. Por um lado existe um mecanismo fototérmico, em que a desativação dos microrganismos é provocada por um aumento instantâneo da sua temperatura, levando à sua desintegração física. Um outro mecanismo de ação e o principal responsável pela desativação dos microrganismos, é o chamado mecanismo fotoquímico, que consiste num efeito direto sobre o ADN dos microrganismos. Este efeito manifesta-se na formação de dímeros entre as pirimidinas existentes nas cadeias de ADN

(citosina e timina). Estes dímeros alteram significativamente a estrutura das cadeias, afetando profundamente o metabolismo dos microrganismos e impedindo a sua replicação, provocando assim a sua inativação biológica. A dimerização das pirimidinas é parcialmente reversível, quer por fotorreativação (reversão provocada por exposição a luz visível), quer por mecanismos celulares de reparação do ADN, no entanto, após a aplicação de doses adequadas de radiação UV-C esta reversibilidade não é significativa (Koutchma *et al.*, 2009).

No que respeita à resistência dos microrganismos a este tipo de radiação, existem diferenças de acordo com o tipo de microrganismos, sendo que as bactérias são o tipo de microrganismo mais sensível à radiação UV-C, enquanto os esporos de fungos são os mais resistentes. Por outro lado, dentro de cada tipo de microrganismos existem ainda diferenças entre as várias espécies (Koutchma *et al.*, 2009; Fredericks *et al.*, 2011).

O tratamento de um produto líquido com radiação UV-C deve ter em consideração o tipo de matriz a tratar, pois o fator crítico do sucesso do tratamento é a dose de radiação que efetivamente chega até aos microrganismos. Assim, a presença de partículas em suspensão, solutos orgânicos ou pigmentos aumenta de forma significativa o coeficiente de absorção de radiação UV-C, o que por sua vez diminui significativamente a dose de radiação que na realidade chega aos microrganismos, diminuindo, portanto, a eficácia do tratamento (Koutchma *et al.*, 2009; Fredericks *et al.*, 2011).

A aplicabilidade desta tecnologia foi já comprovada na inativação de microrganismos presentes em água, sumos de fruta e outros alimentos líquidos (Koutchma, 2009; Koutchma *et al.*, 2009; Gouma *et al.*, 2014). Relativamente à sua aplicação em vinho, existem alguns trabalhos publicados que demonstram a sua eficácia em reduzir significativamente a presença de vários microrganismos (leveduras, bactérias lácticas e acéticas) responsáveis por deteriorar o mosto ou o vinho (Bartowsky, 2009; Lorenzini *et al.*, 2010; Fredericks *et al.*, 2011; Falguera *et al.*, 2013; Rizzotti *et al.*, 2015). No que respeita à utilização industrial desta tecnologia, em 2009 foi comercializado na África do Sul, pela primeira vez, vinho processado por UV-C (Decanter, s.d.).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da radiação UV-C sobre a estabilidade microbiológica do vinho tinto e a sua influência sobre alguns parâmetros físico-químicos e sobre o perfil sensorial ao longo do tempo de 9 meses.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinho

O vinho tinto utilizado, da casta Cabernet Sauvignon, foi proveniente da Quinta da Alorna (região Tejo) da colheita de 2014. O vinho foi previamente centrifugado.

Tratamento UV-C do vinho

O vinho sem sulfitos foi submetido a radiação UV-C no Centro Tecnológico InovLinea-Tagusvalley numa linha piloto com reator UV-Therm e patenteado pela Ypsicon. O reator é constituído por 4 lâmpadas germicidas UV-C, as quais emitem luz no comprimento de onda de 245 nm, compreendido na gama de UV-C (200-280 nm). O equipamento permite fluxos até 100 L.h⁻¹.

As doses aplicadas, numa única passagem através do sistema, foram 778 J.L⁻¹ (UV1) e 1415 J.L⁻¹ (UV2). A modalidade experimental de controlo (UV0) foi preparada adicionando ao vinho, que não foi exposto a radiação, 40 mg.L⁻¹ de dióxido de enxofre. Após o tratamento, os vinhos foram engarrafados em garrafas de 0,75 L. As garrafas dos vinhos (UV0, UV1 e UV2) foram analisados ao longo do tempo (0, 1, 2, 3, 6 e 9 meses).

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas: título alcoólico volumétrico, massa volúmica, acidez volátil, acidez total e pH foram realizadas pela técnica analítica FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, utilizando o equipamento Bacchus 3, controlado pelo programa informático Quantifica Aquisição.

A avaliação da cor do vinho foi efetuada pelo método de Sudraud modificado por Glories (1978), método espectrofotométrico baseado na leitura

das absorvências a 420, 520 e 620 nm, que permite determinar a Intensidade (Int) e a Tonalidade (Ton) da cor de acordo com as equações seguintes: $Int = Abs_{420} + Abs_{520} + Abs_{620}$ e $Ton = Abs_{420} / Abs_{520}$. A leitura das absorvências foi realizada num espectrofotómetro Thermo Scientific – Evolution 201.

A determinação do Índice de polifenóis totais (IPT) foi realizada pelo método referido por Somers e Evans (1977), para tal foi realizada uma diluição de 1:100 e efetuada a leitura da absorvência a 280 nm por espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis, utilizando o equipamento Perkin Elmer-LAMBDA 25 UV/Vis.

As antocianinas totais foram determinadas pelo método descrito por Ribéreau-Gayon e Stonestreet (1965), baseado na variação da cor em função do pH e do efeito descorante do bissulfito de sódio. Foi utilizado um espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 25 UV/Vis.

A determinação do teor em taninos totais foi realizada de acordo com o método descrito por Ribéreau-Gayon *et al.* (1982), a leitura das absorvências foi realizada no espectrofotómetro Perkin Elmer – LAMBDA 25 UV/Vis.

Análises microbiológicas

A contagem de microrganismos mesófilos a 30°C foi realizada segundo a norma EN ISO 4833:2003 e a contagem de bolores e leveduras segundo a norma NP 3277-1:1987.

Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por um painel constituído por seis provadores, maioritariamente pertencentes à Comissão Vitivinícola Regional Tejo. A ficha de prova utilizada foi adaptada da ficha de prova da OIV. Os provadores pontuaram os diferentes vinhos relativamente à aparência visual (limpidez e cor), aroma (genuinidade, intensidade e qualidade), sabor (genuinidade, intensidade, persistência e qualidade) e apreciação global.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da análise microbiológica encontram-se no Quadro 1. Relativamente à contagem dos bolores e leveduras verificou-se uma diminuição do número de unidades formadoras de colónias (UFC) logo após qualquer um dos tratamentos; não se verificou crescimento no vinho a que se aplicou dióxido de enxofre ao fim de um mês e ao fim de dois meses para o vinho subtido a tratamento com radiação UV-C. No respeitante aos microrganismos a 30°C, verificou-se após os tratamentos, uma diminuição na carga microbiana, diminuição essa superior no vinho ao qual se aplicou SO₂. No segundo mês, o número de UFC é superior no vinho em que se aplicou SO₂ comparativamente com o vinho que foi submetido a radiação UV. Verifica-se nos meses subsequentes algum crescimento microbiológico. Este crescimento pode ser devido a uma diminuição no teor em SO₂ livre pelo facto de se combinar com os constituintes do vinho, contudo as análises físico-químicas

Quadro 1 - Resultados da análise microbiológica: contagem de bolores e leveduras e de microrganismos a 30°C

Amostra	Contagem de Bolores e Leveduras (UFC /mL)			Contagem de microrganismos a 30°C (UFC /mL)		
	Control	UV1	UV2	Control	UV1	UV2
Inicial	7,90E+02			3,95E+02		
Dia 0	3,50E+00	4,55E+02	3,65E+02	1,80E+00	2,28E+02	1,83E+02
1 mês	< 1	3,60E+02	5,75E+02	< 1	1,60E+01	1,80E+01
2 meses	< 1	< 1	< 1	3,10E+01	1,40E+02	1,20E+01
3 meses	< 1	< 1	< 1	1,50E+03	< 1	< 1
6 meses	< 1	< 1	< 1	>3,00E+02	< 1	1,51E+02
9 meses	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

indicaram que este parâmetro se manteve constante. Possivelmente este aumento de unidades formadoras de colónias deve-se a alguma contaminação que terá eventualmente ocorrido durante a realização das análises. Estes resultados estão de acordo com outros estudos realizados em vinhos e em mostos (Lorenzini *et al.* 2010; Fredericks *et al.* 2011; Falguera *et al.* 2013).

Relativamente aos parâmetros físico-químicos (Quadro 2), verificou-se alteração apenas na Acidez volátil, tendo-se observado algum aumento deste parâmetro após 3 meses do engarrafamento, no entanto os valores encontram-se dentro dos valores normais. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Falguera *et al.* (2013), estes autores também observaram que o tratamento com radiação UV-C não altera os parâmetros físico-químicos como o teor alcoólico, pH e teor em ácido tartárico.

No que respeita aos polifenóis (Quadro 3), estas análises não estavam inicialmente previstas, uma vez que o objetivo principal deste trabalho era verificar se esta tecnologia permitiria substituir o dióxido de enxofre do vinho e promover a sua estabilidade microbiológica e físico-química. No entanto, no decorrer do ensaio, a avaliação sensorial revelou que esta tecnologia originava algum impacto na cor, no sentido da sua estabilização, tendo-se então passado a efetuar estas determinações. O aspeto mais relevante foi a diminuição do teor das antocianinas totais, contudo tal não afetou negativamente a cor, como se pode verificar no Quadro 4. Tal facto deve-se a que possivelmente a radiação ocasionou copolimerização ou autoassociação das antocianinas individuais originando uma estabilização da cor; este aspeto foi sempre referido pelos provadores nas sessões de análise sensorial, ao longo dos meses.

Quadro 2 - Resultados da análise físico-química

Amostra	Título álcool. (% Vol.)			Acidez Total (g ác. Tar.L ⁻¹)			pH			Acidez Volátil (g ác. Acet.L ⁻¹)		
	Control	UV1	UV2	Control	UV1	UV2	Control.	UV1	UV2	Sulfitos	UV1	UV2
Dia 0	13,3	13,3	13,3	5,7	5,7	5,7	3,64	3,66	3,66	0,33	0,34	0,35
1 mês	13,4	13,3	13,3	5,6	5,6	5,6	3,64	3,64	3,65	0,33	0,34	0,33
2 meses	13,3	13,3	13,3	5,1	5,0	5,0	3,61	3,62	3,62	0,32	0,35	0,34
3 meses	13,4	13,3	13,4	4,9	4,8	4,8	3,61	3,62	3,62	0,32	0,43	0,43
6 meses	13,2	13,2	13,3	5,1	4,9	4,9	3,62	3,64	3,65	0,30	0,49	0,48
9 meses	13,2	13,2	13,2	5,0	5,1	5,1	3,64	3,67	3,67	0,33	0,61	0,60

Quadro 3 - Resultados das análises aos polifenóis do vinho

Amostra	Índice de Polifenóis Totais (u.a.)			Antocianinas Totais (mg.L ⁻¹)			Taninos (g.L ⁻¹)		
	Sulfitos	UV1	UV2	Sulfitos	UV1	UV2	Sulfitos	UV1	UV2
Dia 0									
1 mês	55	54	52	526	432	401	2,63	2,72	2,63
2 meses	--	--	--	--	--	--	--	--	--
3 meses	55	55	52	464	419	469	2,71	2,78	2,70
6 meses	54	50	52	464	351	362	2,65	2,57	2,70
9 meses	52	53	51	351	319	300	2,72	2,83	2,75

Quadro 4 - Intensidade e Tonalidade da Cor

Amostra	Intensidade (u.a.)			Tonalidade		
	Sulfitos	UV1	UV2	Sulfitos	UV1	UV2
Tratamento						
Dia 0	9,14	11,05	11,10	0,62	0,59	0,61
1 mês	9,36	11,42	11,07	0,61	0,62	0,63
2 meses	9,18	11,30	11,59	0,61	0,63	0,63
3 meses	9,77	10,13	11,96	0,60	0,62	0,62
6 meses	8,89	10,63	10,77	0,63	0,64	0,65
9 meses	9,72	10,97	11,70	0,67	0,70	0,70

Verificou-se, ao longo do tempo que decorreu o ensaio, que a intensidade da cor foi sempre mais elevada nos vinhos submetidos a tratamento com a radiação ultravioleta. Apesar do teor em antocianinas diminuir (Quadro 3) a cor é mais intensa, indicando que possivelmente as antocianinas polimerizaram com os taninos ou entre si promovendo uma estabilização da cor, o que foi sempre notório nas análises sensoriais realizadas.

Nos meses iniciais do ensaio, os provadores referiram que as amostras de vinho submetido a radiação ultravioleta apresentavam cheiro e sabor a cozido, mais notório no vinho submetido à dose mais elevada. Com o passar tempo esse atributo foi-se atenuando. Na Figura 1, no tempo zero, no início do ensaio, os provadores pontuaram melhor o vinho controlo, ao qual tinha sido aplicado dióxido de enxofre e pior o que tinha sido submetido à dose mais levada de radiação. Ao fim de 9 meses em garrafa, pode observar-se que as diferenças esbateram-se.

CONCLUSÕES

Neste estudo, ao final de 9 meses, os resultados obtidos demonstraram que a tecnologia UV-C foi eficaz no controlo microbiológico do vinho, não se diferenciando do tratamento tradicional para os parâmetros considerados.

Nas características físico-químicas, não se verificou uma diferença entre os vários tratamentos para a maioria dos parâmetros, com a exceção da acidez volátil, que aumentou ligeiramente nas amostras sujeitas ao tratamento UV após 3 meses.

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com UV tem um efeito muito positivo sobre a cor do vinho, promovendo a estabilização das antocianinas.

A dose menor (778 J.L⁻¹) foi eficaz no controlo microbiológico do produto, não existindo qualquer vantagem num tratamento com uma dose mais elevada, onde a depreciação sensorial é mais notória.

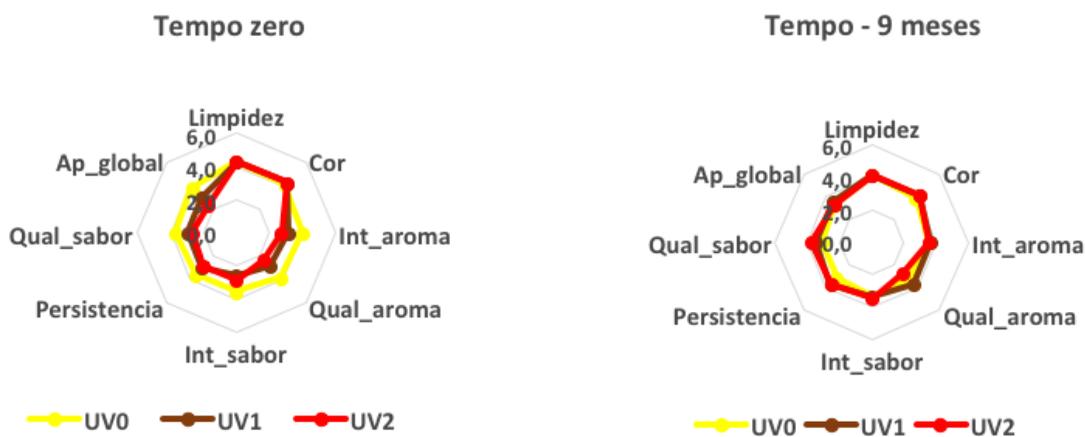


Figura 1 - Comparação dos resultados da análise sensorial no tempo zero e ao fim de 9 meses.

Face aos resultados obtidos, o trabalho futuro passará, por otimizar a dose de radiação UV-C a aplicar, utilizando doses mais baixas que permitam a estabilização do vinho ao longo do tempo, sem afetar a sua qualidade sensorial.

AGRADECIMENTOS

À Quinta da Alorna, e em particular à Eng.^a Martta Simões; aos provadores: da CVRTejo (Carmen Santos, João Sardinha, Maria Vicente, Martta Simões, Pedro Gil) e António Ribeiro (ESAS).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bartowsky, E.J. (2009) – Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 48, n. 2, p. 149-156. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02505.x>
- Bjørndal, T.; Fernandez-Polanco, J.; Lappo, A. & Lem, A. (2014) – *Consumer trends and preferences in demand for food*. Centre for Applied Research at NHH, Bergen.
- Boulton, R.; Singleton, V.; Bisson, L. & Kunkee, R. (1996) – *Principles and Practices of Winemaking*. Chapman & Hall, New York.
- Chinnici, F.; Natali, N. & Riponi, C. (2014) – Efficacy of Chitosan in Inhibiting the Oxidation of (+)-Catechin in White Wine Model Solutions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 62, n. 40, p. 9868-9875. <http://dx.doi.org/10.1021/jf5025664>
- Comuzzo, P.; Battistutta, F.; Vendrame, M.; Paez, M.S.; Luisi, G., Zironi, R. (2015) – Antioxidant properties of different products and additives in white wine. *Food Chemistry*, vol. 168, p. 107-114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.028>
- Decanter. (s.d.). [cit. 2015-7-8]. <http://www.decanter.com/wine-news/first-uv-treated-wine-to-be-available-this-year-74350/>
- Falguera, V.; Pagán, J. & Ibarz, A. (2011) – UV-vis: An alternative to reduce SO₂ in white wines? *LWT-Food Science and Technology*, vol. 51, n. 1, p. 59-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.006>
- Ferreira, D.; Moreira, D.; Costa E.M.; Silva, S.; Pintado, M.M. & Couto J.A.J. (2016) – The antimicrobial action of chitosan against the wine spoilage yeast *Brettanomyces/Dekkera*. *Journal of Chitin and Chitosan Science*, vol. 1, n. 3, p. 240-245. <https://doi.org/10.1166/jcc.2013.1037>
- Fredericks, I.N.; du Toit, M. & Krügel, M. (2011) – Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines. *Food Microbiology*, vol. 28, n. 3, p. 510-517. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2010.10.018>
- Garde-Cerdan T.; Marselles-Fontanet A.R.; Arias-Gil M.; Ancin-Azpilicueta, C. & Martin-Belloso, O. (2008) – Influence of SO₂ on the evolution of volatile compounds through alcoholic fermentation of must stabilized by pulsed electric fields. *European Food Research and Technology*, vol. 227, n. 2, p. 401-408. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-007-0734-5>
- Glories, Y. (1978) – *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse doctorat d'Etat. Université de Bordeaux II. Bordeaux.
- Koutchma, T. (2009) – Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, vol. 2, n. 2, p. 138-155. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-008-0178-3>
- Koutchma, T.N.; Forney, L.J. & Moraru, C.I. (2009) – *Ultraviolet Light in Food Technology – Principles and Applications*. CRC Press, Dublin.
- Lorenzini, M.; Fracchetti, F.; Bolla, V.; Stefanelli, E.; Rossi, F. & Torriani, S. (2010) – Ultraviolet light (UV-C) irradiation as an alternative technology for the control of microorganisms in Grape juice and wine. In: *International Organization of vine and Wine – 33rd World Congress of Vine and Wine*. 8th General Assembly of the OIV.
- Malfeito-Ferreira, M. (2010) – Yeasts and wine off-flavours: a technological perspective. *Annals of Microbiology*, vol. 61, n. 1, p. 95-102. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-010-0098-0>
- Medina, L.; Pascual, O.; Fort, F.; Canals, J.M. & Zamora, F. (2015) In: *Enologia 2.015. Innovation en Vitivinícola*, p. 430-343.

- Nel, H.A.; Bauer, R.; Wolfaardt, G.M. & Dicks L.M.T. (2002) – Effect of bacteriocins pediocin PD-1, plantaricin 423, and nisin on biofilms of *Oenococcus oeni* on a stainless steel surface. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 53, n. 3, p. 191-196.
- Piyasena, P.; Mohareb, E. & McKellar, R.C. (2003) – Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 87, n. 3, p. 207-216. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Regulamento (CE) n.º 606/2009 (2009) – Estabelece as regras de execução do Regulamento (CE) n.º 479/2008 do Conselho no que respeita às categorias de produtos vitivinícolas, às práticas enológicas e às restrições que lhes são aplicáveis.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.M.; Maujean, A. & Dubourdieu, D. (2006) – *Handbook of enology: the chemistry of wine stabilization and treatments*. vol 2, 2nd ed. Wiley, Chichester.
- Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Ribéreau-Gayon, P. & Sudraud, P. (1982) – *Traité d’Oenologie. Science et techniques du vin. Tome I – Analyse et contrôle des vins*. Dunod (Ed.). Paris, 645 p.
- Ribéreau-Gayon, P. & Stonestreet, E. (1965) – Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Société de Chimie*, vol. 9, p. 2649-2652.
- Rizzotti, L.; Levav, N.; Fracchetti, F.; Felis, G.E. & Torriani, S. (2015) – Effect of UV-C treatment on the microbial population of white and red wines, as revealed by conventional plating and PMA-qPCR methods. *Food Control*, vol. 47, p. 407-412. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.052>
- Santos, M.C.; Nunes, C.; Saraiva, J.A. & Coimbra, M.A. (2012) – Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations. *European Food Research and Technology*, vol. 234, n. 1, p. 1-12. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-011-1614-6>
- Somers, T.C. & Evans, M.E. (1977) – Spectral evaluation of young red wines: anthocyanins equilibria, total phenolics, free molecular SO₂, “chemical age”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 28, n. 3, p. 279-287. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740280311>
- Sonni, F.; Bastante, M.J.C.; Chinnici F.; Natali N. & Riponi, C. (2009) – Replacement of sulphur dioxide by lysozyme and oenological tannins during fermentation: influence on volatile composition of white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 89, n. 4, p. 688-696. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3503>
- Toit, W. & Pretorius, I. (2000) – Microbiological spoilage and preservation of wine: using weapons from nature’s own arsenal – a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, vol. 21, n. sp., p. 74-96.
- Vally H.; Misso, N.L.A. & Madan, V. (2009) – Clinical effects of sulphite additives. *Clinical and Experimental Allergy*, vol. 39, n. 11, p. 1643-1651. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03362.x>
- Vally, H. & Thompson, P.J. (2003) – Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks. *Addiction Biology*, vol. 8, n. 1, p. 3-11. <http://dx.doi.org/10.1080/1355621031000069828>