



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Graduação em Química

**Características químicas de vinhos e mostos elaborados a partir da
variedade americana Bordô, cultivada no Vale do Rio do Peixe – SC**
(Ênfase em compostos fenólicos)

Vanessa Zanotto Gonçalves

Orientador: Prof. Marcelo Maraschin

Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

Julho de 2003.

Vanessa Zanotto Gonçalves

**Características químicas de vinhos e mostos elaborados a partir da
variedade americana Bordô, cultivada no Vale do Rio do Peixe – SC
(Ênfase em compostos fenólicos)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao
Curso de Graduação em Química (área de
concentração: Química Bacharel) da
Universidade Federal de Santa Catarina, como
parte dos requisitos para a obtenção do grau de
graduada em Química Bacharel.

Orientador: Prof. Marcelo Maraschin

Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

Julho de 2003.

“É justamente a possibilidade de realizar um sonho que torna a vida interessante.”

AGRADECIMENTOS

Dedico meus agradecimentos a todas as pessoas que me ajudaram e apoiaram durante os anos de minha graduação. Seria impossível mencionar todos, mas cada um deles têm um lugar especial em meu coração.

Agradeço à minha família; meu pai, minha mãe, meus irmãos – Marcelo, Toby e Mel, e a meus “filhos” caninos – Anúbis e Amon, que foram suporte e porto seguro durante estes anos de muita batalha e persistência.

Em especial ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Maraschin e ao Prof. Dr. Miguel Soriano Balparda Caro pela confiança e pelo apoio em momentos decisivos.

Agradeço também a todos os professores que com seus ensinamentos fornecerem os estímulos e as orientações necessárias para a elaboração e realização deste trabalho.

A todos os meus amigos, até mesmo aqueles que não perceberam o quanto foram e são importantes para mim.

Rafael, Carol, Carla, Josiane, Alexandre, Deise as vezes Dalva, Evandro, Paula, Gizelle, Fernando e em especial a união das conquistadoras de gatinhos: Renata, Gisele, Cristiane e Carina pois amigo é para a vida inteira.

Ao meu eterno namorado Gilberto Panceri, pelo carinho e compreensão.

A Granja Monte Carvalho pelas amostras de vinho e mosto, em especial ao enólogo Roberto Catellan pelo apoio e amizade.

A UFSC, pelo espaço cedido em seus laboratórios, bibliotecas, e salas de aula para que assim fosse possível obter o título de graduação em Química Bacharel.

E finalmente, ao Cara lá de cima – Deus, aquele a quem eu pude sempre recorrer em minhas orações.

INDICE GERAL

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	A história do vinho.....	1
1.2	A videira e a uva	5
1.2.1	Composição física e química da uva madura.....	5
1.2.2	Uvas para vinhos.....	6
1.3	A fermentação.....	7
1.4	A composição do vinho.....	11
1.4.1	Açúcares.....	11
1.4.2	Álcoois.....	12
1.4.3	Ácidos Orgânicos.....	13
1.4.4	Sais.....	14
1.4.5	Substâncias Nitrogenadas.....	14
1.4.6	Ésteres.....	15
1.4.7	Aldeídos e Cetonas.....	15
1.4.8	Vitaminas.....	15
1.4.9	Anidrido Sulfuroso.....	16
1.4.10	Monoterpenos.....	16
1.4.11	Compostos fenólicos.....	17
1.5	O vinho e a saúde.....	21
1.5.1	O vinho e os compostos fenólicos.....	22
1.6	O vinho e a economia.....	24
1.7	Métodos de análises aplicados aos vinhos.....	25
1.8	Justificativa do trabalho.....	27
1.9	Objetivos.....	29
1.9.1	Objetivo Geral.....	29

1.9.2	Objetivos Específicos	29
2.	PARTE EXPERIMENTAL	30
2.1	Materiais	30
2.1.1	Reagentes.....	30
2.1.2	Equipamentos.....	31
2.2	MÉTODOS	31
2.2.1	Extração, isolamento e purificação dos compostos fenólicos e antociânicos.....	31
2.2.2	Análise quantitativa dos compostos antôcianos.....	32
2.2.3	Dosagem de compostos fenólicos totais.....	32
2.2.4	Análise quantitativa de taninos.....	33
2.2.5	Espectrometria de ressonância magnética nuclear de ¹ H.....	34
2.2.6	Análise do teor de açúcares nas amostras de mosto.....	34
2.2.7	Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.....	34
2.2.8	Medida do pH nas amostras de mosto.....	35
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.1	Antocianinas	36
3.2	Fenóis Totais	42
3.3	Taninos	44
3.4	Estilbenos	47
3.5	Polifenóis	49
4.	CONCLUSÕES	54
4.1	Mostos	54
4.2	Vinhos	54
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Seqüência de reações da via glicolítica. O símbolo P representa o grupo PO_3^{2-} . Deve-se notar que, como a diidroxiacetona fosfato converte-se a gliceraldeído 3-fosfato, a partir de uma molécula de glicose formam-se duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato. As reações subseqüentes a este composto ocorrem, portanto, duas vezes, originando 2 NADH, 4 ATP e 2 piruvato. As setas coloridas indicam reações irreversíveis.....	9
Figura 2	Descarboxilação do piruvato, originado acetaldeído, que servindo como acceptor dos elétrons do NADH, reduz-se a etanol. A abreviação (TPP) representa a coenzima tiamina pirofosfato.....	10
Figura 3	Estrutura básica de proantocianidinas: quando R1 e R2 = H, propelargonidinas; R1 = H e R2 = OH, proantocianidinas; R1 e R2 = OH, prodelfinidinas.....	21
Figura 4	Estrutura da molécula <i>trans</i> -resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno).....	22
Figura 5	Esquema do mecanismo de oxidação das antocianinas presentes em vinhos tintos.....	24
Figura 6	Número de trabalhos científicos publicados sobre vinho e saúde nos últimos 12 anos.....	28
Figura 7	Concentração total de antocianinas (μM – fração metanol- HCl 1% <i>flash</i> - cromatografada) em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô safra 2003, cultivada no Vale do Rio do Peixe-SC.	36

Figura 8	Teor de açúcares (Brix) em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô, safra 2003, cultivada no Vale do rio do Peixe-SC.	38
Figura 9	Transformações das antocianinas por alteração do pH do meio	38
Figura 10	Valores do pH em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô, safra 2003, cultivada no Vale do rio do Peixe-SC.	39
Figura 11	Concentração total de antocianinas (μM – fração metanol-HCl 1% flash-cromatografada) em amostras de 2 safras de vinhos Bordô produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.	39
Figura 12	Esquema que demonstra a condensação entre flavonóides e antocianinas.	41
Figura 13	Concentração total de antocianinas (μM – fração metanol-HCl 1% flash-cromatografada) em amostras de 15 safras de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na região da Serra Gaúcha- RS. ⁶⁰	40
Figura 14	Concentração de fenóis totais (g/L) em amostras de mostos referentes ao 1º, 3º e 5º dias de fermentação de uvas Bordô, produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.	43
Figura 15	Concentração de Fenóis Totais (g/L) em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.	44
Figura 16	Concentração total de compostos tânicos (proantocianidinas) em amostras de mosto referentes ao 1º, 3º e 5º dia de fermentação de uvas Bordô produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.	45
Figura 17	Concentração total de compostos tânicos (proantocianidinas) em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.	46

Figura 18	Concentração total de compostos tânicos em amostras de 15 safras de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na Serra Gaúcha – RS.	47
Figura 19	Concentração do composto <i>t</i> -resveratrol em amostras de mosto referentes ao 1º, 3º e 5º dia de fermentação de uvas Bordô produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.	48
Figura 20	Concentração do compostos <i>t</i> -resveratrol em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.	49
Figura 21	Espectro de ¹ H-RMN referente à amostra de vinho Bordô safra 2001, produzido no Vale do Rio do Peixe -SC	52
Figura 22	Espectro de ¹ H-RMN referente à amostra de vinho Bordô safra 2002, produzido no Vale do Rio do Peixe -SC	53

INDICE DE TABELAS

Tabela 1	Aspectos estruturais de antocianinas e antocianidinas de ocorrência freqüente em vinhos	19
Tabela 2	Detecção da presença* de compostos de interesse por ^1H – RMN em amostras de vinhos Bordô produzidos no Vale do Rio do Peixe - SC	50

ÍNDICE ABREVIATURAS

¹H – RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
a. C	Antes de Cristo
ADP	Adenosina 5' difosfato
ATP	Adenosina 5' trifosfato
Ac.	Açúcar
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CoA	Acetil-coenzima A
CO₂	Gás Carbônico
DCI	Doença Cardíaca Isquêmica
EM	Espectrometria de Massa
EtOAc	Acetato de Etila
GL.	Grau GayLussac
HCl	Ácido Clorídrico
LDL	Low density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade)
MeOH	Metanol
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídio na forma reduzida
P	Fosfato
P_i	Fosfato inorgânico
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
TPP	Coenzima tiamina pirofosfato
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
U.V. Vis	Ultravioleta visível

CAPÍTULO I – Introdução

1 Introdução

1.1 A história do vinho

Há 2 milhões de anos já coexistiam as uvas e o homem que as podia colher. Seria, portanto, estranho se o "acidente" do vinho nunca tivesse acontecido ao homem nômade primitivo.¹

Os arqueologistas aceitam o acúmulo de sementes de uva como evidência (pelo menos de probabilidade) da elaboração de vinhos. Escavações em Catal Hüyük (talvez a primeira das cidades da humanidade) na Turquia, em Damasco na Síria, Byblos no Líbano e na Jordânia revelaram sementes de uvas da Idade da Pedra (Período Neolítico B), cerca de 8000 a.C. As mais antigas sementes de uvas cultivadas foram descobertas na Geórgia (Rússia) e datam de 7000 - 5000 a.C. (datadas por marcação de carbono 13).¹

No Velho Testamento da Bíblia Sagrada também podemos encontrar evidências de como teria iniciado a produção de vinhos, o capítulo 9 do Gênesis diz que Noé, após ter desembarcado os animais, plantou um vinhedo do qual fez vinho, bebeu e se embriagou.²

A mais citada de todas as lendas sobre a descoberta do vinho é uma versão persa que fala sobre Jamshid, um rei persa semi-mitológico que parece estar relacionado a Noé, pois teria construído um grande muro para salvar os animais do dilúvio. Na corte de Jamshid, as uvas eram mantidas em jarras para serem comidas fora da estação. Certa vez, uma das jarras estava cheia de suco e as uvas espumavam e exalavam um cheiro estranho sendo deixadas de lado por serem inapropriadas para comer e consideradas possível veneno. Uma donzela do harém tentou se matar ingerindo o possível veneno. Ao invés da morte ela encontrou alegria e um repousante sono. Ela narrou o ocorrido ao rei que ordenou, então, que uma grande quantidade de vinho fosse feita e Jamshid e sua corte beberam da nova bebida.¹

Os mesopotâmios também eram bebedores de vinho. A Mesopotâmia, atual Iraque, está situada entre os rios Tigre e Eufrates que corre ao sul dos Cárpatos (o Eufrates nasce no Monte Ararat) até o Golfo Pérsico, numa região plana, quente e árida, uma antítese da região adequada para vitivinicultura. Os sumérios aí se estabeleceram entre 4.000 a 3.000 a.C. e fundaram as cidades de Kish e Ur. De Kish provém a primeira forma de escrita, os pictogramas, desenhados com estilete em argila úmida. Entre estes escritos há uma folha de uva. Os mesopotâmios tentaram mais tardiamente o plantio de videiras, mas, originalmente, importavam o vinho de outras regiões. Há registros de que dois séculos e meio depois do surgimento de Kish e Ur o rio Eufrates foi usado para transporte de vinho da região da Armênia para Babilônia, a cidade que sucedeu Kish e Ur.¹

Os egípcios não foram os primeiros a fazer vinho, mas certamente foram os primeiros a saber como registrar e celebrar os detalhes da vinificação em suas pinturas que datam de 1.000 a 3.000 a.C. Nas tumbas dos faraós foram encontradas pinturas retratando com detalhes várias etapas da elaboração do vinho, tais como: a colheita da uva, a prensagem e a fermentação. Também são vistas cenas mostrando como os vinhos eram bebidos: em taças ou em jarras, através de canudos, em um ambiente festivo e elegante. O consumo de vinho parece ter sido limitado aos ricos, nobres e sacerdotes. Os vinhedos e o vinho eram oferecidos aos deuses, especialmente pelos faraós, como mostram os registros do presente que Ramsés III (1100 a.C.) fez ao deus Amun. Um fato muito interessante e que mostra o cuidado que os egípcios dedicavam ao vinho é a descoberta feita em 1922 na tumba do jovem faraó Tutankamon (1371-1352 a.C.). Foram encontradas 36 ânforas de vinho, algumas das quais continham inscrições da região, safra, nome do comerciante e até a inscrição "muito boa qualidade"!¹

Na *Iliada*, Homero fala de vinhos e descreve com lirismo a colheita durante o outono. O poeta também fala de vinhos nas narrativas da guerra de Tróia e cita a ilha de Lemnos, no mar Egeu, como a fornecedora de vinho para as tropas que sitiavam Tróia.¹

Homero também descreve os vinhos gregos ao narrar as viagens de Odisseu e entre eles está o vinho do sacerdote Maro: vinho tinto, com doçura do mel e tão forte que era diluído com água na proporção de uma parte de vinho para vinte partes de água. Quando foi aprisionado na costa da Sicília, pelo cíclope Polifemos, Odisseu ofereceu-lhe o vinho de Maro como digestivo. Como o cíclope estava acostumado com o fraco vinho da Sicília,

após tomar o vinho forte caiu em sono profundo, o que permitiu a Odisseu extrair-lhe o olho.¹

As ilhas gregas foram provavelmente os principais exportadores de vinho, sendo a ilha de Chios, próxima ao litoral da Lídia, a mais importante delas e a que possuía o melhor vinho. As suas ânforas características foram encontradas em quase todas as regiões por onde os gregos fizeram comércio, tais como: Egito, França, Bulgária, Itália e Rússia. Também a ilha de Lesbos, ao norte de Chios, possuía um vinho famoso e, provavelmente, foi a fonte do Pramnian, o equivalente grego do fantástico vinho búlgaro Tokay Essenzia.¹

O amor dos gregos pelos vinhos pode ser avaliado pelos "Simpósios", cujo significado literal é "bebendo junto". Eram reuniões (daí o significado atual) onde as pessoas se reuniam para beber vinho em salas especiais, reclinados confortavelmente em divãs, onde conversas se desenrolavam num ambiente de alegre convívio.¹

Entre as muitas evidências da sabedoria grega para o uso do vinho são os escritos atribuídos a Eubulus, por volta de 375 a.C. : "Eu preparo três taças para o moderado: uma para a saúde, que ele sorverá primeiro, a segunda para o amor e o prazer e a terceira para o sono. Quando essa taça acabou, os convidados sábios vão para casa. A quarta taça é a menos demorada, mas é a da violência; a quinta é a do tumulto, a sexta da orgia, a sétima a do olho roxo, a oitava é a do policial, a nona da ranzinze e a décima a da loucura e da quebradeira dos móveis." ¹

O vinho chegou no sul da Itália através dos gregos, por volta de 800 a.C. No entanto, os etruscos, já viviam ao norte, na região da atual Toscana, e elaboravam vinhos e os comercializavam até na Gália e, provavelmente, na Borgonha. Não se sabe, no entanto, se eles trouxeram as videiras de sua terra de origem (provavelmente da Ásia Menor ou da Fenícia), ou se cultivaram uvas nativas da Itália, onde já havia videiras desde a pré-história. Deste modo, não é possível dizer quem as usou primeiro para a elaboração de vinhos, contudo a mais antiga ânfora de vinho encontrada na Itália é etrusca e data de 600 a.C.¹

Da Europa , através das expedições colonizadoras, as vinhas chegaram a outros continentes, se aclimataram e passaram a fornecer bons vinhos, especialmente nas Américas do Norte (Estados Unidos) e do Sul (Argentina, Chile e Brasil) e na África (África do Sul). A uva foi trazida para as Américas por Cristóvão Colombo, na sua segunda viagem às Antilhas em 1493, e se espalhou, a seguir, para o México e sul dos Estados

Unidos e às colônias espanholas da América do Sul. As videiras foram trazidas da Ilha da Madeira ao Brasil, em 1532, por Martim Afonso de Souza e plantadas por Brás Cubas, inicialmente no litoral paulista e depois, em 1551, na região de Tatuapé.¹

Posteriormente, em diversos outros estados foram plantadas parreiras, como por exemplo na Bahia, Pernambuco, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.³

No sul do Brasil, a exploração vitícola é uma atividade bastante antiga, conforme demonstram os registros de cultivo de uva pelos jesuítas no Estado do Rio Grande do Sul no século XVII. Em 1864, esta atividade foi introduzida em Santa Catarina, sendo que o início do cultivo na principal região produtora no Estado, o Vale do Rio do Peixe, data do ano de 1913, ocorrendo uma intensificação a partir de 1930, notadamente pelos colonizadores de origem italiana que imigraram do Rio Grande do Sul.⁴

Finalmente, é imprescindível lembrarmos as descobertas sobre os microorganismos e a fermentação feitas por Louis de Pasteur (1822-1895) e publicadas na sua obra "Études sur le Vin". Essas descobertas constituem o marco fundamental para o desenvolvimento da enologia moderna.⁵

A partir do século XX, a elaboração dos vinhos tomou novos rumos com o desenvolvimento tecnológico na viticultura e da enologia, propiciando conquistas tais como o cruzamento de cepas de uvas e o desenvolvimento de cepas de leveduras selecionadas geneticamente, a colheita mecanizada, a fermentação "a frio" na elaboração dos vinhos brancos, etc. Ainda que pese o romantismo de muitos que consideram (ou supõem?) os vinhos dos séculos passados como mais artesanais, os vinhos deste século têm, certamente, um nível de qualidade bem melhor do que os de épocas passadas.⁵

1.2 A videira e a uva

A uva, matéria prima do vinho, é o fruto da videira ou vinha, planta que possui a seguinte classificação na sistemática botânica:

⇒ ORDEM: *Ramnideae*

⇒ FAMÍLIA: *Vitaceae*

⇒ SUB-FAMÍLIA: *Ampelideae*

⇒ GÊNERO: *Vitis*

⇒ SUB-GÊNERO: *Euvinis*

⇒ ESPÉCIES: *Vitis vinifera*, *V. rupestris*, *V. aestivalis*, *V. labrusca*, *V. riparia*, *V. cinerae*

Como toda a planta, a videira possui um ciclo anual de vida que, no Brasil, é dividido em três períodos, o período de dormência que se estende, em geral, de abril a julho. Durante essa época, é feito o plantio e a enxertia das plantas novas e/ou a adubação e a poda seca das plantas velhas. O segundo período, o de crescimento, vai aproximadamente, de agosto a dezembro. Durante esse período faz-se a capina e a poda verde e nela ocorrem o brotamento das folhas, a floração e a produção. Por fim, o período de elaboração do vinho se estende por volta de dezembro a março e nela há a formação e o amadurecimento dos frutos e queda das folhas, esta fase é a colheita, sendo a das uvas brancas mais precoce (dezembro a janeiro) e a das tintas mais tardia (fevereiro a março).⁵

1.2.1 Composição física e química da uva madura

Um cacho de uva é composto de duas partes bem distintas: a herbácea, denominada engajo; e a carnosa, denominada baga ou grão. A uva madura e sadia apresenta de 4% a 6% de engajo e de 94% a 96% de bagas ou grão.⁶

O engajo é a parte herbácea mais ou menos lignificada, que suporta os grãos. Ele é constituído do pedúnculo e de suas ramificações, as quais denominam-se pedicelos. O engajo é rico em água, lignocelulose, resinas, minerais e tanino, sendo sua composição em açúcares e ácidos orgânicos insignificante.⁶

O grão da uva é formado de 6% a 12% de casca ou película, de 2% a 5% de sementes e de 85% a 92% de polpa.

a) Casca ou película: Trata-se de um envoltório em cujo interior estão a polpa e as sementes. Durante o desenvolvimento do grão, a casca quase não aumenta de peso; dada a sua elasticidade, ela se afina à medida que o grão cresce.

A casca é recoberta de uma camada fina de cera denominada cutícula, cuja função é proteger as células contra os efeitos de calor e umidade, e também evitar a

penetração de microrganismos patogênicos no grão. Na parte exterior da casca, ficam localizadas as substâncias aromáticas características de cada variedade de uva. Geralmente, as matérias corantes (antocianinas) das uvas tintas estão situadas quase que só na casca, embora nas uvas chamadas tintórias essas substâncias estejam presentes também na polpa. Portanto, na vinificação de vinho tinto, a fermentação se realiza na presença da casca, a fim de extrair os pigmentos antociânicos. A casca ainda é constituída de tanino, substância muito importante na composição futura do vinho. Seu teor na polpa varia de 0,5% a 2%, segundo a variedade de uva.⁶

b) Sementes: A quantidade de sementes, normalmente encontrada em cada grão de uva é de 4, dada à constituição do ovário.

As sementes representam de 3% a 4% do peso do grão e contém cerca de 10% a 20% de óleo comestível de boa qualidade. Contêm ainda cerca de 5% a 9% de tanino e de 0,5% a 1,0% de ácidos voláteis.⁶

c) Polpa ou mosto: A polpa constitui a parte principal do grão da uva, cerca de 83% a 92% do grão. Os principais constituintes da polpa ou mosto (em g/litro) são: de 650 a 850 de água; de 120 a 250 de açúcar redutor; de 6 a 14 de ácidos orgânicos; de 2,5 a 3,5 de substâncias minerais; e de 0,5 a 1,0 de compostos nitrogenados.⁶

1.2.2 Uvas para vinhos

Existem inúmeras variedades de uvas para a elaboração de vinho em diferentes regiões vinícolas: Pode-se dividi-las em duas categorias:

a) Para vinhos finos: *Vitis vinifera*.

b) Para vinhos comuns: *Vitis labrusca* e híbridas.

As variedades de uvas da espécie *Vitis vinifera* produzem vinho fino de categoria superior.

As uvas da variedade *Vitis labrusca* são cultivadas em grande escala, em todas as regiões vitivinícolas do país, dada à sua rusticidade e produtividade. Os vinhos produzidos com essas uvas apresentam aroma pronunciado, o qual na enologia clássica se denomina "foxé" ou "foxado", e é considerado como uma característica negativa do vinho.

Entretanto, o consumidor brasileiro, habituado com o consumo desse tipo de vinho, muitas vezes considera este atributo indispensável.

As uvas híbridas cultivadas no Brasil contribuem para a obtenção de vinhos comuns de boa qualidade.⁶

As principais espécies de uvas cultivadas no Brasil para a produção de vinho, são:

- a) *Vitis vinifera*: - Variedades Viníferas tintas: Bonarda, Barbera, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Merlot, Sangiovese, Canaiolo e Syrah.
- Variedades Viníferas brancas: Peverella, Trebbiano, Malvasia, Riesling, Moscato e Semillon.
- b) *Vitis labrusca*: Variedades Isabel, Niágara branca e rosada, Concord, Tercy, Bordô, Folha de figo e York madeira.
- c) *Híbridos*: Variedades Seibel 2, Seibel 10.096, Seyve Villard 5276, IAC 116-31 (rainha), IAC 138-22 (máximo), Pignoletta e Couderc.⁶

1.3 A fermentação

Na sua forma mais básica, a fabricação do vinho é simples. Após as uvas terem sido esmagadas, o levedo (pequeno organismo unicelular que existe naturalmente na uva) entra em contato com o açúcar do suco da uva e, gradualmente, converte esse açúcar em álcool e CO₂, através de um processo exotérmico. Quando o levedo conclui o seu trabalho, o suco de uva transforma-se em vinho.⁷ A liberação de gás carbônico é comparada ao processo de fervura, sendo que a palavra fermentação origina do latim *fervere*, que significa ferver.⁸

A fermentação, dependendo da variedade de uva utilizada, pode durar dias ou semanas, e o vinho pode maturar por meses ou anos.

A transformação do açúcar em etanol e CO₂ envolve 12 reações em seqüência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica. Tal aparato enzimático está confinado no citoplasma celular, sendo portanto nessa região da célula que a fermentação alcoólica se processa.⁷

O mecanismo da fermentação do açúcar é extremamente complexo conforme visto na figura 1. A D-glucose quebra-se em duas moléculas de piruvato, processo que ocorre em vários passos reacionais, sendo os 5 primeiros conhecidos como fase preparatória, e os cinco subsequentes constituem a fase de pagamento.⁹

Nas reações seqüenciais da glicólise pode-se evidenciar quatro etapas para a maior compreensão da via fermentativa:

- a) Dupla fosforilação da hexose, à custa de 2 moléculas de ATP, originando uma hexose com dois grupos fosfato.
- b) Clivagem desta hexose, produzindo duas trioses fosforiladas.
- c) Oxidação e nova fosforilação, desta vez por fosfato inorgânico (P_i), das trioses fosfato, formando duas moléculas de um intermediário com dois grupos fosfato.
- d) Transferência dos grupos fosfato deste intermediário para ADP, formando 4 moléculas de ATP e 2 moléculas de piruvato.⁹

O destino do produto, o piruvato, mostrado na figura 2, depende do tipo de célula e das circunstâncias metabólicas. Nas leveduras, que são os microorganismos utilizados na fabricação do vinho, o piruvato é convertido anaerobicamente em etanol e CO_2 , através da descarboxilação do piruvato, originando acetaldeído, que, servindo como acceptor dos elétrons do NADH, reduz-se a etanol.⁹

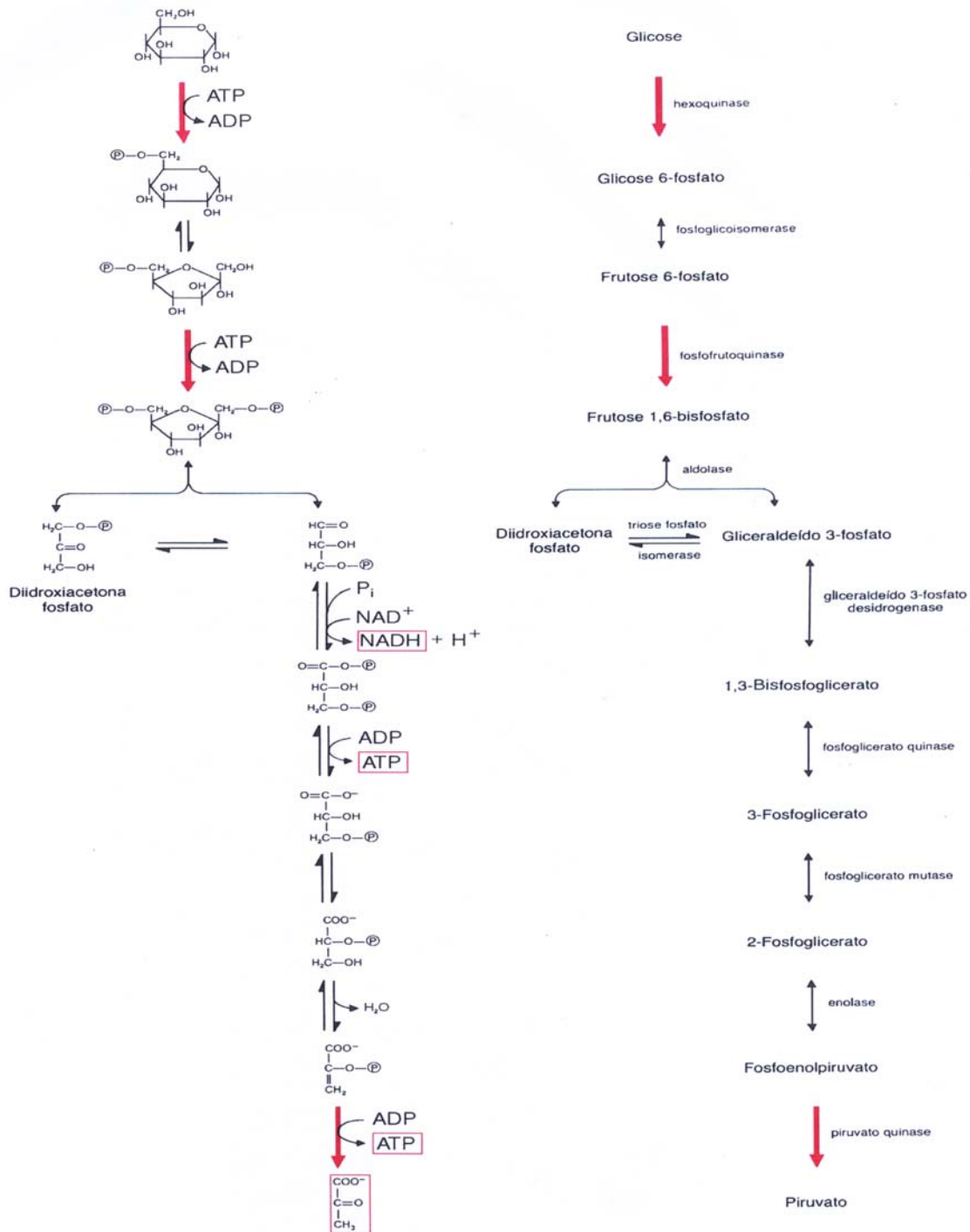


Figura 1 – Sequência de reações da via glicolítica. O símbolo P representa o grupo PO_3^{2-} .

Deve-se notar que, como a diidroxiacetona fosfato converte-se a gliceraldeído 3-fosfato, a partir de uma molécula de D-glicose (glucose) formam-se duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato. As reações subsequentes a este composto

ocorrem, portanto, duas vezes, originando 2 moléculas de NADH, 4 moléculas de ATP e 2 moléculas de piruvato. As setas coloridas indicam reações irreversíveis.

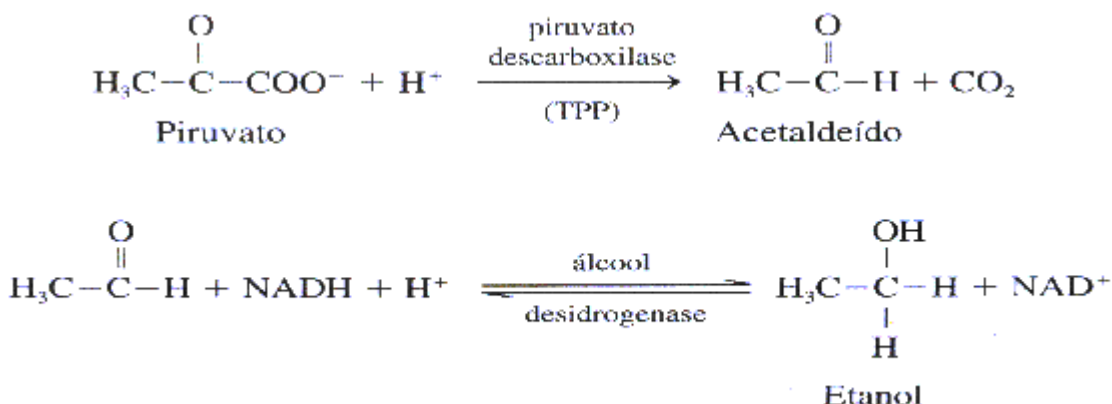


Figura 2 – Descarboxilação do piruvato, originando acetaldeído, que servindo como acceptor dos elétrons do NADH, reduz-se a etanol. A abreviação (TPP) representa a coenzima tiamina pirofosfato.

O mosto da uva apresenta proporções iguais de D-glucose e D-frutose porém, durante o processo de fermentação alcoólica com a espécie de levedura comumente empregada, *Saccharomyces ellipsoideus*, a glucose é fermentada mais rapidamente e a relação glucose/frutose decresce durante a fermentação.

As leveduras apiculadas, como *Kloeckern apiculata* ou *Hanseniaspora uvarum*, são geralmente responsáveis pelo início e primeira fase de fermentação alcoólica até aproximadamente 4 °GL a 5 °GL, visto que se encontram na uva no estado ativo. Nas uvas com podridão, a fermentação pode ser iniciada com a *Torulopsis bacillaris*, capaz de produzir álcool de 7 °GL a 10 °GL.⁶ Subsequentemente as espécies do gênero *Saccharomyces* invadem o meio muito rapidamente e nesse momento as leveduras iniciais desaparecem.

Entre as *Saccharomyces*, o poder alcoogênico varia de 8 °GL a 18 °GL. Na fase final de uma fermentação alcoólica, as espécies dominantes são *Saccharomyces*

ellipsoideus e *Saccharomyces bayanus*, sendo esta última a mais alcoogênica e denominada "acabadora" de vinhos de graduações alcoólicas elevadas.⁶

A temperatura de fermentação é extremamente importante: a baixa temperatura permite obter alto rendimento em álcool, não só pela fermentação mais completa, mas também por minimizar a perda por evaporação. A temperatura também afeta a velocidade da fermentação e a natureza e quantidades de compostos secundários formados.⁶

A temperatura ótima para a fermentação na maioria de leveduras para vinho é de 25°C a 30°C, embora existam leveduras que atuam em baixas temperaturas, ao redor de 10°C. Para a fermentação de vinho branco, recomenda-se manter a temperatura de fermentação abaixo de 20°C e, no caso de vinho tinto, nunca superior a 30°C.⁶

1.4 A composição do vinho

O conhecimento da composição química do vinho permite compreender melhor os fenômenos que intervêm durante a maturação da uva, da elaboração do vinho, de sua conservação e de seus tratamentos.

As principais substâncias que constituem o vinho são: açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, sais de ácidos minerais e orgânicos, compostos fenólicos, compostos nitrogenados, pectinas, gomas e mucilagens, compostos voláteis e aromáticos.⁶

1.4.1 Açúcares

O teor de açúcar da uva varia de 15% a 30% em função de vários fatores, tais como o estágio de maturação, o clima, o solo e a variedade de uva.

Os açúcares da uva são constituídos quase que exclusivamente de glicose e frutose em proporções aproximadamente iguais no momento da maturação, (a relação glicose/frutose é ao redor de 0,95). Durante a fermentação, essa relação diminui visto que a maioria das leveduras fermenta preferencialmente a glicose.⁶

A uva contém traços de sacarose que desaparecem na fermentação e ainda uma pequena quantidade de açúcares não-fermentescíveis, cerca de 1 g/litro, e que se encontram no vinho, sendo as principais a arabinose e a xilose. Por causa dessas pentoses jamais a dosagem de açúcares redutores é zero como, por exemplo no vinho seco onde seu teor situa-se entre 1 e 2 g/litro. Podem-se ainda encontrar traços de outros açúcares: rafinose, estaquiose, elibiose, maltose e galactose, entretanto sem importância para a enologia.⁶

1.4.2 Álcoois

O álcool etílico é o constituinte mais importante do vinho após a água, que representa cerca de 85° a 90%.

Admitindo-se que o grau alcoólico dos vinhos varia entre 9° GL e 15° GL, o álcool etílico representa de 72 a 120 g/litro. Desse total, cerca de 0,5% é representado por outros álcoois, tais como: metílico, isobutílico, isoamílico, feniletílico, glicerol, etc.⁶

O glicerol é, após o álcool etílico, o constituinte do vinho mais importante ocorrendo em proporção de 5 a 10 g/litro. Seu sabor adocicado, semelhante ao da glucose, contribui para a maciez do vinho, mas não constitui o fator principal, desta.

O glicerol é um subproduto da fermentação alcoólica. Ela representa normalmente de 1/10 a 1/15 do peso de álcool etílico. Seu teor no vinho depende do teor inicial de açúcar no mosto bem como da espécie de levedura e das condições de fermentação: temperatura, aeração, acidez e sulfitagem, por exemplo.

O butileno glicol é um poliol constituinte do vinho cujo teor varia de 0,3 a 1,5 g/litro.⁶

O inositol é um álcool cíclico com propriedades vitamínicas; existe na uva e no vinho ao redor de 0,5 g/litro. A presença de manitol no vinho pode ser considerada como produto de transformação da frutose pelas bactérias lácticas. No vinho, a presença de sorbitol acima de 0,1 g/litro pode ser considerada como matéria estranha, entretanto sua presença em proporções maiores nos vinhos de frutas é considerada normal.⁶

O metanol está normalmente presente no vinho, originando-se a partir da hidrólise da pectina. Seu teor varia de 0 a 635 mg/litro, com a média de 100 mg/litro. Alguns fatores contribuem para o aumento de metanol do vinho, tais como: a adição de pectinases ao mosto e vinhos obtidos por maceração prolongada de casca de uvas. Vinhos obtidos com uvas da espécie *Vitis labrusca* ou seus híbridos apresentam maior teor em metanol que os de *Vitis vinifera*.

Os álcoois superiores sempre presentes nos vinhos são: 1-propanol; 1-butanol; 2-butanol; 2-metil-1-propanol; 2-metil-1-butanol; 3-metil-1-butanol; 1-pentanol e 1-hexanol.⁶

1.4.3 Ácidos Orgânicos

Os principais ácidos orgânicos de vinho são:

- a) Os provenientes da uva: tartárico, málico e cítrico e;
- b) Os provenientes da fermentação: butanodióico, láctico e acético.

Existem outros ácidos orgânicos em pequenas quantidades: galacturônico, glucurônico, glucônico, citromálico, dimetilglicérico, pirúvico e cetoglutárico.

A acidez fixa no vinho é basicamente determinada pelos ácidos: tartárico, málico, láctico, succínico e cítrico.

A acidez volátil do vinho é constituída de ácidos voláteis, sendo o acético o componente principal. O baixo teor em acidez volátil indica a boa sanidade do produto.

Os ácidos orgânicos encontram-se no vinho sob dois estados: a) a maior parte na forma livre e constitui a acidez total; e b) outra parte na forma combinada ou salificada com as bases do vinho, sendo determinada pela alcalinidade de cinzas.⁶

O conhecimento do valor de pH do vinho para o enólogo é de suma importância, visto que, por ele pode-se avaliar a resistência do vinho à oxidação, à infecção bacteriana ou a porcentagem de SO₂ presente na forma livre.

A acidez total do vinho fornece só a soma dos ácidos livres sem levar em conta sua força e não define suficientemente a acidez. Por outro lado, a acidez real ou concentração de íons hidrogenados H⁺, representado pelo pH, é uma relação entre a

quantidade e a força dos ácidos, esta última representada por sua constante de dissociação de íons H^+ . O valor de concentração de íons H^+ nos vinhos é da ordem de 0,001 a 0,0001 g/litro. Isto convertido em pH, que é exatamente o co-logaritmo da concentração em íons H^+ , representa de 3 a 4.⁶

1.4.4 Sais

O vinho contém de 2 a 4 g/litro de sais de ácidos orgânicos e minerais.

Em 1 litro de vinho existe cerca de 1 g de potássio, 100 mg de magnésio e de cálcio e algumas dezenas de miligramas de sódio.

Os principais constituintes de sais do vinho são: a) ânions minerais (fosfato, sulfato, cloreto, sulfito) e orgânicos (tartarato, malato e lactato); e b) cátions potássio, sódio, magnésio, cálcio, ferro, alumínio e cobre. Ainda existem oligoelementos, tais como: F, Si, I, Br, B, Zn, Mn, Pb, Co, Cr e Ni.⁶

1.4.5 Substâncias Nitrogenadas

Existem no vinho de 1 a 3 g/litro de substâncias nitrogenadas. Os aminoácidos representam a mais importante forma de compostos nitrogenados nos vinhos, com grande importância no sabor do vinho, além de atuarem como precursores de diversos outros compostos flavorizantes. A formação destes produtos depende muito de diversas variáveis, as quais o vinho pode ser submetido, como pH, temperatura, concentração de dióxido de carbono, exposição ao oxigênio e tempo de envelhecimento. A cisteína, um aminoácido sulfonado, leva à formação de heterocíclios como pirazinas, metil-tiazóis, acetil-tiazolidina, entre outros, que contribuem largamente para o sabor final do vinho. Assim, o controle da quantidade de aminoácidos e sua metabolização no processo de elaboração do vinho são extremamente importantes, pois um descontrole levaria à perda de qualidade olfativa da bebida.¹⁰

1.4.6 Ésteres

Os ésteres são normalmente formados durante a fermentação pelas leveduras, pelas bactérias lácticas e acéticas, e durante o envelhecimento do vinho em barris de madeira ou em garrafas.

O significado de ésteres no aroma e no *bouquet* de vinho é bastante controvertido. Assim, por exemplo, uma quantidade elevada de acetato de etila no vinho proporciona uma imagem do produto deteriorado ou acetilado, embora não o seja.

Além do acetato de etila, outros ésteres são importantes, tais como: laurato de etila, propionato de etila, butanoato de etila, acetato de amila, acetato de pentila e acetato de hexila. A análise por cromatografia gasosa identifica cerca de 32 ésteres em vinhos.

O antranilato de metila é o principal éster que caracteriza o odor "foxado" de vinhos de labrusca.⁶

1.4.7 Aldeídos e cetonas

O teor de acetaldeído indica o grau de aeração a que foi submetido o vinho. Em vinhos brancos valores acima de 100 mg/litro indicam que houve oxidação da bebida.

No vinho tinto, sua concentração é bem mais reduzida que no branco, normalmente menos de 50 mg/litro.

As principais cetonas encontradas no vinho são: acetona, acetoína e a butirolactona.⁶

1.4.8 Vitaminas

As vitaminas encontradas no vinho contribuem de forma não expressiva na dieta alimentar.

Os teores médios por litro de vitaminas no vinho tinto são: 0,10 mg de tiamina, 0,16 mg de riboflavina, 0,98 mg de ácido pantotênico, 1,98 mg de nicotinamida, 0,47 mg de piridoxina, 334 mg de mesoinositol, 2,1 μ g de biotina, 0,06 μ g de cobalamina, 10 mg de ácido nicotínico, 0,074 mg de ácido aminobenzóico, 2,4 μ g de ácido pterolglutâmico e 0,33 g de inositol.⁶

1.4.9 Anidrido Sulfuroso

O anidrido sulfuroso é um produto indispensável na elaboração de vinho. Seu limite de uso varia de acordo com a legislação de cada país. No Brasil, seu emprego é permitido até 350 mg/litro como SO₂ total.

O anidrido sulfuroso pode ser empregado na forma líquida, que se gaseifica no momento de uso, ou em forma de sais, como metabissulfito de potássio.

O SO₂ atua sobre os microrganismos que se desenvolvem no vinho sendo nocivo para todos, mas em grau diferente. Sendo assim, em função dessa propriedade e da dose empregada, age como elemento seletivo dos microrganismos.⁶

1.4.10 Monoterpenos

Vários estudos sugerem que boa parte da expressão sensorial do *bouquet* do vinho se deve à presença de compostos terpenóides. Além disso, a relação entre as quantidades de cada terpeno em um vinho pode servir como pista para se descobrir a variedade de uva utilizada. Hoje, conhece-se cerca de 50 monoterpenos que, comumente, aparecem nos vinhos. Os mais abundantes são o linalol, geraniol, nerol, alfa-terpineol e citronelol. Os terpenos pertencem aos constituintes secundários das plantas e sua biossíntese começa com a acetil-coenzima A (CoA). Estes compostos não sofrem alterações durante as fermentações do vinho; portanto, eles são de fato, uma assinatura do vinho.

Na uva, os terpenos estão principalmente nas cascas e, na maioria das vezes ligados covalentemente a açúcares. Nesta forma, os terpenos são inodoros e insípidos, somente após a hidrólise destes glucosídeos ocorre a formação de moléculas com odor característico.¹⁰

1.4.11 Compostos fenólicos

Sob a denominação de compostos fenólicos, são englobadas diversas substâncias com características estruturais químicas heterogêneas. Tais compostos encontram-se em maior concentração na fração aquosa dos frutos, sendo liberados durante o esmagamento da uva. Tal fato colabora para que o conteúdo total de fenóis em vinhos e sucos de uva seja bastante influenciado pelas condições de crescimento das uvas (clima e manejo) e também pelas condições de vinificação. Além disto, do ponto de vista enológico, ao longo do processo de envelhecimento dos vinhos, ocorrem modificações na quantidade total destes compostos. Por outro lado, os compostos fenólicos são o principal substrato do oxigênio nesta bebida, sendo o conteúdo total destas substâncias uma medida da captação oxigênio e da habilidade do vinho em resistir à oxidação.¹¹

Os compostos fenólicos de maior importância na vitivinicultura são os pigmentos flavonóides onde se destacam as antocianinas e as flavonas, os taninos, os estilbenos e alguns ácidos fenólicos.

As antocianinas são os pigmentos responsáveis pela coloração vermelha nos vinhos tintos, onde seu conteúdo varia de 200 a 500mg/l e cuja diversidade química é função da(s) variedade(s) de uva utilizada(s). Assim, o monoglucosídeo de malvidol é o principal pigmento de uvas de *Vitis vinifera* por outro lado, o diglucosídeo de malvidol é específico de certas uvas americanas e de seus híbridos.^{12,13}

Os vinhos jovens possuem quantidades elevadas de compostos antociânicos, havendo redução dos teores destes compostos com o passar do tempo. De fato, tem sido comprovado que no transcurso do envelhecimento dos vinhos, as antocianinas são deglucosiladas, isto é, ao longo do período de envelhecimento dos vinhos ocorre a hidrólise da glucose, com o conseqüente aumento da concentração de antocianidina aglicona.^{12,13,14,15}

Além disso, a reação destes pigmentos de forma progressiva com compostos de natureza fenólica, particularmente os flavonóides, contribui para a diminuição de sua concentração no estado livre.^{16,18,19} Nas antocianinas, a natureza e o número de unidades de açúcares, bem como o de ácidos ligados na posição 3 e 6 dos açúcares, conferem diferenças estruturais e funcionais a estes compostos. Adicionalmente, as antocianinas podem ocorrer sob a forma simples ou conjugada, formando oligômeros.

Na tabela 1, são mostrados alguns aspectos estruturais da antocianidina (aglicona) e antocianinas mais freqüentemente encontradas em vinhos.

Os grupos metoxila e hidroxila, juntamente com os substituintes glicosil e de natureza ácida, têm efeitos importantes na cor e na estabilidade das antocianinas. A mesma antocianina poderá apresentar cores distintas, dependendo do pH, da concentração da solução e da presença de copigmentos, por exemplo.¹⁷

Todos estes fenômenos relacionados as antocianinas são responsáveis, em alguma extensão, pelas mudanças de coloração entre o vermelho-azulado dos vinhos jovens para o marrom-avermelhado dos vinhos maduros, assim como o decréscimo da adstringência do vinho, observado durante o processo de envelhecimento.²⁰

As flavonas possuem coloração amarela, cujo teor no vinho é bastante limitado. Como representante desse grupo encontra-se a quercetina e a miricetina.

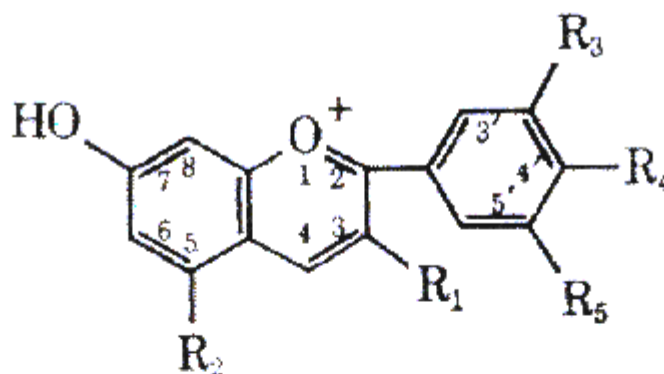
Os taninos compreendem um grupo de substâncias que são amplamente distribuídas no reino vegetal, podem ser classificados em taninos condensados e taninos pirogálicos. Os primeiros, localizam-se nas sementes e no enganço dos frutos. Em média, são encontrados valores de concentração desta substância entre 1 a 3 mg/l nos vinhos tintos, enquanto nos vinhos brancos sua ocorrência situa-se na faixa de microgramas.

Os taninos pirogálicos não existem na uva, sua presença no vinho provém do emprego de tanino comercial ou uso de barris de madeira no envelhecimento do vinho.²²

A proantocianidina corresponde atualmente a designação dada aos taninos condensados. A relevância da presença destes compostos nos produtos de origem vegetal tem merecido destaque nos últimos anos não somente devido às suas características enológicas, mas também pelos seus potenciais efeitos benéficos à saúde humana. Estes compostos assumem um importante papel no que se refere às características gustativas dos

vinhos, assim como na cor e sabor destes devido à sua associação com as antocianinas.^{23,24,25,26,27,28,29,30}

Tabela 1 – Aspectos estruturais de antocianinas e antocianidinas de ocorrência frequente em vinhos.



<i>Nomes</i>	R_3	R_4	R_5
Cianidina	OH	OH	
Peonidina	OCH ₃	OH	
Delfinidina	OH	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH	OH
Malvidina	OCH ₃	OH	OH
<i>Derivados antociânicos</i>		<i>Estrutura</i>	
Monoglicosídeo	$R_1 =$ glucose (unida na posição 1 da glucose)		
Diglicosídeo	R_1 e $R_2 =$ glucose (unida na posição 1 da glucose)		

Estruturalmente, as proantocianidinas são polímeros de unidades elementares de flavan-3-ols, com esqueleto básico flavonóide ($C_6 - C_3 - C_6$), conforme mostrado na figura 3. Suas propriedades químicas como coordenador com metais e capacidade de complexação com macromoléculas podem ser observadas durante a clarificação e estabilização do vinho, bem como durante o envelhecimento do mesmo.³¹

Os compostos tânicos oxidam lentamente durante a vinificação e conservação. Este fenômeno dá origem à cor atijolada dos vinhos tintos velhos. Uma oxidação pronunciada implica em um envelhecimento precoce do vinho e a redução nos teores destes compostos, os quais apresentam propriedades antissépticas, antioxidantes e adstringentes.

Os compostos tânicos possuem a habilidade de ligar-se às proteínas, atuando como repelente de herbívoros, inativando as enzimas digestivas e criando um complexo agregado de taninos e proteínas vegetais de difícil digestão. Nos humanos, os taninos causam uma sensação de adstringência na boca como resultado da ligação dos taninos com as proteínas da saliva.²²

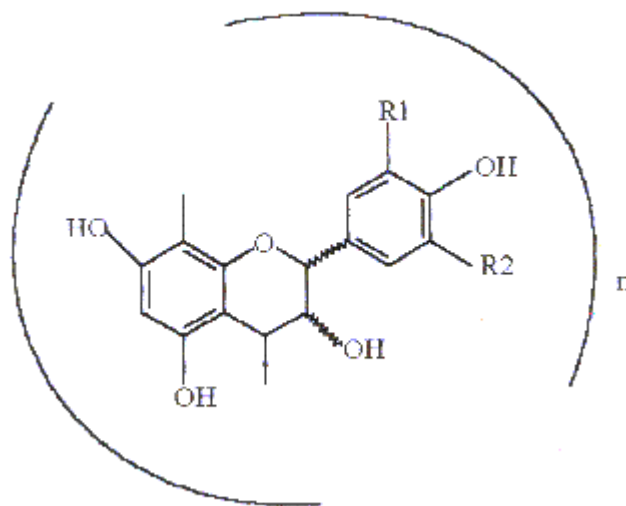


Figura 3 – Estrutura básica de proantocianidinas: quando R1 e R2 = H, propelargonidinas; R1 = H e R2 = OH, proantocianidinas; R1 e R2 = OH, prodelfinidinas.

Os estilbenos derivam do metabolismo de fenilpropanóides, tendo no isômero *trans* do resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno) visto na figura 4, um composto de importância ecológica e farmacológica significativa.

O *trans*-resveratrol já foi encontrado em 72 espécies vegetais e, no caso das variedades viníferas, a síntese deste composto ocorre na casca da fruta tendo a função de proteger a planta contra o ataque de patógenos, ocorrendo em fator de concentração de 0,2 a 32 mg/L.^{32,33} Sua presença em vinhos confere um importante efeito antioxidante àquela bebida.

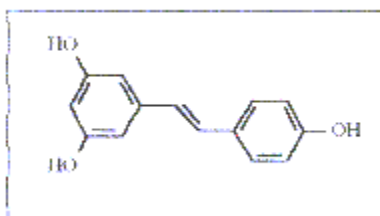


Figura 4 – Estrutura da molécula *trans*-resveratrol (3, 5, 4' – trihidroxi- *trans*- estilbeno)

1.5 O vinho e a saúde

Registros históricos mostram que o uso medicinal do vinho pelo homem tem sido uma prática que data de mais de 2.000 anos. Importantes civilizações do mundo ocidental como os egípcios, os gregos e os romanos e do mundo oriental, como os hindus, se utilizaram do vinho como um remédio para o corpo e para a alma. Médicos eminentes da antiguidade como Hipócrates, Galeno e Celsius exaltaram as propriedades medicinais do vinho e adiantaram uma interpretação razoavelmente correta dos seus mecanismos de ação.³⁴

“ O vinho é uma coisa maravilhosamente apropriada ao homem, tanto na saúde como na doença, se bebido com moderação e na medida exata, conforme a constituição de cada indivíduo.”

Hipócrates [460 – 367 a . C]

1.5.1 O vinho e os compostos fenólicos

Os polifenóis são responsáveis pela proteção das plantas, principalmente de ataques biológicos (bactérias, vírus e fungos) e dos raios ultravioletas. Assim, é importante salientar que estes mesmos polifenóis são os maiores responsáveis pelos efeitos benéficos do vinho à saúde humana.³⁵

Os polifenóis existentes em grandes quantidades na uva e no vinho possuem ações antisséptica, antivirótica e protetora dos vasos sanguíneos, podendo prevenir as doenças vasculares e retardar o envelhecimento. Dentre os polifenóis, a citrina (complexo de flavonas) tem ação preventiva em certas síndromes hemorrágicas e as catequinas (vitamina C2 ou P) aumentam a resistência capilar. Estudos demonstraram que os compostos fenólicos do vinho, em especial do vinho tinto, inibem as reações de oxidação das LDL, que resultam em fenômenos tissulares responsáveis pela aterogênese e trombogênese. A ação antioxidante protetora dos compostos fenólicos poderia explicar o "paradoxo francês", não justificado apenas pela ação do álcool. De fato, estudos da Organização Mundial de Saúde evidenciaram que a incidência de DCI (Doença Cardíaca Isquêmica) é menor na França do que em outros países industrializados, apesar de naquele país os fatores de risco (consumo de gordura saturada, nível de colesterol sérico, pressão arterial, índice de massa corporal, tabagismo e sedentarismo) não serem menores.³⁴

Os polifenóis podem agir como antioxidantes ativos, doando hidrogênio aos radicais livres, e como preventivos, impedindo a peroxidação de lípidios e inibindo enzimas oxidativas (fosfolipase A2 , ciclooxigenase e a lipoxigenase). Além disso, podem atuar

como protetores e regeneradores dos antioxidantes primários do organismo como o ácido ascórbico (vitamina C), o tocoferol (vitamina E) e o β -caroteno (vitamina A).

As antocianinas livres apresentam-se como a fração mais potente dos polifenóis encontrados nos vinhos no que se refere à sua capacidade de combater os radicais livres seguindo o mecanismo descrito na figura 5.³⁶

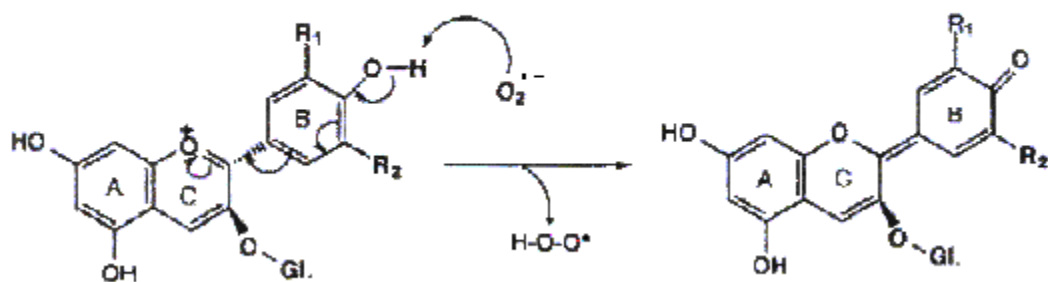


Figura 5 – Esquema do mecanismo de oxidação das antocianinas presentes em vinhos tintos, o símbolo Gl. refere-se a glicose.³⁷

O *t*-resveratrol (3, 5, 4' - trihidroxi- *trans*- estilbeno) é um potente agente antiinflamatório e anticancerígeno, permitindo ao organismo bloquear a produção de certas substâncias químicas, conhecidas como prostaglandinas que têm sido relacionadas à transformação de lesões pré cancerosas em lesões malignas. Tem propriedades fungicidas e dissipa as plaquetas que provocam coágulos e obstruem as artérias.¹⁰

Além dos efeitos relatados, o consumo moderado de vinho pode atuar benéficamente no organismo através de ações como a melhoria da qualidade de vida dos idosos, a ação relaxante com alteração do humor e alívio do estresse, além do prazer sensorial e do seu alto valor nutritivo.³⁴

1.6 O vinho e a economia

A produção de uvas e vinhos no Brasil está localizada nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, sendo uma atividade consolidada e com significativa importância sócio-econômica. Aproximadamente 50% da produção nacional de uva é destinada à elaboração de vinhos, sucos e outros derivados. Neste contexto, os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina respondem por 90% (ca. 300 milhões de litros) e 5% (ca. 15 milhões de litros) da produção nacional de vinho, respectivamente, destacando-se como os maiores produtores.³⁸

O Estado de Santa Catarina apresentou uma produção de 42.864 toneladas de uva na safra de 2001, representando 4.25% da produção nacional de uvas.³⁹ Com relação ao desempenho da vitivinicultura catarinense, cabe assinalar que na safra 2001, para uma área colhida de 3.479 ha, a produção obtida foi de 43.379 toneladas, alcançando um rendimento de 12.468kg/ha.⁴⁰

A maior concentração desta cultura no Estado está localizada na região colonial do Alto Rio do Peixe, sendo esta região responsável por 90% da produção estadual,⁴ com destaque para os municípios de Videira (27,73%), Pinheiro Preto (14,32%) e Tangará (12,60%).⁴¹

Os vinhos comuns, ou de consumo corrente, representam historicamente, em torno de oitenta por cento (80%) da produção nacional, sendo que, a partir de 1998, esta percentagem subiu de 81,6% em 1998, para 83,2% em 1999, caiu para 82,9% em 2000, tendo atingido em 2001, um percentual recorde numa série histórica de 16 anos, de 87% do total de vinhos produzidos, ficando os vinhos finos com apenas 13% da produção nacional. Os vinhos comuns possuem longa tradição no mercado e, em função do seu preço, atingem uma faixa bastante larga de consumidores em zonas de produção e em outras regiões do Brasil.

Os vinhos comuns são produzidos a partir de uvas como a Isabel, que é responsável por 52% da produção de uvas no Brasil, Niágara (branca e rosa), Bordô (chamada de Folha de Figo no sul de Minas Gerais, representando mais de 50% da produção daquele Estado), Herbemont, Concord e outras.⁴²

A legislação não permite a entrada no País de vinhos com estas características varietais, até porque, nos tradicionais países produtores de vinhos, não se elaboram vinhos com uvas americanas ou híbridas. Assim, todo vinho importado é produzido com uvas viníferas cujas características e qualidades diferem dos vinhos elaborados com uvas americanas ou híbridas, principais constituintes dos vinhos comuns.

Pode-se afirmar que esta produção pode gerar vinhos de padrões de qualidade diferentes, pois as uvas com as quais são elaborados são diferentes, embora o padrão da qualidade dependa de outros aspectos que são ou deveriam ser os mesmos para os vinhos finos. Por exemplo a sanidade da uva, o teor de açúcar da mesma, a qualidade dos processos utilizados na elaboração, a conservação do vinho na cantina e a conservação do produto no ponto de venda.⁴²

Uma das características marcantes do setor vitivinicultor brasileiro é a sua diversidade e complexidade, havendo diversas vitiviniculturas no país, cada uma com a sua realidade climática, fundiária, tecnológica, humana e mercadológica. Entretanto para qualquer uma delas, o que se esboça neste início de século XXI é a competição acirrada nos mercados interno e externo, exigindo grande esforço de organização e política setorial.⁴³

1.7 Métodos de Análise Aplicados aos Vinhos

Nas últimas décadas, a identificação e a quantificação de antocianinas, polifenóis e taninos em produtos derivados da uva têm sido feita por diversas técnicas cromatográficas, com destaque para a cromatografia em camada delgada,^{44,45} cromatografia de alta performance - CLAE e a cromatografia gasosa – CG⁴⁶ acopladas ou não à espectrometria de massa (EM). Além da EM, outros sistemas de detecção tais como a espectrofotometria UV-Vis, a fluorimetria e a detecção eletroquímica vêm sendo utilizados como limites de detecção característicos da ordem de µg/L.³²

Numa estratégia de análise distinta, a separação dos isômeros *cis* e *trans* do resveratrol em amostras de vinho foi realizada através da CLAE e a identificação inequívoca destes por ¹H- Ressonância Magnética Nuclear (¹H – RMN). Os resultados

demonstraram que a forma *cis* do resveratrol e alguns de seus derivados glicosilados foram predominantes no início do processo de fermentação do mosto, enquanto ao final deste processo o isômero *trans* ocorreu em maior concentração.⁴⁷

Ao longo da última década, uma série de estudos vêm sendo conduzidos utilizando-se a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), por exemplo, em biomedicina (metabolismo de drogas, processos toxicológicos e doenças metabólicas) e na identificação de produtos naturais (lactose, glicose, cafeína, *t*-resveratrol entre outros) com rendimentos mínimos de qualidade de amostra – da ordem de μL ou ηL .^{48,49}

Além disto, o tempo necessário para a obtenção de um espectro de ^1H – RMN de uma amostra é bastante reduzido (da ordem de segundos), de modo que estas características, tomadas em conjunto, evidenciam o alto potencial do uso desta técnica em estudos com material de natureza biológica.⁵⁰

A importância da espectroscopia de RMN de alta resolução em estudos de amostras líquidas e sólidas, nas diversas áreas de investigação, tem crescido continuamente devido ao rápido desenvolvimento instrumental e de programas de gerenciamento (*softwares*) nos últimos anos.

1.8 Justificativa do trabalho

Os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul respondem por cerca de 95% da produção nacional de vinhos do país, em função disto, observa-se a grande importância sócio-econômica desta atividade nestes estados. Além disto, um consumo crescente de vinhos tem sido observado.³⁸ Tal fato sugere uma forte expansão deste mercado, o qual deverá oferecer produtos de qualidade superior. De modo a tornar viável este último aspecto, análises qualitativas e quantitativas dos constituintes de produtos derivados da uva, em especial o vinho, surgem como uma abordagem de interesse, principalmente quando se enfoca a avaliação de compostos de reconhecidos efeitos benéficos a saúde humana. Como consequência, poder-se-á criar um conceito de produto em nível de mercado, com qualidade e características diferenciadas.

No mercado mundial são muitas as perspectivas do uso medicinal do vinho, este fato é decorrente do grande e crescente número de pesquisas científicas feitas sobre vinho e saúde nos últimos 12 anos, conforme justificado pela figura 6.³⁵ Assim, a identificação e a análise quantitativa dos polifenóis, das antocianinas e dos compostos tânicos, em derivados da uva, isto é, nos vinhos produzidos em Santa Catarina é de interesse, notadamente pelas condições climáticas que predispõem à sua síntese, bem como por seus efeitos benéficos à saúde humana.

Este trabalho, em função do exposto, vem de encontro às necessidades industriais de obter vinho com maior qualidade e com a tendência mundial de agregar o vinho a saúde humana.

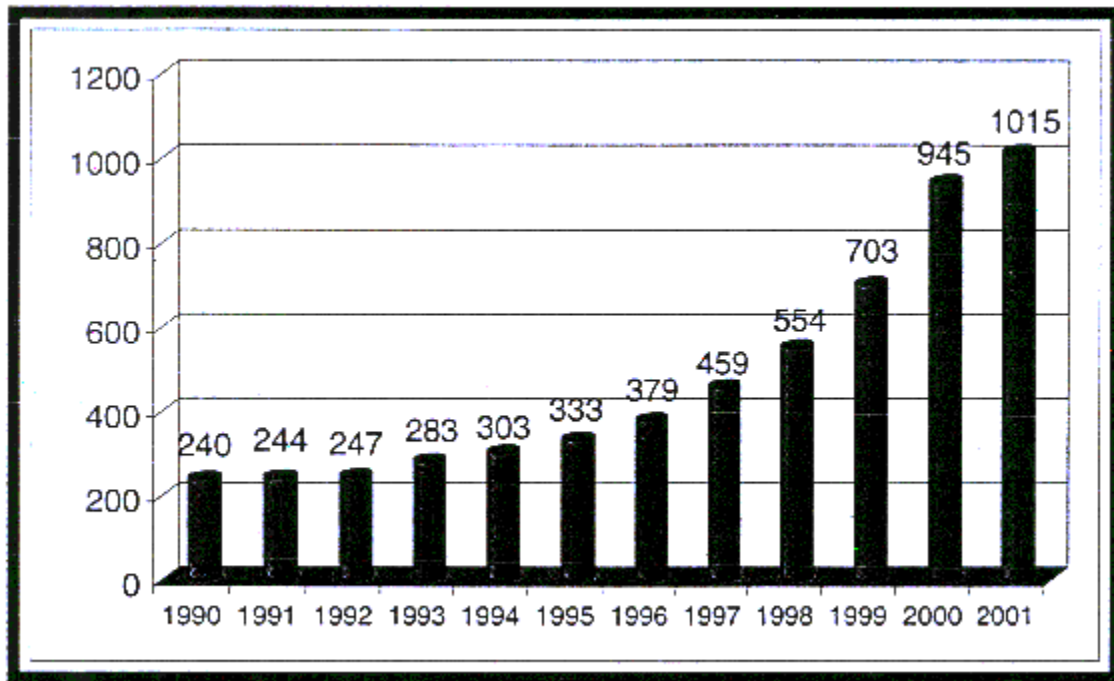


Figura 6 – Número de trabalhos científicos publicados sobre vinho e saúde nos últimos 12 anos. ³⁵

1.9 Objetivos

1.9.1 Objetivo Geral

Avaliação da composição química de mosto e vinho da variedade Bordô, oriundas do Vale do Rio do Peixe – SC, notadamente no que se refere aos conteúdos de polifenóis, antocianinas e taninos.

1.9.2 Objetivos Específicos

- Determinação do conteúdo de antocianinas, polifenóis e taninos em amostras de mosto e vinho da variedade americana Bordô produzidos em Santa Catarina.
 - Avaliação comparativa dos teores de metabólitos secundários de interesse para a variedade em estudo.
 - Análise qualitativa e quantitativa do polifenól *trans*-resveratrol, via cromatografia líquida de alta eficiência nas amostras de vinho e mosto.
 - Análise qualitativa dos polifenóis através da espectroscopia de ^1H – RMN nas amostra de vinho em estudo.
-

CAPÍTULO II - Parte experimental

2 Parte experimental

2.1 Materiais

2.1.1 Reagentes

As amostras de vinho da variedade Bordô, safras 2001 e 2002 e as três amostras de mosto referentes ao período de fermentação da variedade Bordô (safra 2003) utilizados para o presente trabalho foram cedidas pela Vinícola Monte Carvalho, com sede no município de Tangará, Vale do Rio do Peixe-SC .

Os reagentes acetato de etila, hexano, clorofórmio, metanol e o ácido clorídrico foram de grau p.a e da marca Nuclear.

Para a obtenção das amostras via cromatografia rápida sob vácuo (flash-cromatografia) utilizamos sílica gel (0,2 a 0,5 mm) da marca VETEC – Química Fina.

O reagente Folin- Ciocalteau (Dinâmica), a gelatina e o cloreto de sódio da marca VETEC – Química Fina, o carbonato de sódio da marca Nuclear e o caolin da marca João Di Bernardi (Farmácia de manipulação) foram utilizados para a quantificação de fenóis e taninos nas amostras.

A coluna utilizada para a quantificação e qualificação dos polifenóis nas amostras através da cromatografia líquida de alta eficiência foi de C₁₈ termostaticada (40°C), tendo como fase móvel H₂O:AcOH:nBuOH (350:1:10 – 0,8 ml/min).

Para as análises qualitativas dos polifénóis via espectroscopia de ¹H – RMN as amostras de vinho em estudo foram suspensas em acetona - δ₆ da marca Cambridge Isotope.

2.1.2 Equipamentos

As determinações das absorvâncias de interesse para as amostras em estudo no que se refere a análises de antocianinas, polifenóis e taninos foram realizadas em Espectrofotômetro Shimadzu UV 1203.

Para a quantificação e qualificação dos polifenóis foi utilizado um Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu LC-10.

Os espectros de ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio foram obtidos em equipamento Bruker AC 200 – 4,8 Tesla.

A análise do teor de açúcar nas amostras de mosto foi feita com o auxílio de um refratômetro de bancada modelo Analytikjena.

Para a medida do pH nas amostras de mosto utilizamos um pHmetro de bancada HANNA.

2.2 Métodos

2.2.1 Extração, isolamento e purificação dos compostos fenólicos e antociânicos

A 300 mL de cada amostra de vinho foi adicionado igual volume de acetato de etila (EtOAc), em frações iguais de 100 mL ao dia, com período de incubação de 24 horas, no escuro. A fase orgânica foi coletada em funil de separação e o EtOAc referente à soma das três extrações(300 mL) foi removido sob vácuo (55-60°C). O resíduo foi dissolvido em metanol-clorofórmio 1:1 (10 mL), e flash-cromatografado em suporte e sílica gel (20 mL).^{51,52}

As frações (60 ml) eluídas com EtOAc e metanol acidificado [MeOH – HCl 1%] foram coletadas (3 mL) para análise dos compostos de interesse, respectivamente polifenóis e antocianinas.

Para cada 30 ml de amostras de mosto referentes ao 1º, 3º e 5º dia do processo de fermentação, foi adicionado igual volume de EtOAc (30 mL), incubando-se a mistura por 24 horas no escuro. A fase orgânica foi coletada em funil de separação e o EtOAc removido por evaporação sob vácuo (55-60°C). O resíduo foi dissolvido em metanol clorofórmio 1:1 (1 mL), e flash-cromatografado em suporte de sílica gel (2 mL). As frações (6 mL) eluídas com EtOAc e metanol acidificado [MeOH – HCl 1%] foram coletados (3 mL) para análise dos compostos de interesse, respectivamente polifenóis e antocianinas.

2.2.2 Análise quantitativa dos compostos antociânicos

As frações MeOH – HCl (1%) de cada amostra, purificadas por meio de flash-cromatografia (ver item 2.2.1), foram submetidas à análise quantitativa de compostos antociânicos. O conteúdo de antocianinas foi determinado a partir da leitura da absorbância das soluções amostrais a 460, 525 e 750 nm em espectrofotômetro UV-Vis.⁵³

A concentração de antocianinas foi calculada usando o coeficiente de extinção molar (ϵ) de 3.01×10^4 .⁵⁴

2.2.3 Dosagem de compostos fenólicos totais

A determinação do conteúdo de fenóis totais nas amostras em estudo foi realizada utilizando-se o reativo de Folin-Ciocalteu.⁵⁵ A saber, a 1 mL de amostra em estudo adicionou-se 5 mL de etanol a 95%, a 1 mL desta solução adicionou-se mais 1 mL de etanol a 95%, 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu. A solução foi homogeneizada e permaneceu em repouso durante 5 minutos. Após este período, adicionou-se 1 mL de carbonato de sódio a 5%, seguida de nova agitação e repouso por 60 minutos. A absorbância da solução final foi lida em espectrofotômetro UV-Visível, no comprimento de onda de 752 nm.

A curva de calibração foi preparada utilizando-se concentrações de ácido gálico, um polifenol de ocorrência natural, entre 0 e 100 µg/0,1 mL. Devido à heterogeneidade estrutural dos compostos fenólicos, os resultados foram expressos em gramas de equivalentes de ácido gálico.⁵⁶

2.2.4 Análise quantitativa de taninos

O processo de extração e quantificação de taninos em mostos e vinhos baseou-se em suas propriedades de precipitação de proteínas como no caso da gelatina. Como substância padrão para a obtenção da curva padrão utilizou-se o ácido tânico em concentrações de 4 a 16 mg/L. A metodologia aplicada apresenta duas etapas, sendo a primeira a quantificação dos compostos fenólicos totais e a segunda etapa a de quantificação dos compostos fenólicos residuais depois do seqüestro dos taninos pela gelatina, conforme descrito a seguir.⁵⁷

Primeira etapa: Mediu-se 4 mL de amostra e transferiu-se a um recipiente aforado de 250mL com tampa; adicionou-se água destilada até a medida de 250 mL. Desta solução retirou-se uma alíquota de 5 mL, transferindo-a para um recipiente aforado de 25 mL, onde foi adicionado 4 mL de água destilada. O branco desta etapa constitui-se de 5 mL de água destilada em um recipiente de 25 mL.

- Segunda etapa: 20 mL de amostra foram coletados e transferidos para um recipiente aforado de 250 mL com tampa, seguido da adição de 80 mL de água destilada, 50 mL de solução de gelatina a 25%, 100 mL de solução saturada de cloreto de sódio acidificado (1%) e 10 gramas de caolin. O meio de reação permaneceu em agitação por 30 minutos e em repouso por, no mínimo, 5 minutos, sendo subseqüentemente filtrado em funil de vidro sinterizado. Alíquotas de 10 mL das amostras filtradas foram coletadas e transferidas para um recipiente de 50 mL, completando-se com água destilada. Após a diluição, 5 mL foram transferidos para um recipiente de 25 mL; adicionando-se 4 mL de água destilada. O branco desta etapa consistiu de solução contendo 100 mL de água destilada, 50 mL de solução de gelatina a 25%, 100 mL de solução saturada de cloreto de sódio acidificado (1%) e 10 g de caolin.

A cada recipiente aforado de 25 mL, com as respectivas amostras da primeira e da segunda etapa, brancos e padrões, adicionaram-se 2 mL do reativo de Folin-Ciocalteu, agitou-se e deixou-se repousar por 5 minutos. Logo após, adicionou-se 1 mL de carbonato de sódio a 20%, agitou-se novamente, completou-se com água destilada, homogenizou-se e filtrou-se. Após transcorridos 2 minutos, a absorbância destas soluções foi lida a 700 nm.

2.2.5 Espectrometria de ressonância magnética nuclear de ^1H

Para efeitos de comprovação da ocorrência dos compostos de interesse (*trans*-resveratrol, quercitina, ácidos ferúlico, málico e gálico), nas frações em estudo, alíquotas de 3 mL dos extratos EtOAc das amostras de vinho (item 2.2.1) foram concentradas sob fluxo de nitrogênio para a remoção do solvente orgânico. As amostras foram ressuspensas em 750 μL de acetona- δ_6 e os espectros de ^1H -RMN foram obtidos operando em frequência de ressonância de 200 MHz, tempo de relaxação de 3 segundos, pulso de radiação de 45° , 16 varreduras, tempo de aquisição de 0,6 segundos e temperatura de 25°C .⁵⁸

2.2.6 Análise do teor de açúcares nas amostras de mosto

A determinação do teor de açúcares presentes em cada amostra de mosto em estudo foi realizada com o auxílio de um refratômetro de bancada, onde a temperatura durante as medidas do grau Brix foi mantida constante em 20°C .

2.2.7 Cromatografia líquida de alta performance – CLAE

Para a qualificação e quantificação dos composto de interesse, o polifenol *trans*-resveratrol nas frações em estudo, alíquotas de 57 ml para as amostras de vinho e 3 ml para as amostras de mosto dos extratos EtOAc das amostras flash-cromatografadas (item 2.2.1) foram concentradas sob fluxo de nitrogênio para a remoção do solvente orgânico até o

volume de 1 mL. A curva padrão foi preparada plotando-se concentrações de ácido gálico, um polifenol de ocorrência natural, entre 0 e 100 µg/0,1 mL com as respectivas áreas encontradas no cromatograma correspondente.

2.2.8 Medida do pH nas amostras de mosto

A medida da concentração de íons H^+ em cada amostra de mosto em estudo foi realizada com o auxílio de um pHmetro de bancada sendo que para esta análise as amostras de mosto foram mantidas puras, isto é, sem qualquer tipo de diluição.

3 Resultados e Discussão

3.1 Antocianinas

A evolução da cor durante a vinificação e o envelhecimento do vinho têm sido atribuído às progressivas mudanças da natureza quali/quantitativa dos compostos fenólicos extraídos da uva. Neste contexto, as antocianinas extraídas dos tecidos das uvas parecem ser os principais compostos determinantes da cor vermelha-púrpura dos vinhos jovens e estão progressivamente envolvidos em mecanismos que levam à formação de moléculas de pigmentos mais estáveis. Estas alterações da natureza química-estrutural das antocianinas contribuem para a alteração da coloração dos vinhos com maior tempo de envelhecimento, os quais apresentam uma cor vermelha intensa típica.¹³

O conteúdo de compostos antociânicos encontrados durante o processo de vinificação, referente aos 1º, 3º e 5º dia de fermentação, apresentou um comportamento crescente conforme mostra a figura 7.

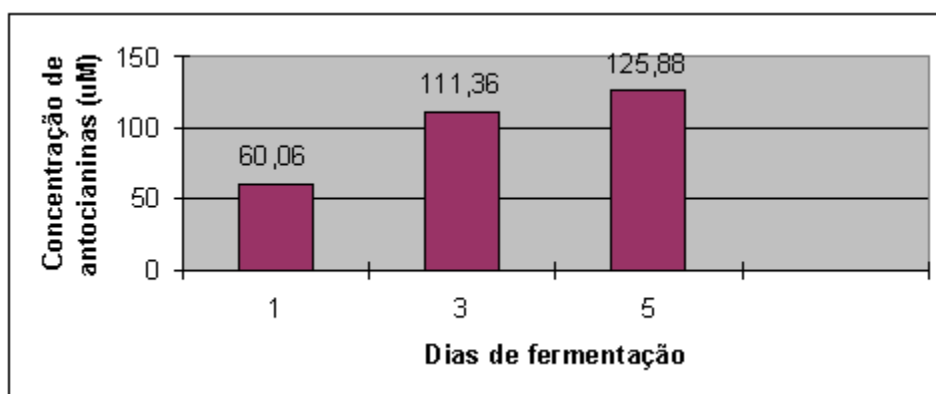


Figura 7 – Concentração total de antocianinas (µM – fração metanol- HCl 1% *flash*-cromatografada) em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô safra 2003, cultivada no Vale do Rio do Peixe-SC.

Em momentos pós-colheita e durante a fase de vinificação, um dos fatores determinantes da alteração do conteúdo destes pigmentos é a duração do período fermentativo. Durante os primeiros momentos da maceração e fermentação do mosto, a intensidade da cor daquela biomassa aumenta devido à extração/dissolução das antocianinas.

No processo tradicional de vinificação, se procede a extração da matéria corante através do contato da matéria macerada com um meio ácido e alcoólico formado durante a fermentação.

Os dados mostrados na figura 7, indicam que entre o 1º e o 3º dia de fermentação ocorreu o mais expressivo aumento na concentração de antocianinas, este fato não pode ser relacionado diretamente com a produção de álcool proveniente do processo fermentativo, pois o teor de açúcar para este período não apresentou variação significativa (Figura 8). Assim, o aumento na concentração dos compostos antociânicos para os primeiros dias da fermentação é função da maceração da uva, principalmente das cascas, proporcionando um aumento da superfície de extração dos tecidos.

O aumento da concentração em menor intensidade observada entre o 3º e o 5º dia de fermentação é decorrente do aumento do teor alcoólico do meio, uma vez que o álcool é um excelente solvente para as antocianinas, facilitando a dissolução da matéria corante através da formação de ligações de hidrogênio entre as hidroxilas dos álcoois presentes no meio e as hidroxilas das antocianinas. O aumento do teor alcoólico entre o 3º e 5º dias de fermentação pode ser comprovado através da expressiva diminuição do teor de açúcares para este mesmo período no processo estudado.

Mesmo não sendo objeto de estudo para o presente trabalho, através da análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio evidenciamos de modo não quantitativo a presença de açúcares nas amostras de mosto em estudo.

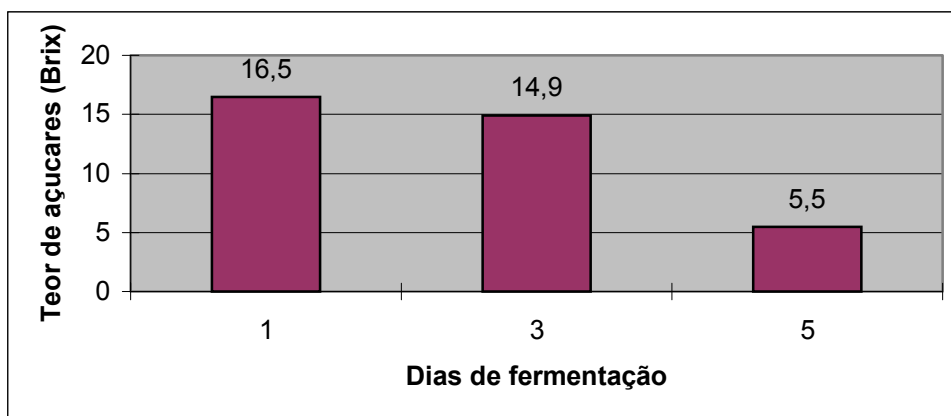


Figura 8 – Teor de açúcares (°Brix) em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô, safra 2003, cultivada no Vale do rio do Peixe-SC.

O pH do mosto também é de significativa importância, uma vez que as antocianinas variam de cor conforme o pH do meio a que estão submetidas (Figura 9). Sabe-se que em meio ácido estes compostos apresentam a coloração avermelhada apropriada aos vinhos tintos jovens e para o processo em estudo.

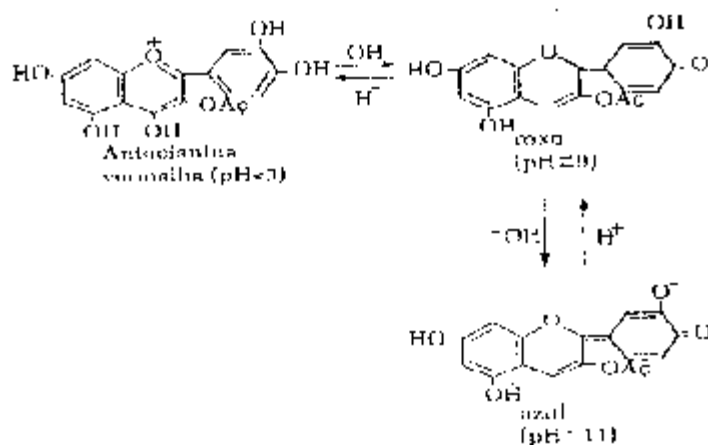


Figura 9 – Transformações das antocianinas por alteração do pH do meio.

As amostras de mosto apresentaram valores de pH ao longo do processo fermentativo no que se refere ao 1º, 3º e 5º dias adequados para a estabilidade das antocianinas (Figura 10), com média de 2,89.

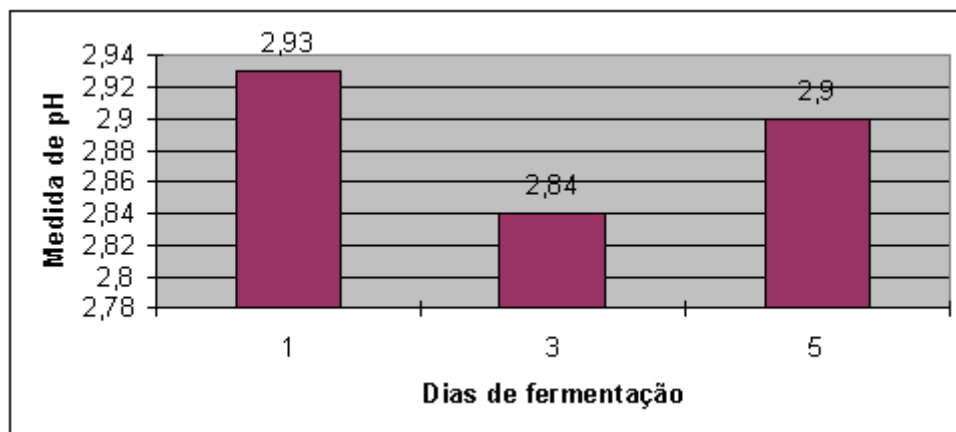


Figura 10 – Valores do pH em amostras de mosto coletadas no 1º, 3º e 5º dias do processo de vinificação da uva Bordô, safra 2003, cultivada no Vale do rio do Peixe-SC.

Para as amostras de vinhos Bordô referentes às safras 2001 e 2002, o conteúdo de compostos antociânicos não apresentou grande variação, conforme mostra a figura 11.

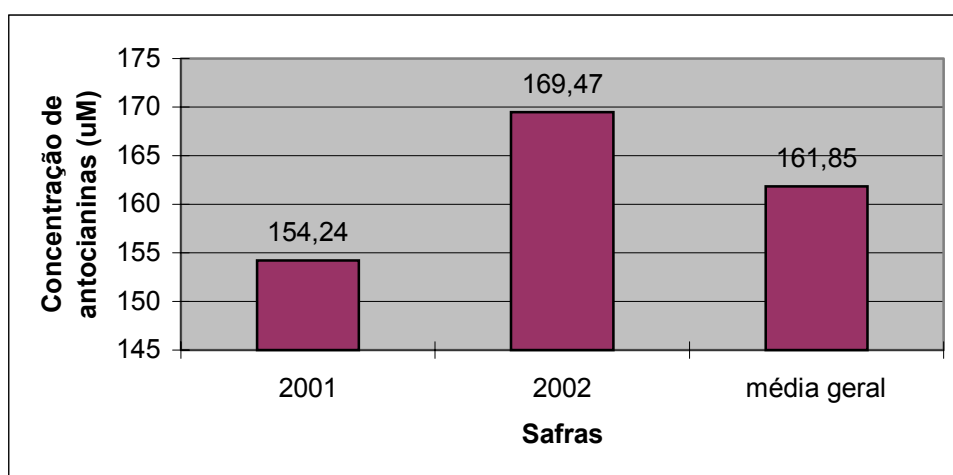


Figura 11 – Concentração total de antocianinas (µM – fração metanol-HCl 1% flash-cromatografada) em amostras de 2 safras de vinhos Bordô produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.

A diferença na concentração de antocianinas nas safras em estudo pode estar relacionada às condições fitoclimáticas observadas no local de cultivo das uvas, notadamente durante as fases de crescimento e maturação dos frutos, ao manejo do vinhedo, às condições da vinificação e ao processo de envelhecimento do vinho, este último sendo o de principal interesse.

Durante o período de envelhecimento dos vinhos pode ocorrer a hidrólise do componente glicídico destas moléculas, transformando-as em antocianidinas (aglicona). Outro fenômeno que se pode considerar é a condensação das antocianinas com as flavonas (Figura 12) havendo a formação de polímeros e que por seus elevados pesos moleculares, adquirem propriedades coloidais insolúveis.

Em estudos recentes o conteúdo de antocianinas totais foi quantificado em vinhos produzidos na região da Serra Gaúcha- RS, a partir da variedade *Vitis vinífera* Cabernet Sauvignon (Figura 13), utilizando a mesma metodologia empregada no presente trabalho.⁶⁰

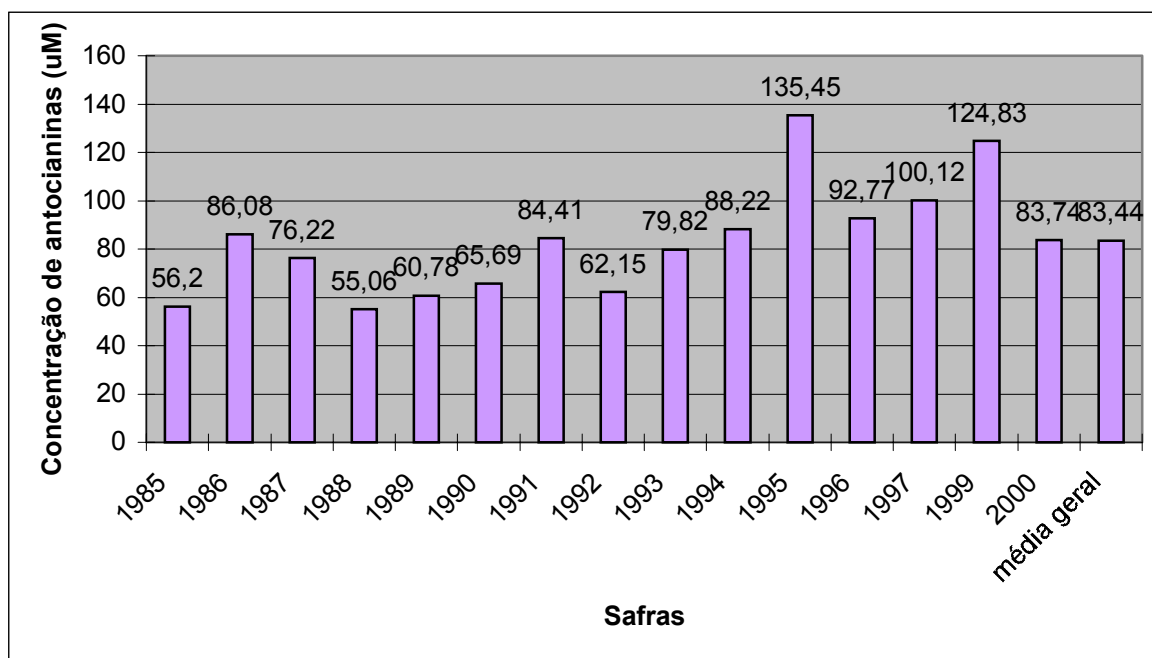


Figura 13 –Concentração total de antocianinas (µM– fração metanol-HCl 1% flash-cromatografada) em amostras de 15 safras de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na região da Serra Gaúcha- RS.⁶⁰

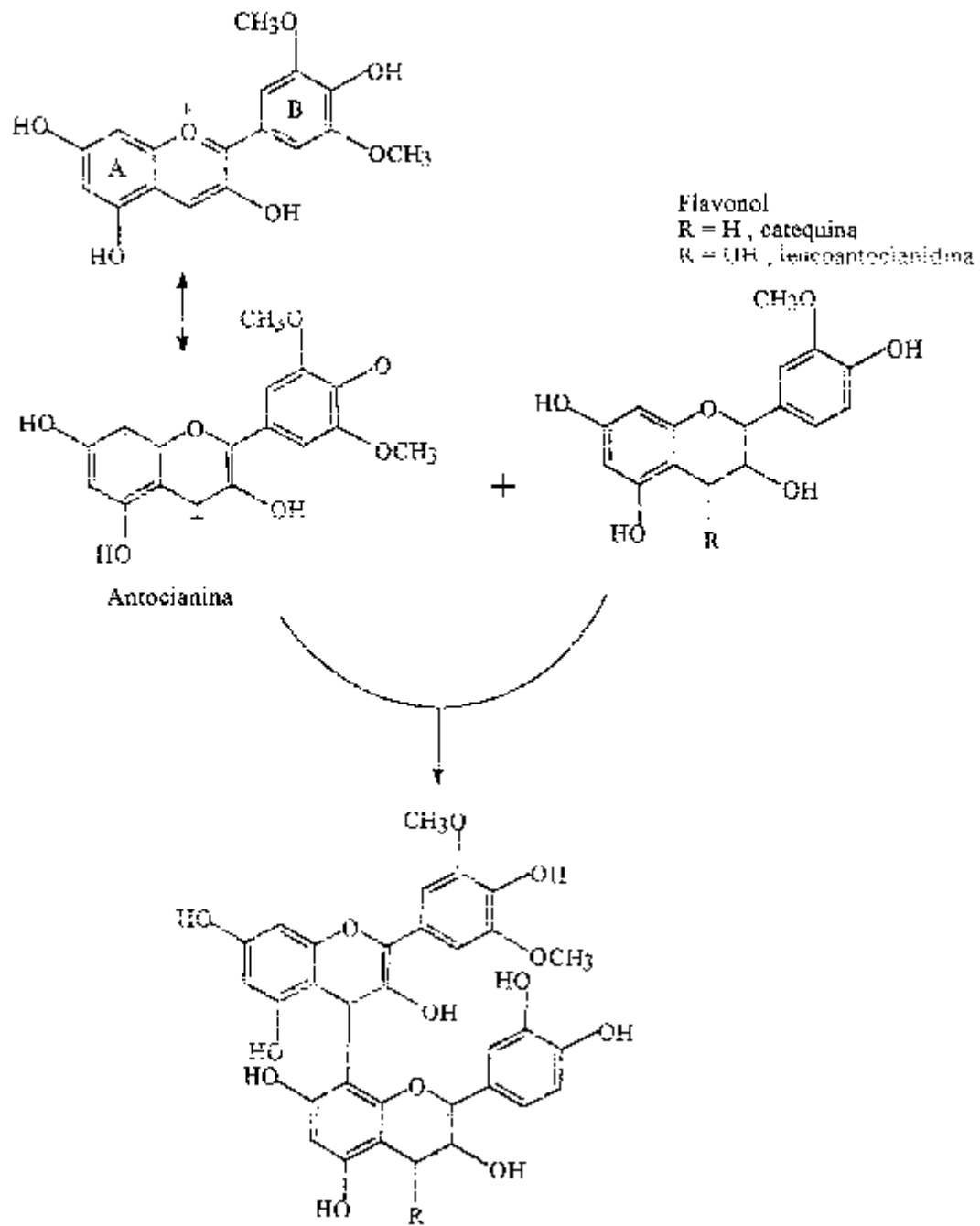


Figura 12 – Esquema que demonstra a condensação entre flavonóides e antocianinas.

Comparativamente ao teor médio de concentração dos pigmentos antociânicos, as amostras de vinho Bordô mostraram-se superiores em 1,94 ordens de magnitude em relação à variedade vinífera. De fato, usualmente as variedades labruscas tintas como a uva Bordô apresentam concentrações de antocianinas superiores às variedades viníferas (Cabernet Sauvignon), sendo por isso denominadas tintórias.

3.2 Fenóis Totais

No contexto tecnológico, o perfil de composição fenólica da uva constitui-se em fator determinante de características qualitativas de vinhos, podendo ser utilizado como um parâmetro de monitoramento de processo de produção, ou ainda em estudos de controle de qualidade daquela bebida. Esta abordagem é de interesse devido à significativa liberação de substâncias fenólicas das cascas e sementes durante o esmagamento da uva e ao longo do processo de fermentação do mosto para a produção de vinhos. Assim, depreende-se que o conteúdo total de compostos fenólicos em vinhos é influenciado de forma direta por fatores (a)bióticos, durante as fases de pré- e pós-colheita das uvas (clima, solo e manejo, por exemplo) e também pelas condições de vinificação, de envelhecimento e de armazenamento.⁶¹

A extração dos compostos fenólicos das partes sólidas e sua difusão no mosto, no curso da vinificação, variam principalmente em função do tempo. As remontagens favorecem as retiradas destes compostos, por promoverem um maior contato do bagaço com o mosto e com o etanol presente no meio fermentativo. Além disso, o contato mecânico entre o bagaço aumenta a ruptura das membranas celulares, fazendo com que haja a liberação do conteúdo intracelular e promovendo a extração dos compostos ali presentes.⁶²

Com base neste contexto, a análise do conteúdo total de fenóis nas amostras de mostro referentes ao processo de vinificação da uva Bordô safra 2003, foi bastante coerente com o exposto, como mostra a figura 14.

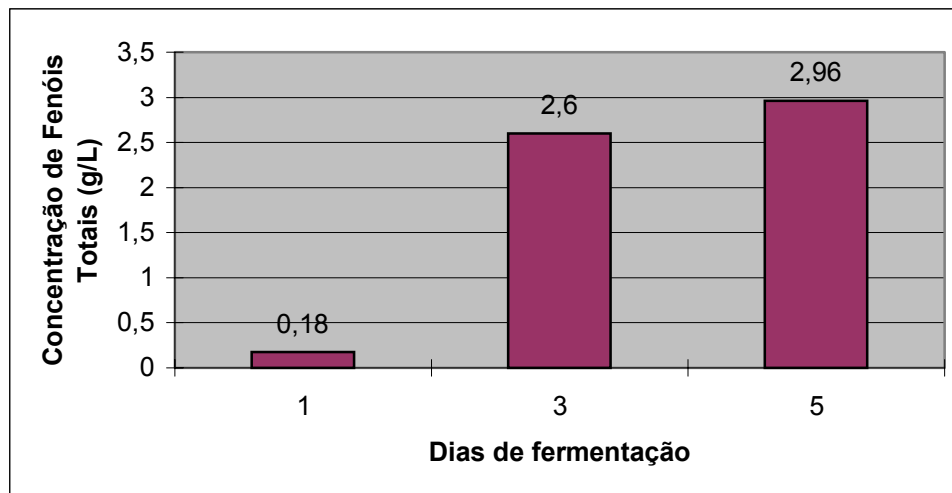


Figura 14 – Concentração de fenóis totais (g/L) em amostras de mostos referentes ao 1º, 3º e 5º dias de fermentação de uvas Bordô, produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.

Para as amostras de vinhos em estudo, a concentração de fenóis totais não sofreu grandes variações, como mostra a figura 15.

A análise dos dados de conteúdo destes compostos ao longo das 2 safras de vinhos Bordô demonstrou um valor médio de 1,95 g/L, valor abaixo do observado na literatura (3,5 a 4,0 g/L) para vinhos tintos de procedências e castas diversas.^{56,63} De modo geral, menores taxas de biossíntese/acúmulo destes compostos são correlacionadas com uma menor probabilidade de ocorrência de moléstias criptogâmicas, determinada por condições de baixa precipitação pluviométrica, baixa umidade relativa e altas temperaturas, como frequentemente observado ao longo do período de maturação das uvas na região do Vale do rio do Peixe.

Devido à grande variedade e complexidade de fatores que influenciam a concentração de compostos fenólicos na uva e nos vinhos, houve, conseqüentemente, uma clara dificuldade no estabelecimento dos parâmetros que mais efetivamente modulam os processos determinantes de variações do teor destes compostos para as amostras em estudo.

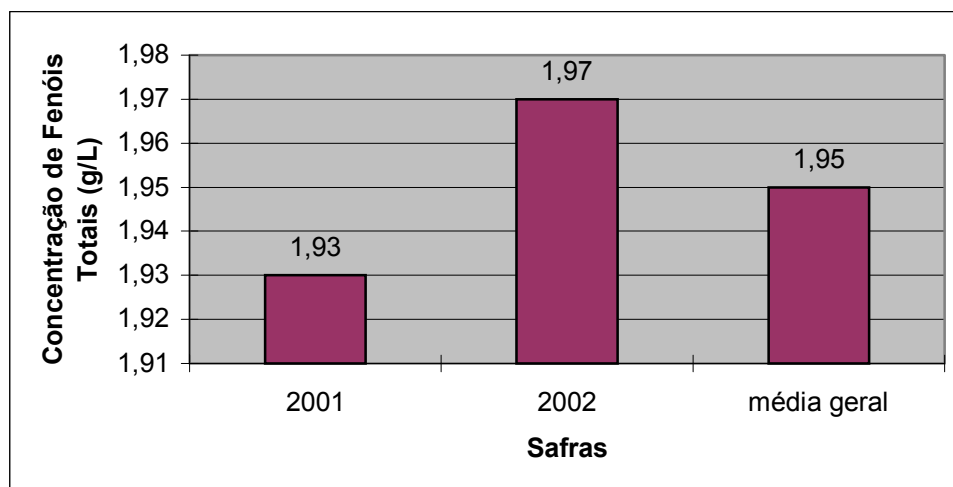


Figura 15- Concentração de Fenóis Totais (g/L) em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.

3.3 Taninos

Atualmente, encontra-se estabelecido que os compostos tânicos (proantocianidinas = taninos condensados) apresentam-se essencialmente nas partes ditas sólidas do cacho da uva, o engaço, as sementes e as películas. Por ordem crescente de concentração destes compostos nos tecidos tem-se os engaços, as sementes e as películas.
64,65,66

Sendo assim, os compostos tânicos, estarão presentes principalmente em vinhos onde houve a maceração dos elementos sólidos do fruto durante a vinificação.

De forma similar ao observado em relação ao teor de antocianinas e compostos fenólicos, a concentração de proantocianidinas para o processo fermentativo do mosto da

uva Bordô, referente a safra de 2003, apresentou comportamento crescente no que se refere ao 1º, 3º e 5º dia de fermentação, como demonstra a figura 16.

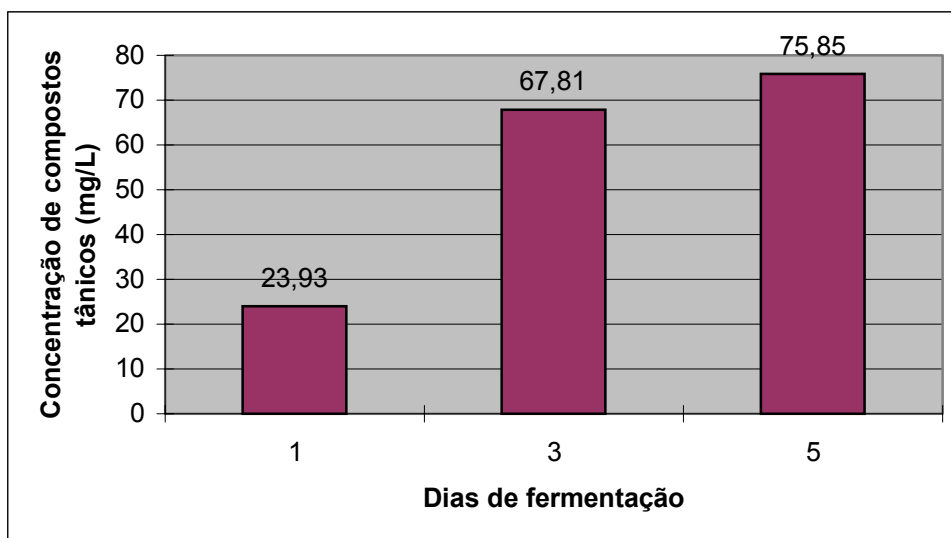


Figura 16 – Concentração total de compostos tânicos (proantocianidinas) em amostras de mosto referentes ao 1º, 3º e 5º dia de fermentação de uvas Bordô produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.

Os dados da figura 16 demonstram que o conteúdo de proantocianidinas extraído durante o processo de vinificação foi crescente e elevado, sugerindo que as matérias sólidas do cacho de uva foram maceradas excessivamente, disponibilizando os compostos tânicos ao meio. Este fato pode estar relacionado com o sistema de moagem adotado, onde o esmagador-desengaçador, pode estar triturando o engaço e as semente do fruto facilitando a dissolução dos taninos. Uma possível solução para este problema seria a troca do esmagador-desengaçador por uma prensa pneumática.

O sistema de remontagem adotado, onde o mosto é bombeado da parte inferior do recipiente fermentativo (fermentino) para a parte superior do mesmo é considerado bastante agressivo no que concerne à extração dos compostos tânicos da biomassa em fermentação.

Nas amostras de vinho em estudo, os teores de proantocianidinas foram igualmente altos, como mostra a figura 17. Tais concentrações podem ser interpretadas quando estudamos o processo de vinificação das referentes safras, os quais foram bastante similares ao processo exposto para as amostras de mosto referentes à safra de 2003.

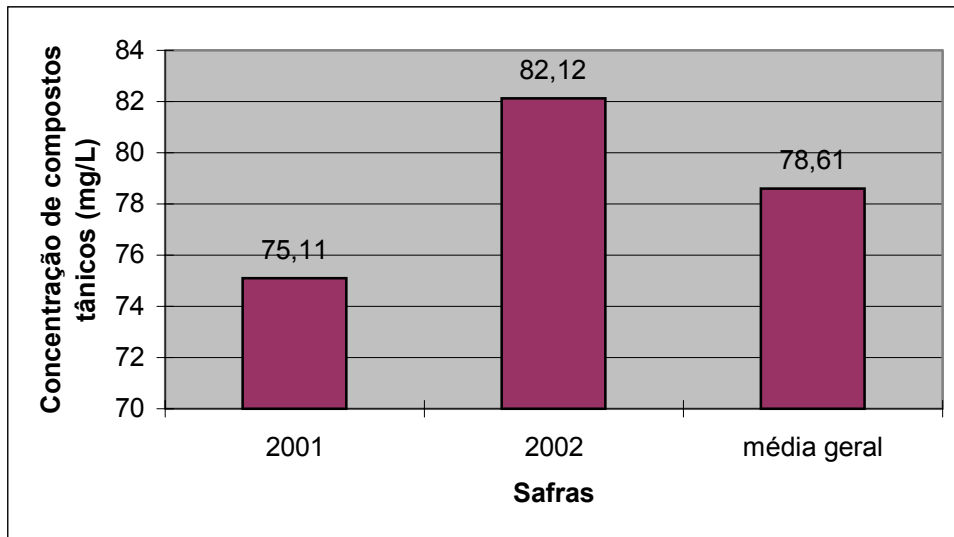


Figura 17 – Concentração total de compostos tânicos (proantocianidinas) em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.

Sabe-se que em vinhos mais jovens (safra 2002), os compostos tânicos são encontrados principalmente na forma de dímeros e trímeros, porém, durante o envelhecimento dos vinhos (safra 2001) as proantocianidinas e as antocianinas reagem formando polímeros.²¹ Estes polímeros caracterizam-se por sua maior complexidade em relação aos polímeros de taninos condensados encontrados nas partes sólidas dos frutos, sendo menos reativos com proteínas e também menos adstringentes.

Um vinho jovem, devido à natureza de seus compostos tânicos é, geralmente, no contexto sensorial, mais picante, adstringente e/ou áspero. Todavia, ao longo do processo de envelhecimento, a intensidade destas características é reduzida e os vinhos tornam-se mais apreciáveis ao paladar.⁶⁴

Estudos feitos com vinhos tintos da variedade *Vitis vinífera* Cabernet Sauvignon, produzidos na região da Serra Gaúcha, demonstraram um valor médio de concentração de compostos tânicos de 9,71 mg/L, como mostra a figura 18.⁶⁰

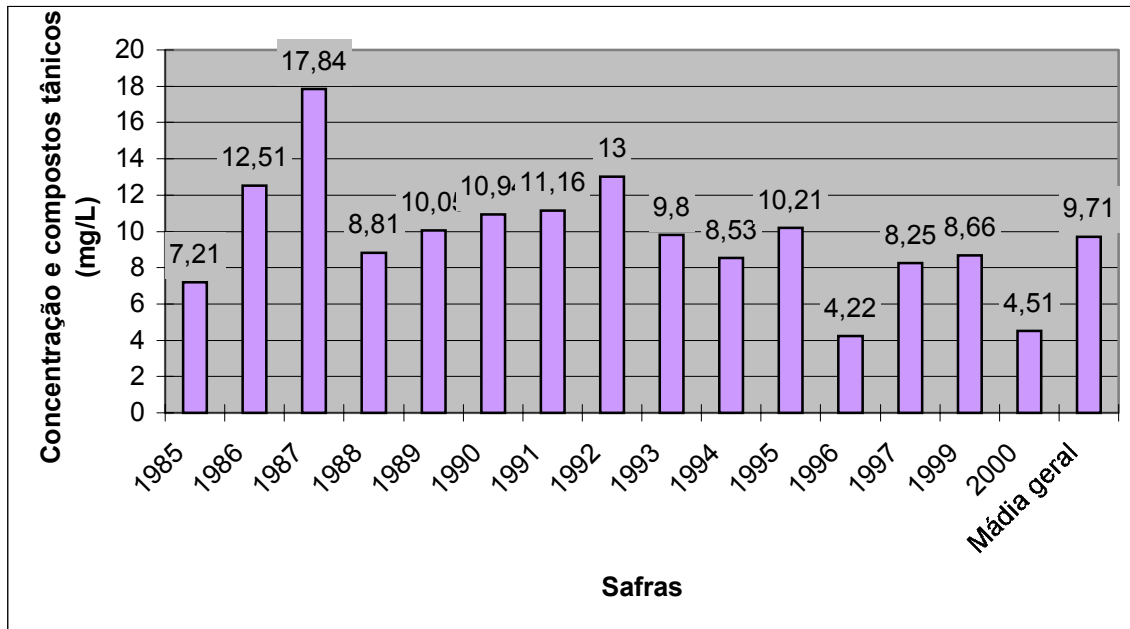


Figura 18 – Concentração total de compostos tânicos em amostras de 15 safras de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na Serra Gaúcha – RS.

Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos tânicos, as amostras de vinho Bordô mostraram-se superiores em 8,09 ordens de magnitude em relação à variedade *Vitis vinífera* Cabernet Sauvignon. Esta diferença pode ser atribuída, em alguma extensão, ao fato de que as regiões geográficas são diferentes, assim como a constituição do solo, o clima, as variedades, as práticas adotadas na viticultura e enologia, além dos processos pós fermentação.

3.4 Estilbenos

O composto resveratrol, citado neste trabalho como referência de compostos estilbênicos, encontra-se em vinhos em duas formas isoméricas *cis* e *trans*. Neste trabalho, enfocou-se somente a forma *trans*. Uma vez que os relatos de propriedades farmacológicas mencionam apenas este isômero como de interesse.^{65, 66}

No entanto, sabe-se que a forma *cis* do resveratrol é predominantemente encontrada no início do processo de fermentação do mosto, enquanto que ao final deste processo o isômero *trans* ocorre em maior concentração⁴⁷, com base neste conhecimento, a análise do conteúdo de *trans*-resveratrol no processo de vinificação em estudo mostrou-se coerente, conforme mostra a figura 19.

A formação do composto *trans*-resveratrol observado no decorrer do 1º, 3º e 5º dias de fermentação, pode ser função de uma série de fatores, principalmente devido a estresses ambientais causados por agentes abióticos como os metais pesados, a radiação UV e extremos de temperaturas ou luz, ou bióticos como infecções fungicas.

A extensa maceração das películas dos frutos (cascas) também é fator significativo para a efetiva extração dos estilbenos, no caso o *trans*-resveratrol para o meio líquido.

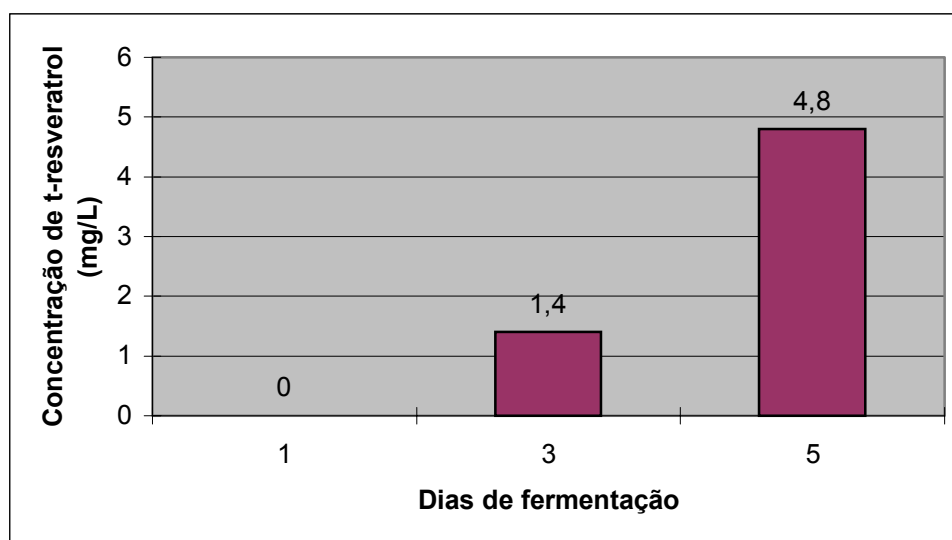


Figura 19 - Concentração do composto *trans*-resveratrol em amostras de mosto referentes ao 1º, 3º e 5º dia de fermentação de uvas Bordô produzidas no Vale do Rio do Peixe-SC.

O conteúdo do composto *trans*-resveratrol apresentou-se variável em relação as 2 safras de vinhos Bordô analisadas, como mostra a figura 20. Esta diferença entre as concentrações deste polifenol pode ser atribuído, em alguma extensão, aos efeitos dos fatores (a)biótico sobre o metabolismo secundário da planta que levam a

produção/degradação deste composto, bem como as possibilidades de variação das práticas de manejo da biomassa em pré- e pós colheita e as distintas abordagens de vinificação.

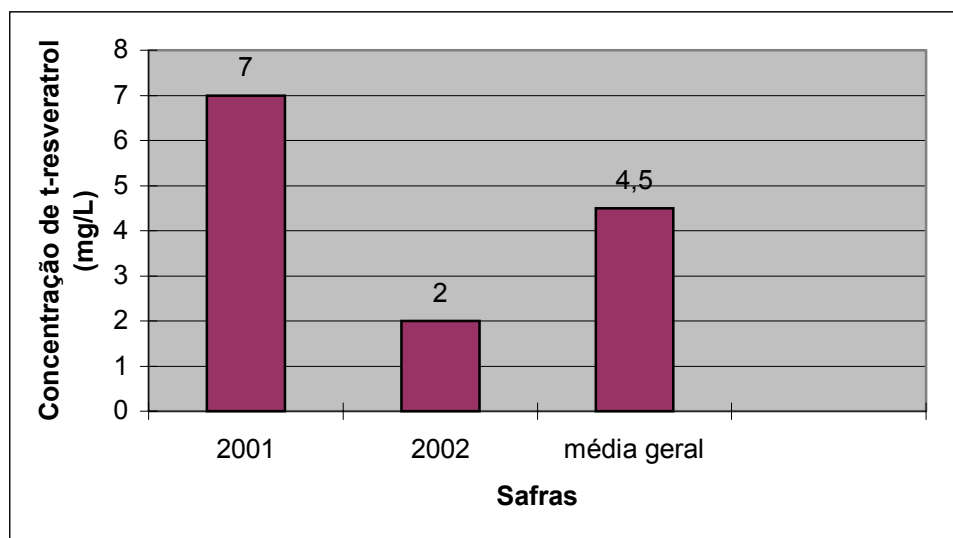


Figura 20 - Concentração do compostos *t*-resveratrol em amostras de vinhos Bordô, safras 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe-SC.

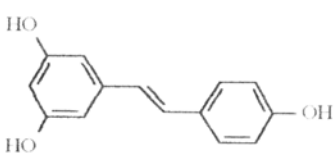
Do ponto de vista ecológico, o maior valor de *t*-resveratrol observado na amostra de vinho Bordô, safra 2001, comparativamente ao teor observado na amostra referente a safra 2002 desta mesma variedade, pode estar relacionado à condições climáticas, pois o período de maturação e colheita da uva no ano de 2001 foi caracterizado por altos índices de precipitação pluviométrica e altas temperaturas. A ação isolada e/ou interativa destes fatores climáticos é favorável à incidência de doenças fúngicas em tecidos de frutos de videira, e como mecanismo de resposta bioquímica aquele estresse biótico, as plantas podem aumentar a síntese de compostos com ação fungicida, tais como o resveratrol.⁶⁷

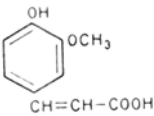
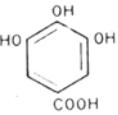
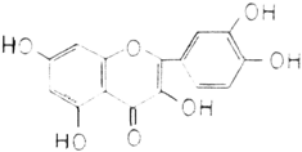
3.5 Qualificação dos polifenóis de interesse

As amostras de vinhos Bordô foram investigadas quanto a presença de compostos fenólicos de interesse por comparação dos valores de deslocamento químico de ^1H – RMN (δ_{ppm}), ao

quais foram obtidos através de espectros dos compostos de referência. Adicionalmente, e para a comprovação da ocorrência de um composto específico (t-resveratrol, por exemplo), fez-se a adição a de microvolumes (aproximadamente 10 – 15 µL) de solução padrão do composto de interesse às amostras em estudo, seguido da avaliação do aumento da intensidade dos sinais com deslocamento químico específico. Esta estratégia metodológica permitiu detectar de forma rápida a ocorrência de sinais de ressonância típicos de compostos tais como *trans*-resveratrol ($\delta_H = 6,88$ e $6,29$ ppm), quercitina ($\delta_H = 6,40$; $6,41$; $6,67$; e $12,32$ ppm) e de ácidos fenólicos simples como o ácido gálico ($\delta_H = 1,11$; $1,14$ e $1,43$ ppm) e o ácido ferúlico ($\delta_H = 6,48$; $7,27$ e $7,48$ ppm), bem como o ácido málico ($\delta_H = 2,76$; $2,80$; $2,84$; $2,88$ e $4,67$ ppm). No entanto, por usar-se apenas alguns dos muitos deslocamentos químicos encontrados nos padrões, e devido à coincidência de alguns deslocamentos químicos dentre estes, os resultados demonstrados na tabela 2 não são definitivos, sendo que a função destes é apenas mostrar que é viável a detecção da presença destes compostos, dentro das limitações da técnica. Assim, mesmo em amostras com resultados negativos quanto a ocorrência de compostos de interesse, poderão haver concentrações satisfatórias destes compostos. Isto pode ser explicado pelo fenômeno de interação entre os núcleos dos compostos alvo e de outras moléculas presentes na solução, outro fator de extrema relevância é a possibilidade de sobreposição dos sinais dos deslocamentos químicos.

Tabela 2 – Detecção da presença* de compostos fenólicos de interesse por ^1H – RMN em amostras de vinhos Bordô produzidos no Vale do Rio o Peixe.

	Safra 2001	Safra 2002
<p><i>trans</i>- resveratrol</p> 		

<p>Ácido málico</p> <p>$\text{COOH} - \text{CH}_2 - \text{CHOH} - \text{COOH}$</p>		
<p>Ácido ferúlico</p> 		
<p>Ácido gálico</p> 		
<p>Quercitina</p> 		

* As áreas hachuradas significam a presença do composto fenólico na respectiva amostra em estudo, enquanto áreas em branco indicam sua ausência nas amostras.

A não detecção do polifenol *trans*-resveratrol nas safras em estudo pode ser decorrente da baixa concentração deste composto nas amostras, uma vez que a concentração de um composto deve ser suficiente para gerar uma adequada relação sinal/ruído. Este aspecto é função do nível de sensibilidade do espectrômetro de ressonância, mas valores em torno de 0,005 mg/mL têm sido considerados como limites de detecção para $^1\text{H} - \text{RMN}$, em espectrômetros operando em frequência de ressonância de hidrogênio de 300 MHz.⁶⁷

Para a melhor compreensão dos resultados apresentados na tabela 2, os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio referentes as amostras de vinho Bordô, safras 2001 e 2002 encontram-se expostos nas figuras 21 e 22 respectivamente.

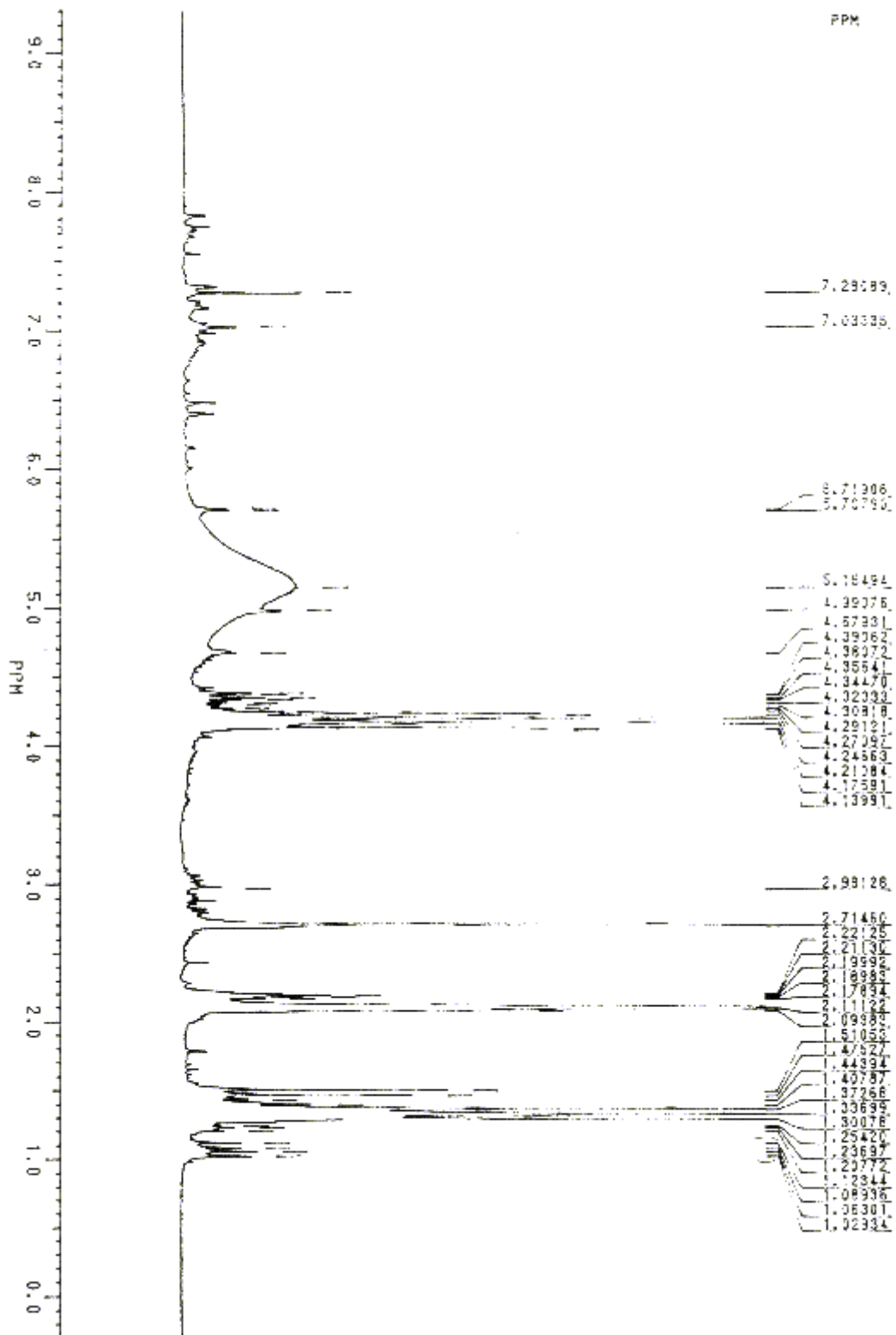


Figura 21 – Espectro de ^1H -RMN referente a amostra de vinho Bordô safra 2001, produzido no Vale do Rio do Peixe – SC.

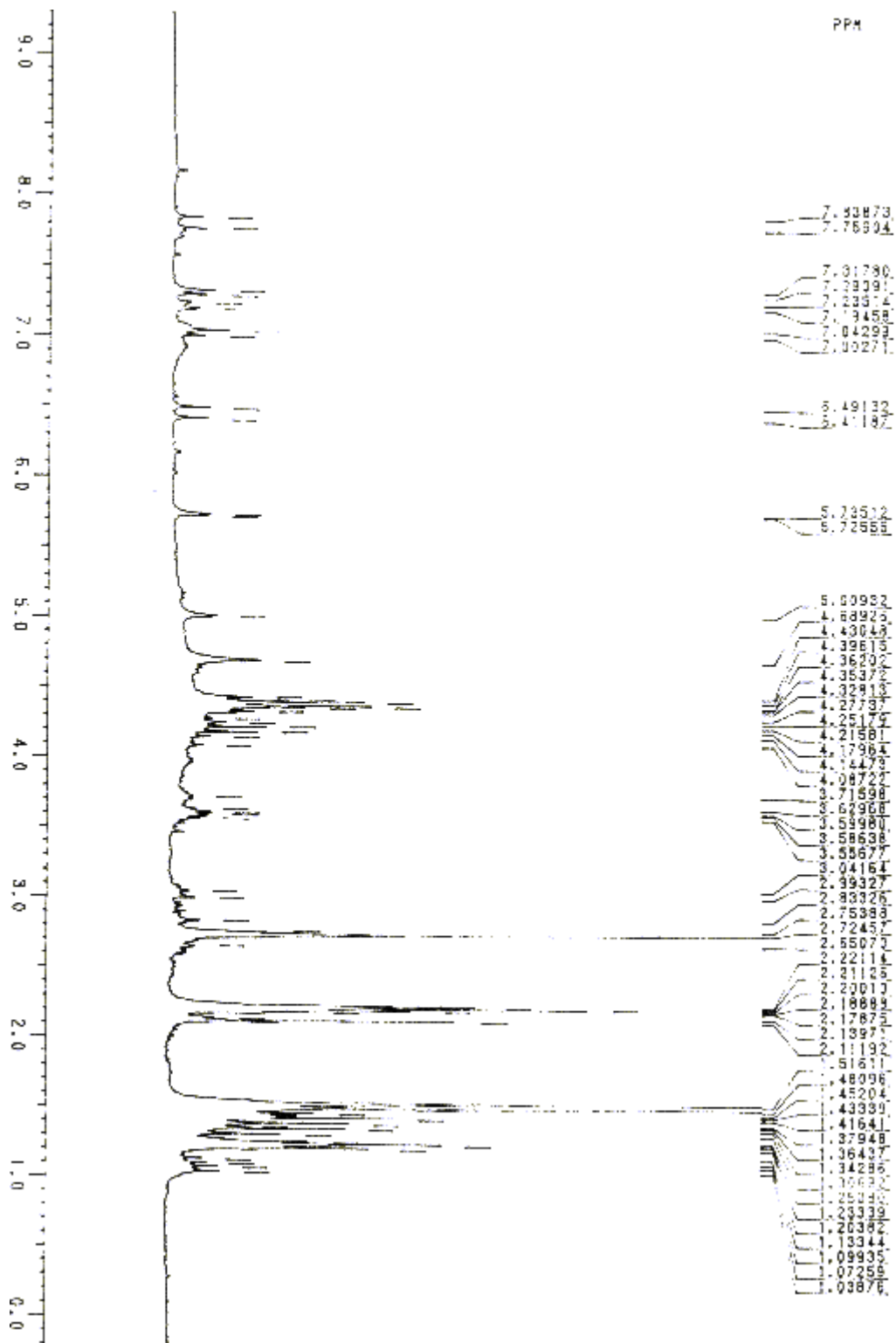


Figura 22 - Espectro de ^1H -RMN referente a amostra de vinho Bordô safra 2002, produzido no Vale do Rio do Peixe – SC.

4. Conclusões

4.1 Mostos

- No processo de vinificação da uva Bordô safra 2003, a extração dos compostos fenólicos, a saber, antocianinas, ácidos fenólicos, taninos e estilbenos (*t*-resveratrol), das biomassas do fruto para o meio alcoólico mostrou-se eficiente, fornecendo valores de concentração crescentes no decorrer dos 1º, 3º e 5º dias de fermentação
- As elevadas concentrações dos compostos tânicos nas amostras referentes ao processo fermentativo, indicam que as matérias ditas sólidas do cacho da uva, principalmente o engaço e as sementes estão sendo excessivamente macerados, sendo este fato relacionado com sistema de moagem (esmagador-desengaçador) e/ou o sistema de remontagem adotado pelo fabricante.
- A concentração do estilbeno *trans*-resveratrol, análogo ao que mostra a literatura, aumentou no decorrer no processo de fermentação, indicando a isomerização do *cis*-resveratrol à *trans*-resveratrol no decorrer do 1º, 3º e 5º dias do processo analisado.

4.2 Vinhos

- Comparativamente aos dados encontrados na literatura, os vinhos tintos da variedade americana Bordô analisados apresentaram teores de compostos benéficos à saúde humana superiores ao observado na maior parte dos relatos encontrados para vinhos da variedade *Vitis Vinífera* Cabernet Sauvignon;
- A safra de vinho Bordô 2002 apresentou concentrações superiores de antocianinas, fenóis totais e taninos em relação à média;

- A análise da concentração do estilbeno *t*-resveratrol via cromatografia líquida de alta eficiência, demonstrou que a amostra de vinho Bordô referente à safra 2001 apresentou maior concentração deste composto, fato atribuído, provavelmente à maior precipitação pluviométrica ocorrida no período de maturação e colheita da uva naquela safra;
- A detecção de compostos de interesse à saúde humana por ¹H- RMN revelou a presença dos compostos fenólicos de interesse, a saber, ácido málico, ácido ferúlico, ácido gálico e quercitina. A não detecção de outros compostos fenólicos, tal como o *trans*-resveratrol pode ser decorrente do fator de diluição da amostra de vinho utilizada e também devido a sobreposições de picos característicos;
- O monitoramento dos diversos fatores (a)bióticos que estão ligados à determinação do mosto e do vinho é condição de significativa importância para o estabelecimento de conclusões em estudos do processo fermentativo do mosto e em estudos do caráter comparativo da qualidade de vinhos, notadamente devido à complexidade de sua ação;
- Os dados obtidos sugerem a possibilidade de valorização do produto como fator de *marketing*, devido ao grande interesse popular por alimentos e bebidas com atividades terapêuticas.

CAPÍTULO VI – Referencias Bibliográficas

- 1 JOHNSON, H. **The Story of Wine**. Mitchell-Beazley, 1989.
- 2 GÊNESIS 9.20-21. **Bíblia Sagrada**. 130ª ed. Santa Cecília: Ave Maria, 1999. p. 56
- 3 <http://www.piagentini.com.br> acessado em março de 2003.
- 4 ROSIER, J. P. & LOSSO, M. Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: Vitivinicultura. *EPAGRI, Boletim Técnico*, nº 83, 1997. p. 41.
- 5 BV – Monografia sobre o Vinho. Disponível na internet <http://www.bvbv.hpg.ig.com.br/acervo/une/une14.html> acessado em março de 2003.
- 6 AQUARONE, E.; LIMA, A.U.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. 3ª ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda. V.3, 1983. p. 15-42.
- 7 AQUARONE, E.; LIMA, A.U.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. 1ª ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda. V.3, 2001. p. 11-17.
- 8 SCARTAZZINI, L. S. **Utilização do biorreator *airflit* na pré-fermentação do mosto de uva**. Florianópolis, 2001.
- 9 MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 2ª ed. Guanabara Koogan S.A, 1999. p. 125-128.

- 10 A Química do Vinho. Disponível na internet <http://www.quimica.matrix.com.br/artigos/vinho> acessado em agosto de 2002.
- 11 POLENTA, G. A. **Evolução dos compostos fenólicos durante a fermentação de mostos provenientes de três regiões do Rio Grande do Sul, submetidos a diferentes tratamentos.** 1996.153p. Dissertação de Mestrado, Santa Maria/RS.
- 12 PEYNAUD, E. **Enologia practica: conocimiento y elaboracion del vino.** 2^a ed. Madrid: Mundi Prensa, 1984. p. 203.
- 13 VIVAR-QUINTANA, et al. **Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines.** Analytica Chimica Acta, 458. 2002. p. 147-155.
- 14 JACKMANN, R. L.; YADA, R. Y. & TUNG, M. A. **A review: separation chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis.** Journal of Food Biochemistry, 29. 1987. p. 279-308.
- 15 HARBONE, J. B. **Comparitive biochemistry of flavonoids.** New York. Academic Press, 1967.
- 16 GEISSMAN, T. A. **The pharmacological and other activies of flavonoid compounds in food.** T. W. Goodwin, Chemistry and Biochemistry of plant pigments. London: Academic Press, 1962.
- 17 MAZZA, G. & BROUILLARD, R. **Color stability and structural transformations of cyanidin 3,5-diglucoside and four 3- deoxyanthocyanin in aqueous solutions.** Journal of Agricultural and Chemistry, 35. 1987. p. 422-426.
- 18 JURD, L. Review of polyphenol condensation reaction and their possible occurrence in the aging of wines. **Am. J. Enol. Vitic**, V - 20. 1969. p. 191-195.

- 19 SOMERS, T. C. **The polymeric nature of wine pigments.** *Phytochemistry*, 10. 1971. p. 2175.
- 20 HASLAM, E. **In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines.** *Phytochemistry*, 19. 1980. p. 2577.
- 21 AMERINE, M. A. et al. **Technology of wine making.** AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1980
- 22 TAIZ & ZEIGER. **Surface protection and secondary defense compounds.** *Plant Physiology*. New York. 1991. p. 320-345.
- 23 MICHAUD, J.; LACAZE, P.; MASQUELIER, J. **Fractionnement des oligomeres flavanoliques du raisin.** *Bull. Soc. Pham., Bordeaux*, 110. 1971. p. 111-116.
- 24 CZOCHANSKA, Z.; FOO, L. Y.; POSTER, L. J. **Compositional changes in lower molecular weight flavans during grape maturation.** *Phytochemistry*, 18. 1979. p. 1819-1822.
- 25 LEE, C. Y. & JAWORSKI, A. Major phenolic compounds in ripening white grapes. **Am. J. Enol. Vitic.** V - 1. 1989. p. 43-46
- 26 PRIEUR, C.; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. **Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds.** *Phytochemistry*, 36. 1994. p. 781-784.
- 27 DE FREITAS, V. A . P. **Recherches sur lés tanins condensés application à l'étude des structures et propriétés des procyanidines du raisin et du vin.** Bordeaux (Thèse. Université de Bordeaux II). 1995.

- 28 DALLAS, C.; SILVA, J. M. R.; LAUREANO, O . **Interactions of oligomeric procyanidins in model wine solutions containing malvidin-3-glucoside and acetaldehyde.** J. Agric. Food Chem., 70. 1996. p. 493-500.
- 29 DALLAS, C.; SILVA, J. M. R.; LAUREANO, O. **Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B2 and acetaldehyde.** J. Agric. Food Chem., 44. 1996. p. 2402-2407.
- 30 MOUTOUNET, M.; RIGAUD, J.; SOUQUET, J. M.; CHEYNIER, V. **Caractérisation structurale des tannins de la baie de raisin.** Mass Spectrom. Rev., 14. 1995. p. 383
- 31 RIOU, V. et al. **Aggregation of grape seed tanins model wine – effect of wine polysaccharides.** Food Hydrocolloids, 16. 2002. p. 17-23.
- 32 FRÉMONT, L. *Life Sciences*, v..66, n. 8, 2000. p.663-673.
- 33 SGAMBATO, A. et al. **Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage.** Mutation Research, 496. 2001. p. 171-180.
- 34 Efeitos do Vinho no Sistema Cardiovascular – Guia do Vinho. Disponível na internet <http://academiadovinho.com.br/biblioteca/efeitos.htm> acessado em abril de 2003.
- 35 MONSON, S. F. J. Vinho e saúde. **Viticultura e Enologia – Atualizando Conceitos.** 2001. p. 1-15.
- 36 SAINT-CRICQ DE GAULEJAC, N. et al. **Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines.** Food Research International, 32. 1999. p. 327-333.

- 37 NETZEL, M.; STRASS, G.; BITSCH, I.; KÖNITZ, M.; CHRISTMANN, M.; BITSCH, R. **Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine.** J. of Food Engineering, 56. 2003. p. 223-228.
- 38 MELLO, L. M. R. **Mercado brasileiro de uvas e vinhos.**, Embrapa/CNPUV, Bento Gonçalves, Instrução Técnica 001. 2000.
- 39 IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2001.
- 40 ICEPA/SC - INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina. 2000-2001.** Florianópolis-SC. (2001). p. 248.
- 41 www.tcche.br/agrotecnica/vincve.htm#ISABEL acessado em maio de 2003.
- 42 DIAS, H. P. **IX – Vinhos do Brasil, um enfoque de tradição e qualidade.** Revista da Faculdade da Serra Gaúcha, v. 3. Disponível na internet <http://www.fsg.br/revista3texto9>. acessada em abril de 2003.
- 43 PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, U. A., MELO, L. M. A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas. **Vitivinicultura e Enologia – atualizando conceitos. EPAMIG.** Belo Horizonte. 2002.
- 44 LANGCAKE, P.; PRYCE. R. J. **The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as response to infection or injury.** Physiol. Plant Pathol., 9. 1976. p. 77-86.
- 45 SÁRDI, E. et al. Proc. VII Int. Symp. on Grapevine and Breeding. **Acta Horticulturae, 528.** 2000. p. 597-603.

- 46 REVEL, G. et al. **Analyse du cis- et trans-resveratrol nas les vins produits au Portugal** . J. Intern. Sci. Vigne et du Vin., 30. 1996. p. 31-37.
- 47 MATTIVI, F.; RENIERO, F.; KORHAMMER, S. **Isolation, characterization, and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers**. Journal of Agric. and Chem., 43. 1995. p. 1820-1823.
- 48 NICHOLSON, S. et al. **750 MHz ^1H and ^1H - ^{13}C NMR Spectroscopy of Human Blood Plasma**. Anal. Chemistry, 67. 1995. p. 793-811.
- 49 PASSOS, R.; Oltramari, A . C.; SILVA, A . L.; CARO, M. S. B.; MARASCHIN, M. **Análise de *trans*-resveratrol por ^1H - RMN em vinhos tintos produzidos no sul do Brasil**. VIII Encontro de usuários de ressonância magnética nuclear- I Encontro Luso Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear. Mangaratiba. 2001. v. 1. p. 107-108.
- 50 LACEU, M. E.; SUBRAMANIAN, R.; OLSON, D. L.; WEBB, A . G.; SWEEDLER, J.V.; **High-resolution NMR spectroscopy of sample volumes from 1 nL to 10 nL**. Chemistry Rev. 99. 1999. p. 3133-3152.
- 51 GONÇALVES, V. Z.; IANSSEN, C.; CARO, M. S. B.; MARASCHIN, M. **Extração exaustiva e quantificação de antocianinas em amostra de vinho Bordô**. SIMPOCAL. 2003.
- 52 MARASCHIN, M. *et al.* **Isolation and *trans*-resveratrol analysis in Brazilian red wine by ^1H -nuclear magnetic resonance**. Magnetic Resonance in Food Science – a view to the future, (Webb, GA *et al.*, Eds). Royal Society of Chemistry. Cambridge. 2001. p. 136-141.

- 53 MADHAVI, D. L. et al. **Characterization of anthocyanins from *Ajuda pyramidalis* Metallica Crispa cell cultures.** J. Agric. Food Chemistry, 44. 1996. p. 1170-1176.
- 54 CALLEBAUT, A . et al. **Anthocyanins in cell cultures of *Ajuda reptans*.** Phytochemistry, 29. 1990. p. 2153-2158.
- 55 RANDHIR, et al. 2002
- 56 BLANCO, V. Z. et al. **Effect of processing on phenolics of wines.** Advances in Experimental Medicine and Biology, 434. 1998. p. 327-340.
- 57 VALDÉS, H. L.; LEYES, E. R.; REGO, H. P. L.; SANABIA, M. L. G. **Método analítico para la cuantificación de taninos en el extrato acuoso de romerillo.** Rev. Cubana Plant Med., 5. 2000. p. 17-22.
- 58 MARASCHIN, M.; PASSOS, R.; DIAS, P. F.; ARAUJO, P. S.; OLTRAMARI, ^a C.; FONTANA, J.; CARO, M. S. B. **Isolation and *trans*-resveratrol analysis in brasilian red winw by ¹H- NMR.** Fifth International Conference on Applications of Magnetic Resonance in Food Science, Avero. 2000. p. 37.
- 59 MARASCHIN, R. P.; IANSSEN, C.; ARSEGO, J. L.; CAPEL, L. S.; ZANUS, C.; CIMADON, A. M. A.; CARO, M. S. B.; MARASCHIN, M. **Flash-chromatography and ¹H- NMR analysis of Brazilian Cabernet Sauvignon wine - A chemical composition similarity study.** VII Jornada Brasileira de Ressonância Magnética Nuclear, Maringá. 2002. v. 1. p. 25.
- 60 MARASCHIN, R. P. **Caracterização Química de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na Serra Gaúcha – RS.** Dissertação e Mestrado. Universidade Federal e Santa Catarina. 2003 . p. 57.

- 61 RIBÉREAU, P. G. Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin. **Conn. Vigne Vin**. V – 5. 1971. p. 247 – 267.
- 62 GUERRA, C. C. Maturação da uva e condução da vinificação para elaboração de vinhos finos. **Viticultura e Enologia**. Ed. Andradas, EPAMIG. V – 1. 2002 . p. 179 – 192.
- 63 SILVA, R.; BOURZEIX, M.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Procyanidin composition of Chardonnay, Mauzac and Grenache blanc grapes. **Vitis**. V – 30. 1991. p. 245 – 252.
- 64 KANTZ, K.; SINGLETON. V. L. Isolation and determination of polymeric polyphenols in wine using sephadex LH –20. **Am. J. Enol. Vitic**. V – 42. 1991 p. 309 – 316.
- 65 JEANDET, P.; BESSIS, R.; GAUTHERON, B. The production of resveratrol by grape berries in different development stages. **Am. J. Enol. Vitic**. V – 42. 1991 p. 41 – 46.
- 66 ADRIAN, M.; JEANDET, P.; BREUIL, A. C.; LEVITE, D.; DEBORB, S.; BESSIS, R. Assay of resveratrol and derivative stilbenes in wine by direct injection high performance liquid chromatography. . **Am. J. Enol. Vitic**. V – 51. 2000 . p. 37 – 41.
- 67 VERPOORTE, R.; SCHRIPSEMA, J. **The Alkaloids**. V – 15. 1994. p. 1-22.

