

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

MARCOS DOS SANTOS LIMA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SUCOS PRODUZIDOS EM
ESCALA INDUSTRIAL COM NOVAS VARIEDADES
BRASILEIRAS DE UVA CULTIVADAS NO NORDESTE DO
BRASIL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Jorge Luiz Ninow

Coorientador: Dr^o. Giuliano Elias Pereira

Florianópolis / SC
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lima, Marcos dos Santos

Caracterização Química de Sucos Produzidos em Escala Industrial com Novas Variedades Brasileiras de Uva Cultivadas no Nordeste do Brasil / Marcos Santos de Lima; orientador, Jorge Luiz Ninow; coorientador, Giuliano Elias Pereira. – Florianópolis, SC, 2014.

155 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. Suco de uva, 3. Variedades de uva. 4. Processos industriais. Compósitos fenólicos. I. Ninow, Jorge Luiz. II. Pereira, Giuliano Elias. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

MARCOS DOS SANTOS LIMA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SUCOS PRODUZIDOS EM
ESCALA INDUSTRIAL COM NOVAS VARIEDADES
BRASILEIRAS DE UVA CULTIVADAS NO NORDESTE DO
BRASIL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Florianópolis, 17 de janeiro de 2014.

Prof^o.Dr^o. Jorge Luiz Ninow
Orientador

Dr^o. Giuliano Elias Pereira
Co-orientador

Prof^o. Dr^o. João Borges Laurindo
Coordenador

Comissão Julgadora:

Dr^o. Gildo Almeida da Silva

Dr^o. Vitor Manfroi

Dr^a. Marilde T. Bordignon Luiz

Dr^a. Débora de Oliveira

Dr^a. Silvana Licodiedoff

Dr^a. Alcilene R. M. Fritz

Dedico este trabalho em primeiro lugar
ao Senhor dos Exércitos, meu Deus,
que em tudo tem me sustentado.

À minha mãe por ter me ensinado
a nunca desistir dos meus sonhos.

Ao meu pai (*in memoriam*) por ter mostrado que o
único caminho de se vencer na vida é por meio do estudo.

À minha esposa pelo
amor e paciência em cada dia.

À minha família, minhas irmãs
Roseane, Maria Célia e esposo Roberto, os quais
sempre me deram sustentação para eu seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para que eu estivesse aqui neste momento;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pela concessão de bolsa e aporte financeiro para a execução deste trabalho;

Ao Prof^o. Jorge Luiz Ninow pela confiança, apoio e amizade;

Ao Dr. Giuliano Elias Pereira pelo auxílio concedido na Co-orientação deste trabalho;

Ao grupo ASA Indústria e Comércio Ltda pela concessão de matéria-prima, linha de processo e pessoal de apoio na execução do experimento;

À Cooperativa Agrícola Nova Aliança – COANA pela concessão de matéria-prima, linha de processo e pessoal de apoio na execução do experimento;

Ao Instituto Federal do Sertão Pernambucano que sempre investiu na minha formação;

A EMBRAPA Semiárido pela disponibilização de equipamento e técnico para realização de análises;

À Prof^a. Marilde pela atenção dada em todas as vezes que necessitei;

A Isabela Toaldo pelo apoio com as análises;

Aos meus orientados Igor Silani e Maria Dutra pelo apoio na elaboração dos sucos

A Maria José Arbulu pelo auxílio com a tradução dos artigos

A todos os professores que participaram da minha formação.

RESUMO

A produção de suco de uva no Brasil tem aumentado a cada ano, pois apenas no Rio Grande do Sul, maior estado produtor de uvas e derivados, a produção de suco passou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 220 milhões de litros em 2012. Esses números são bastante relevantes, pois a produção mundial de sucos de uva está estimada entre 11 e 12 milhões de hectolitros. Outras regiões brasileiras têm investido na elaboração de sucos de uvas, como a região do Vale Submédio São Francisco (VSF), localizada no Nordeste do Brasil, onde recentemente empresas têm investido na produção de sucos de uva em escala comercial. Este trabalho teve por objetivo caracterizar os sucos das novas variedades brasileiras de uvas plantadas no VSF e avaliar diferentes condições de extração do suco no processo industrial utilizado por empresas desta região, em relação a parâmetros clássicos de qualidade, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e atividade antioxidante. O processo de extração do suco a quente sem prensagem do bagaço apresentou um alto rendimento de suco sem a necessidade de prensagem da uva. Os tratamentos de maceração exerceram influência significativa nos parâmetros de processo como rendimento e limpidez do suco, onde a temperatura de 60°C com adição do preparado enzimático a base de pectinase resultaram num incremento de 6,0% no rendimento e na redução da turbidez. O uso do preparado enzimático diminuiu a concentração de catequina e aumentou a de procianidinas B1 e B2 nos sucos. O aumento da temperatura de maceração de 50 para 60°C foi o fator que mais contribuiu para a maior extração de compostos fenólicos das películas das uvas, principalmente em relação às antocianinas. A combinação da temperatura de 60°C com o uso do preparado enzimático na dose 3,0 mL 100 kg⁻¹ de uva resultaram numa maior extração de praticamente todos os compostos fenólicos analisados, bem como no aumento da concentração dos ácidos málico e láctico, e diminuição da concentração do ácido acético dos sucos. Foi observada uma significativa concentração de compostos fenólicos associados à atividade antioxidante *in vitro* nos sucos das novas variedades brasileiras de uvas plantadas nesta região. O uso dos híbridos “BRS Violeta” e “BRS Cora”, em mistura com a “Isabel Precoce”, aumentaram significativamente a intensidade de cor, a concentração de fenólicos totais e antocianinas totais do suco formulado, principalmente, em relação a fenólicos como catequina e

epicatequina galato, ácidos gálico, ácido caféico, rutina, delphinidina e cianidinas, compostos que foram associados à alta atividade antioxidante encontrada nos sucos. O que faz com que o uso destes “cortes” seja uma prática importante na obtenção de sucos com alta concentração de fenólicos associados a atividades biológicas benéficas à saúde dos consumidores. O híbrido “BRS Cora” além de contribuir com o aumento da cor e compostos fenólicos no suco formulado com “Isabel Precoce”, também foi responsável pelo aumento da concentração de ácidos tartárico e málico. A cultivar “BRS Magna” apresentou um bom potencial para ser utilizada em formulações de sucos, uma vez que apresentou uma composição fenólica inferior apenas a “BRS Violeta”, variedade com a maior quantidade de fenólicos. Os sucos elaborados apresentaram uma alta concentração de *trans*-resveratrol, com destaque para o suco da “BRS Violeta” com valores semelhantes a vinhos tintos. De maneira geral a atividade antioxidante dos sucos foi alta, e associada, principalmente, aos fenólicos: catequina, procianidinas B1 e B2, ácido caféico, delphinidina 3-glicosídeo e cianidinas mono e diglicosídicas. Portanto se conclui que é possível elaborar sucos de uva com as novas cultivares brasileiras plantadas no Nordeste do Brasil, que apresentem boa concentração de compostos bioativos e características próprias originadas da viticultura tropical praticada no Vale do Submédio São Francisco, que se difere das demais regiões tradicionais do mundo.

Palavras chave: Compostos bioativos, Pectinases, BRS Cora, BRS Violeta, BRS Magna, Isabel Precoce, Viticultura Tropical.

ABSTRACT

The Brazilian production of grape juice have been increasing every year, being Rio Grande do Sul the main state producer of grapes and derivations, the production passed through from 126,9 millions of liters in 2008 to 220 millions of liters in 2012. This number is relevant because the world production of grape juices is estimated around 11 and 12 millions of hectoliters. Other Brazilian regions have invested in the production of grape juice, like Sub-middle region of São Francisco's Valley (SFV), located at the Northeast of Brazil. Recently, factories have invested in the production of grape juices in commercial large-scale at the region. In this context, this study aimed to characterize the juices of the new Brazilian grape varieties planted in SFV and evaluate different juice extraction conditions in the industrial process used by companies in this region, compared to classic quality parameters, phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity. The process used by the companies presented a high juice without the need for pressing grapes. The maceration treatments have any significant influence on process parameters such as yield and clarity of juice where the temperature of 60°C with the addition of the enzyme preparation based pectinase resulted in a 6.0% increase in yield and reduction of turbidity. The use of the enzyme decreased amounts of catechins and increased procyanidins of B1 and B2. Increasing the temperature of maceration of 50 to 60°C was the main cause of the extraction of phenolic compounds from the skins of the grapes, especially the anthocyanins. The combination of 60° C with the use of the enzyme preparation in a dose of 3.0 mL per 100 kg of grapes resulted in better extraction of phenolic compounds evaluated, as well as increased the concentration of malic and lactic acids, and decreased the concentration of acetic acid in the juices. With a base on the results obtained could be observed significant concentration of phenolic compounds associated with the antioxidant activity *in vitro* on the studied juices. The use of blends between varieties "BRS Violeta" and "BRS Cora", with the variety "Isabel Precoce", increased significantly the intensity of color as well as the total phenolic concentration and total anthocyanins in the finished juice, especially in relation to phenolic catechin, epicatechin gallate, gallic acid, caffeic acid, rutin, delphinidin end cyanidins, compounds that were associated with high antioxidant activity found on juices. That makes of extreme importance the use of these blends in order to elaborate juices

with great concentrations of phenolics associated to biological activities which are beneficial to consumers health. The variety “BRS Cora” not only contributed with the increase of color and phenolic compounds in juice “Isabel Precoce”, but also was responsible for the increment in the concentration of organic acids as tartaric and malic. The variety “BRS Violeta” was responsible for the greatest increment of phenolics in the juice “Isabel Precoce”, as well the variety “BRS Magna” showed a good potential to be used in commercial blends, since it presented a little less phenolic concentration compared to the juice “BRS Violeta”. The juices elaborated showed a representative concentration of *trans*-resveratrol, remarking the juice “BRS Violeta” with values similar to red wines. In a general point of view, the antioxidant activity of juices were high, and were associated, essentially, to the phenolics: catechin, procyanidin B2, caffeic acid, delphinidin 3-glucoside and cyanidins mono and diglucoside. Due to this, it can be concluded that is possible to elaborate grape juices with new Brazilian varieties planted in the Northeast region of Brazil, which have good quantity of bioactive compounds and own original characteristics from the tropical viticulture practiced in the Sub-middle São Francisco’s Valley, that differs with any other traditional regions of the world.

Keywords: Bioactive compounds, pectinases, BRS Cora, BRS Violeta, BRS Magna, Isabel Precoce, Tropical Viticulture.

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO II	
Figura 1. Bacia hidrográfica do Rio São Francisco	34
Figura 2. Cachos das cultivares “Isabel Precoce” e “BRS Cora”	36
Figura 3. Genealogiada cultivar “BRS Cora”	37
Figura 4. Cachos das cultivares “BRS Violeta” e “BRS Magna”	38
Figura 5. Genealogia da cultivar “BRS Violeta”	38
Figura 6. Etapas básicas dos processos de elaboração de suco de uva	40
Figura 7. Distribuição na baga da uva dos principais compostos de interesse em sucos de uva	45
Figura 8. Classificação dos principais grupos de compostos fenólicos presentes na uva e derivados como sucos	48
Figura 9. Fórmulas estruturais das principais antocianinas simples presentes nas uvas	49
Figura 10. Estrutura dos flavanóis monoméricos	51
Figura 11. Estrutura de flavanóis dímeros, procianidinas B2 e A2 ..	51
Figura 12. Estrutura dos principais flavonóis simples	52
Figura 13. Configurações <i>trans</i> e <i>cis</i> do resveratrol	53
Figura 14. Ácido cinâmico e suas derivações mais importantes	54
CAPÍTULO III	
Figura 1. Fluxograma da elaboração do suco de uva por extração a	

quente sem prensagem do bagaço	62
Figura 2. Esquema da maceração da uva em remontagem constante seguido da separação do suco da uva por drenagem	63
Figura 3. Tanque de maceração com controle de temperatura e sistema de remontagem constante na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil	64
Figura 4. Tanque pulmão para armazenagem do suco na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil	64
Figura 5. Pasteurizador tubular com controle de temperatura na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil	65
Figura 6. Enchedora gravimétrica automática com sistema de fechamento de garrafas na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil	65
Figura 7. Túnel de resfriamento por pulverização de água na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil	66
Figura 8. Cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters modelo Alliance e2695 acoplado a detector de arranjos diodos na Embrapa Semiárido, Petrolina PE – Brasil	71
Figura 9. Detector de fluorescência Waters 2475 acoplado a cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters modelo Alliance e2695 na Embrapa Semiárido, Petrolina PE – Brasil	71
Figura 10. Cromatograma de separação dos compostos fenólicos com os respectivos tempos de retenção (RT)	72
Figura 11. Valores de atividade antioxidante dos sucos de uvas obtidos das diferentes condições de maceração	91
Figura 12. “Biplot” da separação dos tratamentos de maceração em função das análises de compostos fenólicos, atividade antioxidante e ácidos orgânicos, nas componentes principais	94

CAPÍTULO IV

Figura 1. Fluxograma da elaboração do suco de uva por extração a quente sem prensagem do bagaço	103
Figura 2. Desengace e esmague da uva com adição de preparado enzimático por pulverização	103
Figura 3. Tanque de maceração com controle de temperatura e sistema de remontagem constante na empresa COANA, Petrolina PE – Brasil	104
Figura 4. Esquema da maceração com remontagem constante e separação do suco da uva por drenagem	104
Figura 5. Tanque pulmão de armazenagem do suco na empresa COANA, Petrolina PE – Brasil	105
Figura 6. Pasteurizador tipo placas com controle de temperatura na empresa COANA, Petrolina PE – Brasil	105
Figura 7. Enchedora gravimétrica automática com sistema de fechamento de garrafas na empresa COANA, Petrolina PE – Brasil.	106
Figura 8. Valores médios dos flavonóis e <i>trans</i> -resveratrol nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	122
Figura 9. Valores médios da atividade antioxidante medida por DPPH e ABTS nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	130

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Características básicas dos preparados comerciais à base de enzimas pectinases	43
CAPÍTULO III	
Tabela 1. Resultados das análises dos parâmetros clássicos de qualidade dos sucos de uva obtidos em diferentes condições de maceração	77
Tabela 2. Valores dos ácidos orgânicos em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.....	81
Tabela 3. Valores dos flavanóis e fenólicos totais em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.....	82
Tabela 4. Valores dos flavonóis e <i>trans</i> -resveratrol em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.....	84
Tabela 5. Valores de antocianinas em sucos de uva obtidos em diferentes condições de maceração.....	87
Tabela 6. Valores dos ácidos fenólicos nos sucos de uva obtidos em diferentes condições de maceração	90
Tabela 7. Correlações (loadings) dos fenólicos e ácidos orgânicos nas componentes principais 1 e 2	93
CAPÍTULO IV	
Tabela 1. Valores médios das análises dos parâmetros clássico em sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do São Francisco, Petrolina – PE	113

Tabela 2. Valores de ácidos orgânicos nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	114
Tabela 3. Valores de flavanóis o fenólicos totais nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	118
Tabela 4. Valores de ácidos fenólicos nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	125
Tabela 5. Valores de antocianinas nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina – PE	128
Tabela 6. Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante dos sucos medida pelos métodos com DPPH e ABTS	132

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS – 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
Acet – Ácido acético
Acf – Ácido caféico
Acn – Ácido cinâmico
ACP – Análise de componentes principais
Acu – Ácido *p*-cumárico
Agl – Ácido gálico
AMT – Antocianinas monoméricas totais
AOX – Atividade antioxidante
AT – Acidez titulável
BC – BRS Cora
BM – BRS Magna
BV – BRS Violeta
Cat – catequina
Cia – Cianidina 3-glicosídeo
CiD – Cianidina 3,5-diglicosídeo
Citr – Ácido cítrico
CP – processo “Cold Press”
DAD – Detector de Arranjos Diodos
Del – Delfinidina 3-glicosídeo
DF – Detector de Fluorescência
DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazila
EgG – Epigallocatequina
Epc – Epicatequina
EpG – Epicatequina Galato
FD – Fator de diluição
FT – Fenólicos totais
HB – processo “Hot Break”
HP – processo “Hot press”
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
IP – Isabel Precoce
IPBC – Isabel Precoce 80% + BRS Cora 20%
IPBV – Isabel Precoce 80% + BRS Violeta 20%
Ism – Isoramnetina
Kae – Kaempferol
Lact – Ácido láctico
LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação
MaD – Malvidina 3,5-diglicosídeo
Mal – Malvidina 3-glicosídeo
Malic – Ácido málico
Myr – Miricetina
NTU – Unidade nefelométrica de turbidez
p – probabilidade de erro
PA2 – Procianidina A2
PB1 – Procianidina B1
PB2 – Procianidina B2
PC1 – Componente principal 1
PC2 – Componente principal 2
Pel – Pelargonidina 3-glicosídeo
Peo – Peonidina 3-glicosídeo
PEP – Preparado enzimático a base de pectinase
PM – Peso molecular
Que – Quercitina
r – coeficiente de correlação de Pearson
Res – *trans*-resveratrol
RT – Tempo de retenção
Rut – Rutina
SS – Sólidos solúveis
Succ – Ácido succínico
T50E0 – Maceração em 50°C sem adição de enzima pectinase
T50E1,5 – Maceração em 50°C com dose de enzima 1,5 mL 100kg⁻¹ de uva
T50E3 – Maceração em 50°C com dose de enzima 3,0 mL 100kg⁻¹ de uva
T60E0 – Maceração em 60°C sem adição de enzima pectinase
T60E1,5 – Maceração em 60°C com dose de enzima 1,5 mL 100kg⁻¹ de uva
T60E3 – Maceração em 60°C com dose de enzima 3,0 mL 100kg⁻¹ de uva
Tart – Ácido tartárico
TEAC – Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox
VSF – Vale do Submédio São Francisco

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	25
1.1 OBJETIVO GERAL	29
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1 Histórico da elaboração de suco de uva	31
2.2 Definição e legislação brasileira para suco de uva	32
2.3 Matéria-prima para a produção de sucos de uva.....	33
2.4 O Submédio São Francisco	33
2.5 Principais variedades de uva para elaboração de sucos no Submédio São Francisco	35
2.6 Técnicas de processamento do suco de uva em nível industrial.	39
2.6.1 Processo de extração com emprego de calor “Hot press”	39
2.6.2 Processo de extração a frio “Cold press”	41
2.7 A maceração da uva no processamento do suco	42
2.7.1 Preparados enzimáticos a base de pectinases utilizados na maceração de uvas	43
2.7.2 Influência do aquecimento da uva na obtenção dos sucos	44
2.8 Principais compostos presentes nabagadauva	45
2.9 Compostos fenólicos presentes na uva e derivados como suco de uva	47
2.9.1 Antocianinas	48
2.9.2 Flavanóis	50
2.9.3 Flavonóis	52
2.9.4 Estilbenos.....	52
2.9.5 Ácidos Fenólicos	53
2.10 Principais atividades biológicas associadas aos compostos fenólicos presentes nos sucos de uva	54
CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE MACERAÇÃO EM PARAMETROS DE QUALIDADE, COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ÁCIDOS ORGÂNICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SUCOS DE UVA ELABORADOS NO NORDESTE DO BRASIL.....	57
3.1 INTRODUÇÃO	57
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	60
3.2.1 Locais de execução	60

3.2.2 Características do vinhedo e maturação das uvas	60
3.2.3 Tratamentos e análise estatística	60
3.2.4 Padrões e Reagentes	61
3.2.5 Elaboração dos sucos	62
3.2.6 Análises físico-químicas clássicas	63
3.2.6.1 pH	63
3.2.6.2 Sólidos Solúveis (SS)	63
3.2.6.3 Acidez titulável (AT)	66
3.2.6.4 Relação SS/AT	67
3.2.6.5 Rendimento de suco	67
3.2.6.6 Índices de cor	67
3.2.6.7 Turbidez	67
3.2.7 Determinação de fenólicos totais	68
3.2.8 Determinação de antocianinas monoméricas totais	68
3.2.9 Análises de ácidos orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	69
3.2.10 Compostos fenólicos por HPLC-DAD-DF	69
3.2.11 Determinação da atividade antioxidante DPPH e ABTS	74
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.3.1 Análises clássicas e rendimento de suco	75
3.3.2 Ácidos orgânicos por HPLC	78
3.3.3 Fenólicos totais e Flavanóis	78
3.3.4 Flavonóis e <i>trans</i> -resveratrol	83
3.3.5 Antocianinas	85
3.3.6 Ácidos Fenólicos	88
3.3.7 Atividade antioxidante por DPPH e ABTS	88
3.3.8 Análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot” ...	91
3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	95

CAPÍTULO IV – COMPOSTOS FENÓLICOS, ÁCIDOS ORGÂNICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS DE UVAS PRODUZIDOS COM NOVAS VARIEDADES BRASILEIRAS PLANTADAS NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL

4.1 INTRODUÇÃO	97
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	100
4.2.2 Tratamentos e análise estatística	100
4.2.3 Padrões e Reagentes	101
4.2.4 Elaboração dos sucos	102
4.2.5 Análises físico-químicas clássicas	106
4.2.5.1 pH	106

4.2.5.2 Sólidos Solúveis (SS)	106
4.2.5.3 Acidez titulável (AT)	107
4.2.5.4 Relação SS/AT	107
4.2.5.5 Índices de cor	107
4.2.6 Determinação de fenólicos totais	108
4.2.7 Determinação das antocianinas monoméricas totais	108
4.2.8 Análises de ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	109
4.2.9 Compostos fenólicos por HPLC	109
4.2.10 Determinação da atividade antioxidante com DPPH e ABTS	111
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	112
4.3.1 Análises de parâmetros clássicos	112
4.3.2 Ácidos orgânicos por HPLC	113
4.3.3 Fenólicos totais e flavanóis	116
4.3.4 Flavonóis e <i>trans</i> -resveratrol	119
4.3.5 Ácidos fenólicos	124
4.3.6 Antocianinas	126
4.3.7 Atividade antioxidante DPPH e ABTS	129
4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	133
5. CONCLUSÃO	135
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
ANEXOS	151

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

A produção de suco de uva no Brasil tem aumentado a cada ano, pois apenas no Rio Grande do Sul, maior estado produtor de uvas e derivados, a produção de suco integral passou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 220 milhões de litros em 2012 (MELLO, 2013). Esses números são bastante relevantes, pois a produção mundial de sucos de uva está estimada entre 11 e 12 milhões de hectolitros, onde os principais países produtores e consumidores desta bebida são os Estados Unidos da América, Brasil e Espanha (OIV, 2013). Outras regiões brasileiras têm investido na produção de Sucos de uva. No estado de Santa Catarina em 2012 foram elaborados 4,9 milhões de litros (MELLO, 2013).

A região do Vale Submédio São Francisco (VSF), localizada no Nordeste do Brasil entre os paralelos 8 e 9°S e longitude 40W, tem recebido destaque no cenário vitivinícola por ser o segundo maior produtor de uvas e vinhos finos do Brasil e representar mais de 95% da exportação nacional de uvas de mesa (MELLO, 2012). Onde recentemente empresas têm investido na produção de sucos de uva em escala comercial.

Entretanto, a viticultura praticada no VSF “Viticultura Tropical” é diferente das demais regiões do Brasil e regiões tradicionais do mundo, pois a mesma videira produz duas safras por ano. Por se tratar de uma região de clima quente, com alta luminosidade e água em abundância para a irrigação, as empresas vinícolas fazem um planejamento da época em que pretendem colher a uva e realizam a poda de produção das videiras em diferentes períodos, adotando um sistema de escalonamento para se ter colheitas distribuídas ao longo do mês, e em vários meses do ano (TEIXEIRA et al., 2007; CAMARGO et al., 2011). Desta forma são produzidos sucos de uva durante todo o ano.

As uvas destinadas à produção de suco plantadas no Vale do Submédio São Francisco são as variedades “Isabel Precoce” (*Vitis labrusca*) e os híbridos “BRS Cora” e “BRS Violeta”, e em fase experimental, o híbrido “BRS Magna”, que fazem parte das novas cultivares brasileiras desenvolvidas no Centro Nacional de Pesquisas de Uva e Vinho – Bento Gonçalves RS para a melhoria da qualidade do suco de uva (RIBEIRO et al., 2012; CAMARGO et al., 2011; RITSCHER et al., 2012). A “Isabel Precoce” é originária de uma mutação somática espontânea da cultivar “Isabel”, que apresenta boa

produtividade, maturação antecipada e as mesmas características de sua cultivar de origem (CAMARGO, 2004). Já as cultivares híbridas “BRS Cora” e “BRS Violeta” são utilizadas na melhoria de cor em sucos com deficiência nesse atributo, onde se recomenda a sua mistura na proporção de 15 a 20% da formulação do suco (CAMARGO e MAIA, 2004; CAMARGO et al., 2005). O híbrido “BRS Magna” é uma cultivar de ampla adaptação climática, destinado à elaboração de sucos com boa coloração e aroma típico de *Vitis labrusca* (RITSCHLE et al., 2012). As primeiras empresas produtoras de sucos em escala comercial no Vale do São Francisco têm utilizado os cortes (misturas) de “Isabel Precoce” 80% com “BRS Cora” ou “BRS Violeta” 20% para obtenção de produtos com boa intensidade de cor.

Fatores como a variedade de uva, tratos culturais da videira e técnicas de processamento tem exercido significativa influência na composição do suco (TALCOTT e LEE, 2002; FULEKI e RICARDO-SILVA, 2003; DANIEL et al., 2007; LEBLAC et al., 2008; IYER et al., 2010). Dentro das técnicas de processamento variáveis como temperatura, condições de maceração e uso de preparado enzimático tem influenciado sobre a composição físico-química, compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento dos sucos (TALCOTT e LEE, 2002; CABRERA et al., 2009; LEBLAC et al., 2008; MOJSOV et al., 2011).

Em escala industrial de processo, as principais técnicas de elaboração de sucos são o processo “Hot press” (HP) e “Cold press” (CP), onde o suco é obtido por prensagem da uva aquecida (HP) ou em temperatura ambiente (CP), sendo esta, a principal diferença entre as duas técnicas (MORRIS, 1998; MORRIS e STRIEGLER, 2005). Após a prensagem da uva, o suco ainda turvo é submetido a tratamentos de clarificação para remoção dos sólidos suspensos, normalmente com uso de filtros rotativos à vácuo ou centrifugas industriais, para posteriormente ser estabilizado, pasteurizado e engarrafado a quente (MORRIS, 1998; IYER et al., 2010). Outra técnica de processo utilizada é o processo “Hot Break” (HB), onde as uvas são esmagadas e aquecidas a temperaturas maiores que 75°C, por um tempo curto, para desativar rapidamente as enzimas polifenoloxidasas, sendo em seguida resfriado até 60°C para se adicionar enzima pectinase, seguindo-se a partir daí os mesmos procedimentos utilizados no processo HP (RIZZON e MENEGUZZO, 2007; IYER et al., 2010).

No processo adotado pelas primeiras empresas do VSF a linha industrial de processo possui características diferentes das descritas

nos processos HP, CP e HB, sendo as principais, a realização de maceração por circulação do mosto através do bagaço retido no interior do tanque de maceração; a filtração do suco ser realizada no próprio bagaço da uva contido no tanque de maceração resultando num suco drenado com boa limpidez sem uso de filtros ou centrífugas industriais; e a não realização da prensagem do bagaço, onde o suco é extraído por sucção com uso de bomba, ficando o bagaço da uva retido no interior do tanque.

Na maioria dos processos industriais a condição de maceração durante a extração é determinante para composição e qualidade do suco, pois é nessa fase que se incorporam ao mosto os compostos presentes na película, como compostos fenólicos e aromáticos (IYER et al., 2010; CASCALES et al., 2012).

O aquecimento da uva esmagada tem por objetivo principal promover a plasmólise da membrana e rupturas na parede celular do fruto facilitando a liberação do líquido e de antocianinas responsáveis pela cor. A adição de preparados enzimáticos a base de enzimas pectinases tem a finalidade de hidrolisar a pectina presente na lamela média e quebrar a parede celular, das películas da uva, facilitando a liberação dos compostos das cascas para o mosto, assim como promover a redução da viscosidade do suco, aumento no rendimento e facilitar os processos de clarificação (GOMES et al., 2007; LANDBO e MEYER, 2004).

Entretanto, a influência da adição de preparado enzimático na obtenção do suco pode resultar em alterações que vão além das mais reportadas na literatura, pois em trabalho realizado por Arnous e Meyer (2010) foram observadas alterações químicas como a degradação de antocianinas monoméricas e aumento da concentração de ácidos fenólicos em extratos de películas de uvas. Vale ressaltar que os diversos preparados enzimáticos comerciais apresentam outras enzimas, além das pectinases, como celulases, poligalacturonase, pectinametilsterase e galactosidases (LANDBO e MEYER, 2004; ARNOUS e MEYER, 2010).

1.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os sucos das novas variedades brasileiras de uvas plantadas no Nordeste do Brasil e avaliar diferentes condições extração do suco em processo industrial utilizado por empresas da região, em relação a parâmetros clássicos de qualidade, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e atividade antioxidante.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Caracterizar os sucos quanto à flavanóis, flavonóis, antocianinas, ácidos fenólicos, *trans*-resveratrol e ácidos orgânicos nos sucos das novas variedades de uvas brasileiras plantadas no Nordeste do Brasil;
- 2) Avaliar a influência dos cortes comerciais (misturas) de uvas utilizadas por empresas da região nas características de qualidade, composição fenólica e atividade antioxidante dos sucos produzidos;
- 3) Medir a atividade antioxidante dos sucos elaborados com as novas cultivares brasileiras e correlacionar os valores obtidos com os principais grupos de compostos fenólicos analisados;
- 4) Avaliar a influência dos fatores temperatura e dose de preparado enzimático a base de pectinase, empregados durante a maceração das uvas, sobre os parâmetros de qualidade do processo como rendimento, cor e turbidez dos sucos produzidos;
- 5) Avaliar a influência da temperatura e dose de preparado enzimático sobre os principais grupos de compostos fenólicos, ácidos orgânicos e atividade antioxidante dos sucos produzidos;
- 6) Obter a condição ótima de maceração da uva para a maior extração de compostos fenólicos bioativos para o suco.

CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico da elaboração de suco de uva

Técnicas de elaboração de derivados não alcoólicos são antigas. Gregos e romanos se utilizavam do calor para concentrar o mosto da uva e permitir a sua conservação. O mosto concentrado era utilizado como substituto do mel, para adoçar vinhos e diminuir sua aspereza, na preparação de doces e como bebida após a sua reconstituição com água. O suco de uva só passou a ser conservado sob a forma integral após estudos de Louis Pasteur (1822-1895), o qual identificou a natureza biológica das fermentações e estabeleceu os primeiros princípios do processo que ficou conhecido como pasteurização (MARZAROTTO, 2005).

O processamento do suco iniciou nos Estados Unidos pelo Dr. Thomas Welch, dentista de Vineland – New Jersey, no ano de 1869. Ele colheu uvas Concord, cozinhou as uvas por alguns minutos, extraiu o suco utilizando-se de bolsas de pano e depositou em garrafas fechando-as rolhas de cortiça e cera. Aplicando a teoria desenvolvida por Louis Pasteur, o doutor Welch ferveu as garrafas em recipiente com água esperando “matar” as leveduras presentes e evitar a fermentação. A técnica de conservação utilizada foi um sucesso e abriu o caminho para a indústria do engarrafamento de sucos na América (MORRIS, 1998).

Os primeiros registros da produção de suco de uva no Brasil reportam ao início do século 20. No atual município de Monte Belo (RS), o estabelecimento Oreste Franzoni & Cia, com produtos premiados em Turim (Itália) ainda no ano de 1911, produzia o “Succo de Uvas Franzoni”. Em 1965, identificavam-se no Brasil dezenove indústrias produtoras de suco, sendo que dez, situavam-se no Estado do Rio Grande do Sul. No ano de 1973 as boas perspectivas do mercado nacional e internacional promoveram o reaparelhamento e a retomada da produção em maior escala por diversas empresas gaúchas, também estimuladas pela existência de matéria-prima em quantidade e qualidade necessárias (MARZAROTTO, 2005).

A produção de suco de uva no Brasil tem aumentado a cada ano. No Rio Grande do Sul, maior estado produtor de uvas e derivados, a produção passou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 220 milhões de litros em 2012 (MELLO, 2013). Esses números são bastante

relevantes, pois segundo a OIV (2013) a produção mundial de sucos de uva está estimada entre 11 e 12 milhões de hectolitros, onde os principais países produtores e consumidores desta bebida são os Estados Unidos da América, Brasil e Espanha.

Outras regiões brasileiras têm investido na produção de Sucos de uvas. No estado de Santa Catarina em 2012 foram elaborados 4,9 milhões de litros (MELLO, 2013), e no Vale do Submédio São Francisco no Nordeste do Brasil empresas intensificaram o plantio de variedades destinadas ao processamento parasuono ano de 2009, já se tendo hoje sucos comerciais nesta região.

2.2 Definição e legislação brasileira para suco de uva

A legislação brasileira que regulamenta a fixação dos padrões de identidade e qualidade para o suco de uva é a Instrução Normativa n°. 01 de 7 de janeiro de 2000, que define suco de uva como: líquido límpido ou turvo extraído da uva por meio de processos tecnológicos adequados. Deverá ser uma bebida não fermentada, de cor, aroma e sabor característicos, devendo ser submetido a tratamento que assegure sua apresentação e conservação até o momento do consumo.

Quanto à cor o suco de uva pode ser classificado como tinto, rosado e branco, e quanto ao processamento e constituição, pode ser classificado em: *Suco de uva integral*– suco apresentado na sua concentração e composição natural, límpido ou turvo, não sendo permitida a adição de outro tipo de açúcar. *Suco de uva concentrado*– é o suco parcialmente desidratado, com no mínimo 65 °Brix em sólidos solúveis totais. *Suco de uva desidratado*– suco apresentado na forma sólida, obtido pela desidratação do suco, com teor máximo de 3% de umidade. *Suco de uva adoçado*– que é a designação dada ao suco adicionado de açúcar. E, *suco de uva reprocessado*– suco obtido pela diluição do concentrado ou desidratado, até sua concentração natural.

Em relação as suas características físico-químicas o suco de uva integral deverá possuir um teor mínimo de 14% de sólidos solúveis (grau Brix), acidez titulável mínima de 0,41% expressa como ácido tartárico, açúcares totais naturais da uva em no máximo 20%, teor alcoólico máximo de 0,5% v/v e acidez volátil máxima de 0,5 g L⁻¹ expressa como ácido acético (BRASIL, 2000).

2.3 Matéria-prima para a produção de sucos de uva

As variedades destinadas à produção de suco de uva devem reunir algumas características básicas, entre as quais se destacam o bom rendimento do mosto, adequada relação doce/ácidez, aroma e sabor agradável, bom nível de maturação e sanidade. A manutenção do frescor do sabor no decorrer do processo de produção e conservação se constitui numa das principais qualidades da uva para suco (MARZAROTTO, 2005). A escolha da cultivar para elaboração do suco deve considerar também o gosto do consumidor, pois a diversidade de hábitos faz com que em cada região sejam utilizadas uvas com características muito distintas, como aquelas do grupo das americanas (*Vitis labrusca*), híbridas e européias (*Vitis vinifera*) (RIZZON e MENEGUZZO, 2007).

Em muitos países da Europa, o suco é elaborado com uvas *Vitis vinifera* (SOYER et al., 2003). Nos Estados Unidos as principais cultivares utilizadas para elaboração de suco são, principalmente, a “Concord”, e cultivares Muscadíneas (*Vitis rotundifolia*) (MORRIS, 1998; IYER et al., 2010). Já os sucos de uvas brasileiros são elaborados com uvas americanas e híbridas, sendo as cultivares “Isabel”, “Bordô” e “Concord”, todas *Vitis labrusca*, a base para o suco brasileiro (RIZZON e MIELE, 2012).

A cultivar “Isabel”, pela grande disponibilidade de matéria-prima, é a responsável pelo maior volume de suco produzido no Brasil, no entanto, tem coloração e teor de açúcar abaixo do desejável. A fim de suprir tal deficiência, foram lançadas nos últimos anos cultivares como a ‘BRS Rúbea’, ‘BRS Cora’, ‘BRS Violeta’ e ‘BRS Carmem’, com alto teor de açúcar e cor, podendo ser utilizadas na elaboração de sucos puros ou combinadas com variedades tradicionais, como ‘Isabel’, nos chamados “cortes”, com o intuito de se melhorar a qualidade (CAMARGO et al., 2011).

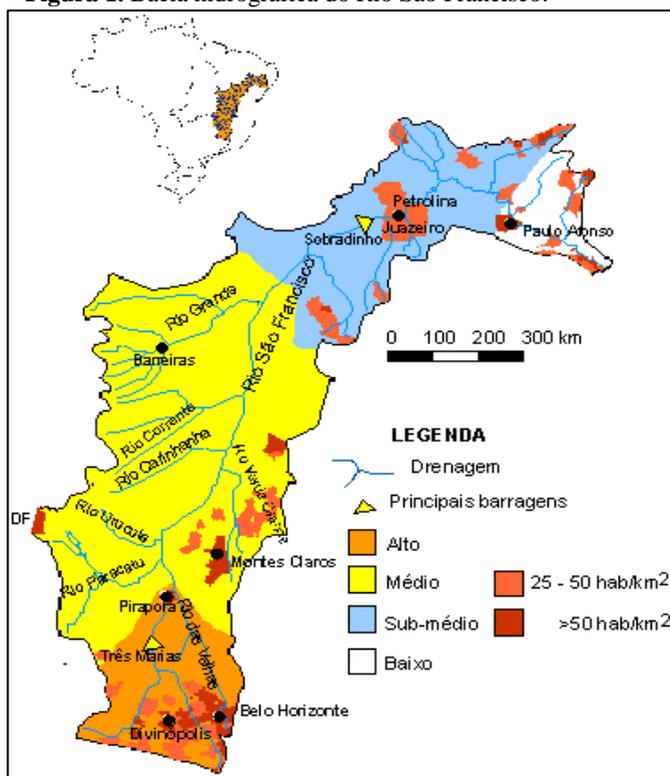
2.4 O Submédio São Francisco

A bacia hidrográfica do rio São Francisco, devido a sua extensão e aos diferentes ambientes percorridos está dividida em quatro regiões: Alto, Médio, Submédio e Baixo São Francisco, de acordo com o caminho que o rio percorre desde a nascente até a foz, conforme apresentado na Figura 1 (CBHSF, 2010).

O Submédio São Francisco está localizado entre os paralelos 8 e 9° do Hemisfério Sul, cujo clima, BSh segundo classificação Köppen, é caracterizado como tropical semiárido, com temperatura média anual em torno dos 26°C, pluviosidade de aproximadamente 500 mm e altitude de 330 m em relação ao nível do mar (TEIXEIRA e AZEVEDO, 1996).

Segundo dados da Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), do ano de 2010, existem cerca de 120 mil hectares irrigados no Submédio do rio São Francisco onde são produzidas mais de um milhão de toneladas de frutas, com destaques para a manga que ocupa 23 mil hectares e a uva com 12 mil hectares (CODEVASF, 2013). Esta região responde pela segunda maior produção de uvas e vinhos finos do Brasil, sendo o maior exportador nacional de uvas de mesa (MELLO, 2012).

Figura 1. Bacia hidrográfica do Rio São Francisco.



Fonte: (CBHVSF, 2010).

Um dos fatores mais importantes, que diferencia a região do Vale do Submédio São Francisco de outras regiões tradicionais no mundo, é a capacidade de uma planta produzir mais de uma safra por ano. Por se tratar de uma região de clima quente, com alta luminosidade e água em abundância para a irrigação, as empresas vinícolas fazem um planejamento da época em que pretendem colher, e realizam a poda de produção das videiras em diferentes períodos, adotando o sistema de escalonamento para a poda dos lotes. O que proporciona períodos diferentes de colheita com características distintas. Este fato permite que as instalações sejam menores, e utilizadas ao longo do ano, reduzindo a necessidade de estoques. Entre uma safra e outra a irrigação é reduzida para 15 a 20% do coeficiente da cultura, nos períodos secos, por cerca de 20 a 30 dias (este corresponde ao período de inverno em regiões temperadas), em seguida, é realizada a poda e a aplicação de cianamida hidrogenada para se homogeneizar a brotação. Então é aumentada a irrigação para 100% do coeficiente de cultura e um novo ciclo de produção é iniciado (PEREIRA, 2010).

2.5 Principais variedades de uva para elaboração de suco no Submédio São Francisco

A área comercialmente plantada para elaboração de suco no Submédio São Francisco é composta por variedades pertencentes às novas cultivares brasileiras de uva para produção de suco, sendo representada por três cultivares: “Isabel Precoce”, “BRS Cora” e “BRS Violeta” (CAMARGO et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012). Algumas fazendas, em parceria com Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA – Uva e Vinho) têm avaliado outrascultivares como a “BRS Magna”, a fim de validarem o seu plantio no clima tropical da região.

A cultivar “Isabel Precoce”(Figura 2a) é uma mutação somática espontânea da cultivar “Isabel”, ocorrida no município de Farroupilha – RS, que possui as mesmas características da cultivar de origem, com a particularidade de possuir a sua maturação antecipada. Foi lançada em 2003 como uma alternativa para à elaboração de vinho de mesa e suco de uva. Quando cultivada em regiões tropicais apresenta uma antecipação aproximada de colheita de 33 dias em relação a “Isabel”. Sua baga é preta, e possui produtividade na faixa de 25 a 30 toneladas

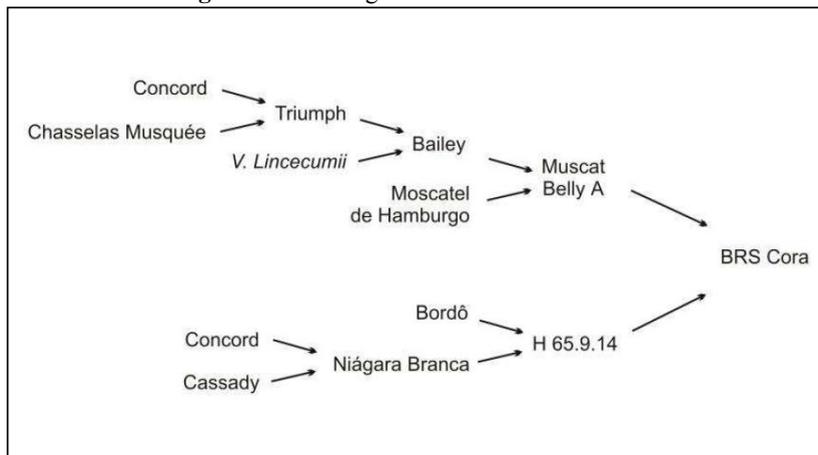
por hectare / safra (CAMARGO, 2004). Sendo esta a principal cultivar plantada em termos de área e volume de produção para elaboração de sucos no VSF.

A cultivar híbrida “BRS Cora” (Figura 2b) é oriunda do cruzamento Muscat Belly A x H. 65.9.14 (Figura 3) realizado em 1992 na Embrapa Uva e Vinho, e lançada em 2004, como uma cultivar nacional de uva para suco, adaptada a climas tropicais. Sua baga apresenta tamanho médio, elíptica larga, cor preto-azulada, película espessa e resistente, polpa incolor, ligeiramente firme, e sabor “aframboesado”(CAMARGO e MAIA, 2004).

Figura 2. Cachos das cultivares “Isabel Precoce” (a) e “BRS Cora” (b).



Fonte: (CAMARGO, 2004; CAMARGO e MAIA, 2004).

Figura 3. Genealogia da cultivar “BRS Cora”.

Fonte: (CAMARGO e MAIA, 2004).

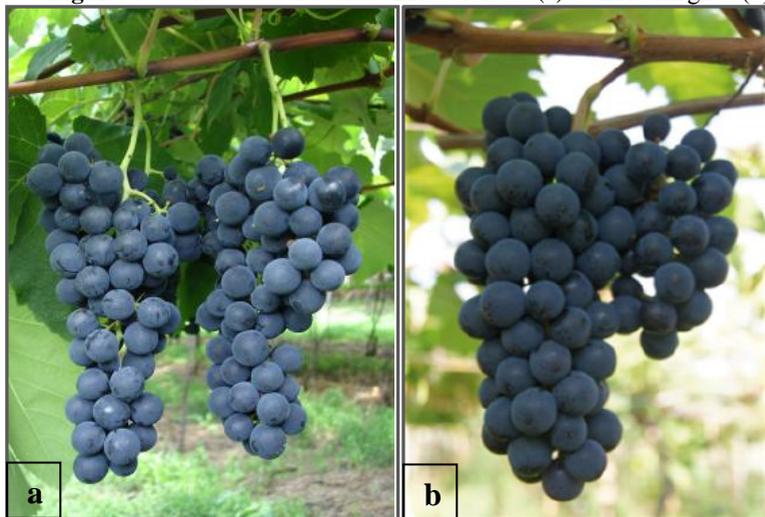
Em plena maturação a “BRS Cora” apresenta sabor agradável, típico de uva *Vitis labrusca*, e mosto intensamente colorido. Por originar sucos de coloração intensa, pode ser utilizada na melhoria da coloração de sucos deficientes nesse atributo (CAMARGO e MAIA, 2004).

A cultivar híbrida “BRS Violeta”(Figura 4a) foi obtida a partir do cruzamento ‘BRS Rúbea’ x ‘IAC 1398-21’ (Figura 5), realizado em 1999 na Embrapa Uva e Vinho, e lançada em 2005, destinada a elaboração de suco e vinho de mesa. Adaptou-se bem na região Sul do Brasil e em climas temperado, subtropical e tropical. Produz aproximadamente 25 a 30 toneladas de uva por hectare/safra. Seu cacho e bagas são de tamanho médio, com cor preto-azulada, película espessa e resistente, polpa colorida, fundente e sabor “aframboesado”. Devido ao seu suco possuir elevada intensidade de cor também pode ser utilizada para a melhoria de coloração de sucos. É uma cultivar híbrida complexa que apresenta as características gerais das uvas labruscas, seja pela morfologia geral da planta, seja pelas características de sabor da uva. (CAMARGO et al., 2005).

A cultivar híbrida “BRS Magna” (Figura 4b) é uma nova variedade que foi obtida a partir do cruzamento entre ‘BRS Rúbea’ e ‘IAC 1398-21’ (“Traviú”), realizado em 1999 na Embrapa Uva e Vinho, e lançada em 2012, como uma cultivar de uva tinta para elaboração de suco com ampla adaptação climática, sendo recomendado para cultivo

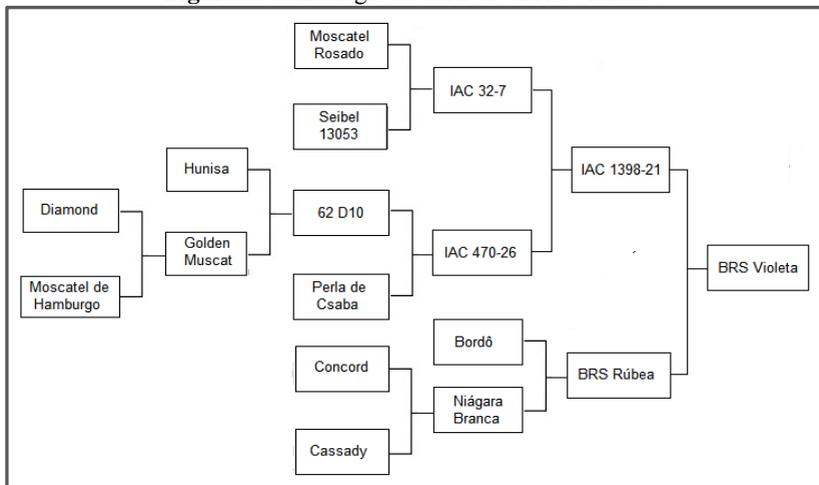
em regiões de clima tropical e temperado. Destaca-se pelo sabor típico de *Vitis labrusca*, produzindo um suco de cor violácea intensa, com alto conteúdo de açúcares e baixa acidez (RITSCHER et al., 2012).

Figura 4. Cachos das cultivares “BRS Violeta” (a) e “BRS Magna” (b).



Fonte: (CAMARGO et al., 2005; RITSCHER et al., 2012).

Figura 5. Genealogia da cultivar “BRS Violeta”.



Fonte: (CAMARGO et al., 2005).

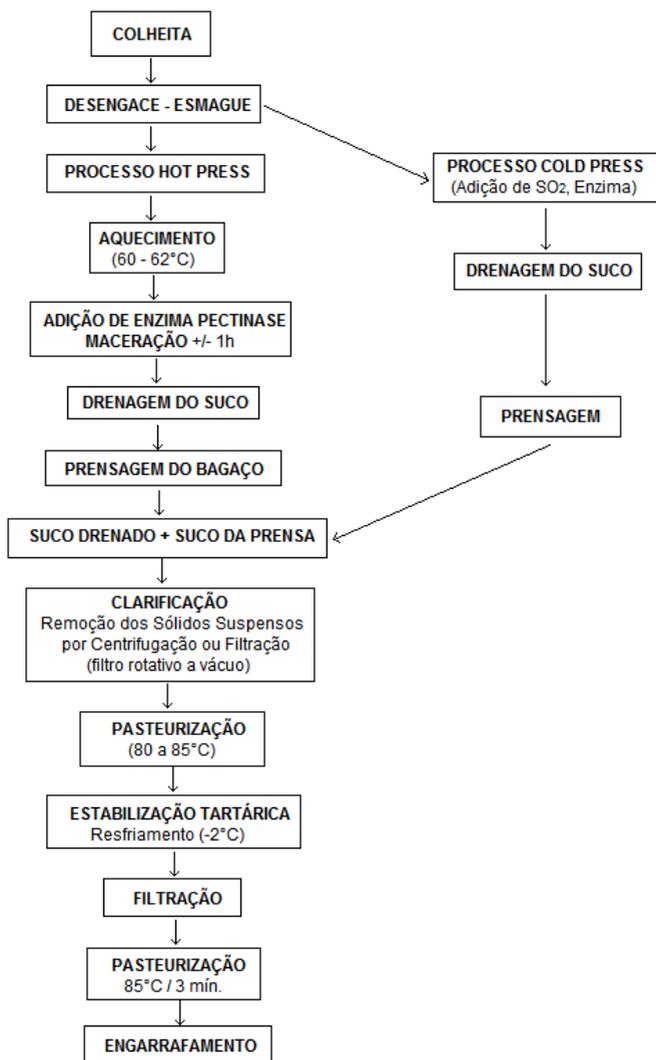
2.6 Técnicas de processamento do suco de uva em nível industrial

Em escala industrial de processo, as técnicas de elaboração de sucos se dividem basicamente em “Hot press” (HP) e “Cold press” (CP), onde o suco é obtido por prensagem da uva aquecida (HP) ou em temperatura ambiente ou refrigerada (CP), sendo esta, a principal diferença entre as duas técnicas (Figura 6) (MORRIS, 1998; MORRIS e STRIEGLER, 2005).

2.6.1 Processo de extração com emprego de calor “Hot press”

No processo HP a uva é desengaçada e esmagada, aquecida a temperaturas que variam de 60 a 62°C, e adicionada de enzimas pectinases, a qual realizará a degradação da pectina e facilitará na separação do suco. O aquecimento da uva esmagada tem o objetivo principal de facilitar a extração das substâncias existentes no interior das células da película da uva. A uva aquecida é depositada em tanques de aço inoxidável dotados de paletas de agitação para se facilitar a extração dos compostos contidos nas películas da uva, etapa conhecida como maceração. O tempo de maceração varia de 30 a 90 minutos, de acordo com a cultivar, intensidade de agitação, temperatura e intensidade de cor desejada.

Figura 6. Etapas básicas dos processos de elaboração de suco de uva.



Fonte: Adaptado de (MORRIS, 1998).

Após a maceração o suco é drenado, o bagaço é prensado, e o suco da drenagem mais o suco da prensagem são clarificados para remoção dos sólidos suspensos. Os principais equipamentos utilizados na clarificação são centrífugas industriais e filtros rotativos a vácuo (MORRIS e STRIEGLER, 2005).

O suco clarificado é então pasteurizado em 80 a 85°C e resfriado a temperatura de -2,2°C por tempos que variam entre seis e oito dias para que ocorra a precipitação dos cristais de bitartarato de potássio ou tartarato neutro de cálcio (estabilização tartárica). Após a estabilização tartárica o suco é filtrado pasteurizado novamente a 85°C por 3 minutos, sendo engarrafado e fechado a quente, sendo em seguida resfriado e rotulado (MORRIS, 1998; MORRIS e STRIEGLER, 2005).

Outra técnica de processo com emprego de calor é uma derivação do processo HP, conhecido como processo “Hot Break” (HB), onde as uvas são esmagadas e aquecidas a temperaturas maiores que 75°C, normalmente entre 77 e 82°C, por um tempo curto, para desativar rapidamente as enzimas polifenoloxidasas (PPO), sendo em seguida resfriado até 60°C para se adicionar enzima pectinase, seguindo-se a partir daí os mesmos procedimentos utilizados no processo HP (MORRIS e STRIEGLER, 2005; IYER et al., 2010). O processo HB é equivalente ao método descrito por Rizzon e Miele (2007) utilizado no Brasil para produção de sucos de uva.

2.6.2 Processo de extração a frio “Cold press”

A diferença do processo “Cold press” para o “Hot press” é pequena, e se dá na forma de extração dos compostos da película para o mosto (maceração) que é realizada em temperatura ambiente (sem aquecimento) ou com a uva refrigerada. Após o esmague da uva adiciona-se SO₂, em dosagem suficiente para inibição da ação de enzimas oxidativas e microrganismos indesejáveis, e preparados enzimáticos a base de pectinases, a fim de degradar as estruturas das películas da uva facilitando a liberação dos compostos fenólicos para o suco. Após a maceração é feita a prensagem do bagaço e o suco seguirá as mesmas etapas descritas no processo HP (MORRIS e STRIEGLER, 2005; LEBLAC et al., 2008).

2.7 A maceração da uva no processamento do suco

A etapa de maceração é uma das mais importantes no processo de obtenção de sucos, pois é nessa fase que se incorpora no mosto da uva os compostos presentes na película, como antocianinas, taninos, compostos aromáticos, pectinas e outros, responsáveis pela cor, aroma, sabor e viscosidade do suco. Quando o processo de elaboração do suco é realizado por aquecimento e adição de preparado enzimático, a temperatura de maceração deverá ser mantida entre 50°C e 60 °C para favorecer a ação das enzimas pectolíticas na extração do mosto e da cor, permanecendo no tanque de maceração por 1 a 2 horas. Normalmente a quantidade de enzima aplicada varia de 2,0 a 4,0 g 100 L⁻¹ de mosto, porém a dose empregada depende da recomendação do fabricante da enzima (RIZZON e MENEGUZZO, 2007; MORRIS, 1998; MORRIS e STRIEGLER, 2005).

2.7.1 Preparados enzimáticos a base de pectinases utilizados na maceração de uvas

A concentração de pectina no mosto da uva varia de 0,5 a 3,0 g L⁻¹, dependendo da variedade, estágio de maturação e método de extração. Em determinados produtos agroindustriais, como as geleias, a presença da pectina é vantajosa, pois ela é responsável pela consistência do produto. Contudo, no caso da elaboração do suco de uva, a pectina dificulta a extração do mosto, interferindo em seu rendimento (RIZZON e MENEGUZZO, 2007). Com uso de enzimas para a degradação da pectina há um aumento no rendimento do suco em aproximadamente 5 a 6% (MORRIS, 1998; MOJOSOV et al., 2011).

A adição de preparados enzimáticos, a base de enzimas pectinases, tem as finalidades de hidrolisar a pectina presente na lamela média e quebra da parede celular das películas da uva, facilitando a liberação dos compostos das cascas para o mosto, redução da viscosidade do suco, aumento no rendimento, aumento da concentração de compostos fenólicos e aromáticos no suco, e diminuição da turbidez (GOMES et al., 2007; MOJOSOV et al., 2011; CASCALES et al., 2012).

Entretanto, a influência da adição dessas enzimas na obtenção do suco pode resultar em alterações que vão além das mais reportadas na literatura, pois em trabalho realizado por Arnous e Meyer (2010) foi

avaliada a influência de diversas formulações comerciais à base de pectinases e celulase na maceração das películas de uvas sendo observadas alterações químicas como a degradação de antocianinas monoméricas e aumento na concentração de ácidos fenólicos nos extratos.

Existem diversas formulações de preparados enzimáticos disponíveis comercialmente para a maceração de frutas (Tabela 1), onde a maioria deles é predominante de enzimas pectinases, mas quase todos possuem outras enzimas na sua composição como celulases (LANDBO e MEYER, 2004; ARNOUS e MEYER, 2010).

2.7.2 Influência do aquecimento da uva na obtenção dos sucos

Independente da constituição da uva, a tecnologia empregada na extração das substâncias presentes na película das uvas dará origem a importantes variações na composição química e sensorial do suco acabado, onde a temperatura de extração é um dos fatores tecnológicos mais importantes a serem considerados (MARZAROTTO, 2005).

Tabela 1. Características básicas de preparados comerciais à base de enzimas pectinases. Adaptado de (LANDBO e MEYER, 2004).

Preparado Comercial	Composição	Temp. ótima	Obtida de
Macer8 FJ ^b	Pectinaliase	40 - 50°C	<i>Aspergillus strain</i>
Pectinex Superpress ^c	Pectinatraneliminase, poligalacturonase, pectinaesterase, hemicelulase	55°C	<i>A. niger</i>
Pectinex BE ^c	Pectinaesterase, pectinaliase, poligalacturonase	Aprox. 50°C	<i>A. niger/A. aculeatus</i>
Pectinex Ultra SP-L ^c	Pectinase e hemicelulase	35°C	<i>A. aculeatus</i>
Rapidase BE Super ^d	Pectinase e hemicelulase	45 - 55°C	<i>A. niger</i>
Rohapect B5L ^e	Pectinases	45°C	<i>A. niger</i>
Rapidase EX Color ^d	Pectinases	40 - 55°C	<i>A. niger</i>
Klerzyme Color ^d	Pectinases e proteases	10 - 60°C	<i>A. niger</i>
Rapidase Vino Super ^d	Não informado	50 - 60°C	<i>A. niger</i>
Vinozyme G ^c	Pectinaliase, poligalacturonase, hemicelulase e celulase	Não informado	<i>A. niger</i>

Fabricantes: ^b Biocatalysts Pontypridd, UK.

^c Novozymes, Bagsværd, DK.

^d DSM Gist-Brocades Delft, NL.

^e Röhm Enzyme, Darmstadt, Germany.

O principal objetivo do aquecimento da uva esmagada é o de promover a plasmólise da membrana e rupturas na parede celular do fruto, o que irá facilitar a liberação do líquido e de compostos fenólicos presentes na película das uvas, como as antocianinas que são responsáveis pela cor do suco (GOMES et al., 2007).

Segundo Morris (1998) as temperaturas de extração de sucos de uva em processo de prensagem a quente (HP) não devem exceder os 65°C para que não haja perda de qualidade sensorial da bebida, sendo recomendadas temperaturas entre 60 e 63°C por tempos que variam de 30 a 60 minutos. No processo “Hot break” (HB) se utiliza temperaturas iniciais de aquecimento da uva acima de 75°C com a finalidade de inativar enzimas oxidásicas, por tempos de aproximadamente 15 segundos, sendo em seguida resfriado para 60°C para realização da maceração (MORRIS e STRIEGLER, 2005).

Em trabalho realizado por Iyer et al. (2010) foram comparados os sucos obtidos por maceração em 60°C durante 30 minutos (processo HP) e os obtidos com aquecimentos iniciais em 77 e 82°C seguido resfriamento para 60°C e maceração por 30 minutos (processo HB), onde não se observou diferença significativa nas concentrações de antocianinas monoméricas totais e fenólicos totais dos sucos obtidos pelas duas técnicas. Entretanto o pré-aquecimento da uva a 77 e 82°C no processo HB resultou num aumento de cinco a seis vezes do composto volátil *trans*-2-hexenal que é um dos compostos responsáveis pelo aroma herbáceo “vegetal” no suco, aroma indesejado.

Diversas temperaturas e tempos de maceração têm sido utilizados para a obtenção de sucos de uva. Em processo de elaboração de suco destinado a concentração, Copanoglu et al. (2013) realizaram a maceração da uva entre 40 e 50°C por tempo de aproximadamente 45 minutos. Cabrera et al. (2010) estudaram temperaturas de maceração entre 60 e 90°C por tempos de 30 a 90 minutos e concluíram que as maiores extrações de antocianinas totais e fenólicos totais se deu entre 70 e 80°C em 30 a 45 minutos, entretanto não foi avaliado a influência destas temperaturas sobre as propriedades organolépticas do suco.

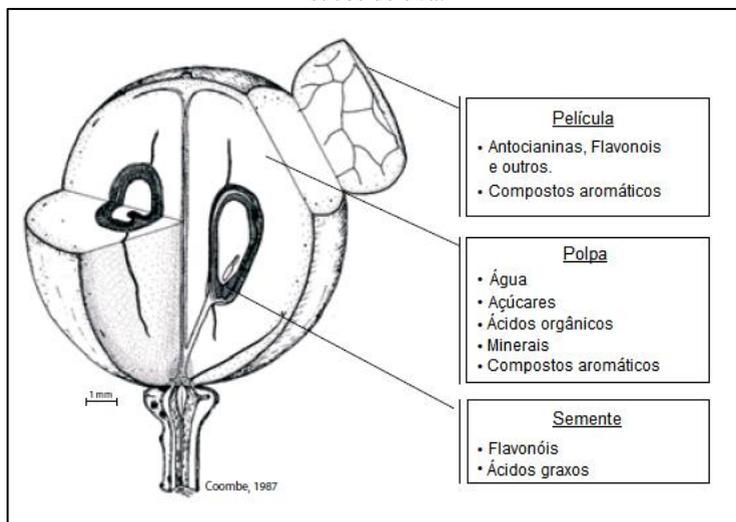
Em diversos estudos onde se compararam sucos obtidos por extração a frio (CP) com a extração a quente (HP) foi observado que com o aquecimento foram obtidos sucos com concentrações maiores de antocianinas, flavanóis, flavonóis e estilbenos (FULEKI e RICARDO-DASILVA, 2003; TALCOTT e LEE, 2002; LEBLAC et al., 2008).

2.8 Principais compostos presentes nabaga da uva

O suco de uva, de maneira simples, corresponde à polpa da baga de uva esmagada (mosto) juntamente com os compostos extraídos da película e, em menor, quantidade das sementes (Figura 7). Já o mosto da uva é constituído principalmente de água, e metabólitos como açúcares, ácidos orgânicos, minerais e compostos aromáticos (ALLET al., 2010). A água corresponde de 81 a 86% do mosto, a qual é extraída pelas raízes da videira e acumulada nas células da fruta (MARZAROTTO, 2005).

A concentração de açúcares no mosto da uva varia em função de vários fatores, tais como: o estágio de maturação, o clima, o solo e a variedade da uva. Os açúcares da uva são constituídos quase que exclusivamente de glicose e frutose, em proporções sensivelmente iguais no momento da plena maturação, e sacarose em pequenas quantidades (PEYNAUD, 1999).

Figura 7. Distribuição na baga da uva dos principais compostos de interesse em sucos de uva.



Fonte: Adaptado de (COOMBE, 1987).

Os ácidos tartárico e málico são os principais ácidos orgânicos no mosto das uvas, que também apresenta pequenas quantidades de

ácido cítrico, láctico e succínico. Altas concentrações dos ácidos succínico e láctico no mosto podem ser um indicativo da ocorrência de fermentações alcoólica e malolática (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

Outro ácido que pode ser encontrado em pequenas quantidades no mosto da uva é o ácido acético. Em altas concentrações indica deficiência no estado sanitário da uva ou a ocorrência de fermentações alcoólica, malolática ou da oxidação do etanol, sendo este o principal ácido indesejado em produtos derivados da uva como suco e vinhos (ALI et al., 2010).

Açúcares e ácidos orgânicos são importantes metabólitos primários que contribuem para o crescimento e desenvolvimento da videira e do fruto. As concentrações de açúcares e ácidos podem variar durante o desenvolvimento da baga e estádios de maturação. Os ácidos orgânicos são produzidos nas folhas da videira e nas bagas da uva, e começam a se acumular na baga nos estádios iniciais de desenvolvimento do fruto. A glicose e frutose são produzidas nas folhas e transportados para a baga onde há uma acumulação característica ao longo do tempo. Após o período de pintor “*veraison*” as concentrações de glicose e frutose aumenta consideravelmente na baga, enquanto que as dos ácidos começam a diminuir, com exceção de ácido tartárico, que permanece relativamente constante ao longo de amadurecimento (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

A qualidade organoléptica e estabilidade do suco dependem da composição e da concentração de açúcares e ácidos orgânicos presentes, originados da uva *in natura*. A relação entre açúcar e acidez é um dos parâmetros que mais exerce influência sobre a aceitação sensorial desta bebida (MORRIS, 1998; MARZAROTTO, 2005).

O principal mineral presente no mosto da uva é o potássio seguido, em ordem decrescente, pelo cálcio, magnésio e fósforo. E em pequenas quantidades estão presentes ferro, cobre, zinco, manganês, lítio e sódio (MARZAROTTO, 2005; RIZZON e MIELE, 2012).

Os compostos aromáticos do mosto da uva são formados no decorrer da maturação do fruto, e, ésteres voláteis, álcoois superiores e aldeídos são os principais grupos de compostos responsáveis pelo aroma. Entretanto, no mosto de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis rotundifolia* predomina a presença dos ésteres antronilato de metila e/ou orto-aminoacetofenona em altas quantidades, sendo estes responsáveis pelo aroma característico dos sucos de uvas americanas (MORRIS e STRIEGLER, 2005).

2.9 Compostos fenólicos presentes na uva e sucos de uva

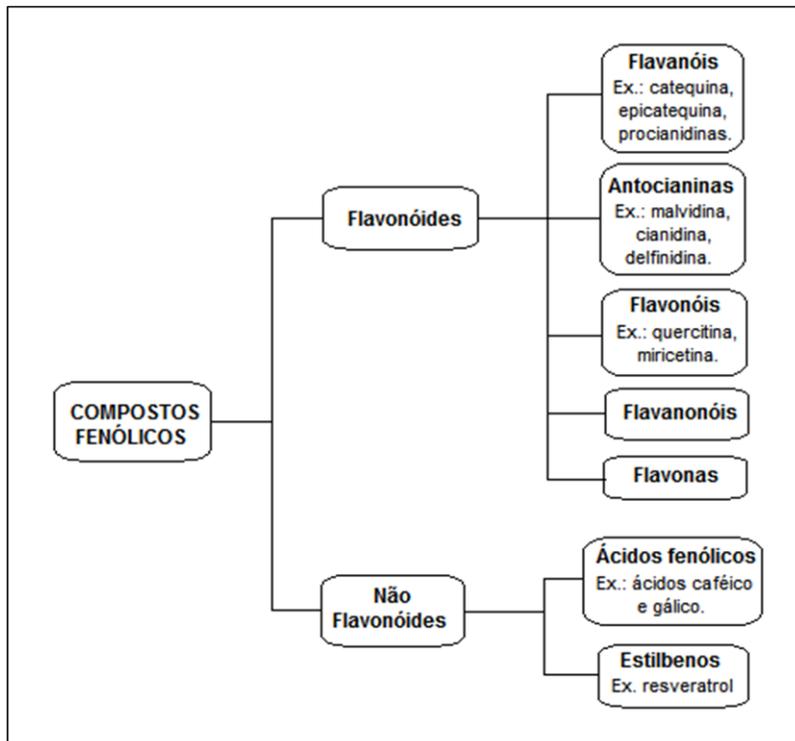
A composição fenólica do suco de uva é originada em sua maioria dos fenólicos extraídos das películas da uva, e em menor proporção dos extraídos das sementes (MORRIS e STRIEGLER, 2005).

De acordo com sua estrutura química, os polifenóis são classificados em flavonóides e não flavonóides. Os flavonóides são encontrados principalmente na película e sementes das uvas, e se dividem em vários subgrupos como flavanóis, flavonóis, antocianinas, flavanonóis e flavonas, conforme apresentado na Figura 8.

Os não flavonóides são representados principalmente pelos fenóis ácidos, que são derivados do ácido cinâmico e do ácido benzóico, formando duas séries de compostos (série cinâmica e série benzóica) (MANFROI, 2009).

Das antocianinas e flavonóis depende boa parte a qualidade organoléptica geral do suco, sendo as antocianinas responsáveis pela cor e os flavonóis, pela cor, sabor, adstringência e amargor (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

Figura8.Classificação dos principais grupos de compostos fenólicos presentes na uva e derivados como sucos.



Fonte: Adaptado de (FERNANDES, 2007).

2.9.1 Antocianinas

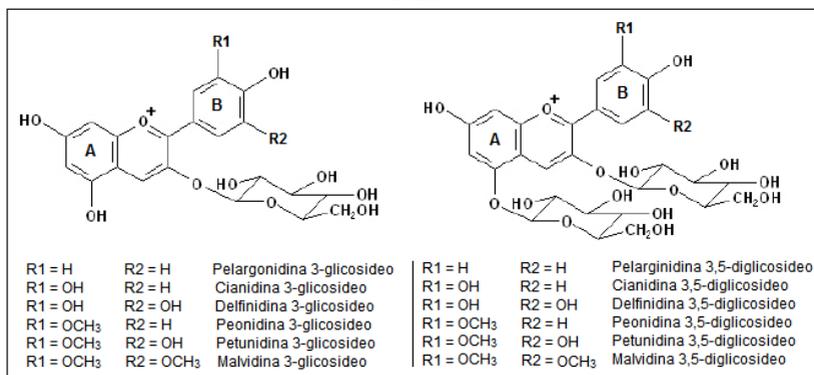
As antocianinas são compostos da família dos flavonóides, e são responsáveis pela enorme diversidade de cores das flores e dos frutos. A palavra antociana deriva do grego *anthos* (flor) e *kyanos* (azul). Além do papel na coloração, elas também têm outras funções nas plantas nomeadamente na proteção das radiações UV, na defesa contra patógenos e na polinização (MARTENSET al., 2003).

As antocianinas simples da uva são seis: cianidina, peonidina, pelargonidina, delphinidina, petunidina e malvidina, sendo a última, o principal pigmento encontrado nas uvastintas (JACKSON, 2008).

As antocianinas diferem entre si por terem diferentes

substituintes do anel B conforme mostrado na Figura 9. Denominam-se antocianinas, as antocianidinas glicosiladas.

Figura 9. Fórmulas estruturais das principais antocianinas simples presentes nas uvas.



Fonte: Adaptado de (JACKSON, 2008).

As espécies de uva *Vitis vinifera* apresentam apenas uma molécula de glicose na posição do carbono 3 formando as antocianinas 3-*O*-monoglicosídicas. Nas espécies *Vitis labrusca*, *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* híbridos, a molécula de glicose aparece nas posições 3 e 5 do carbono, formando as antocianinas 3,5-*O*-diglicosídicas, sendo este um fator importante na diferenciação de variedades (JÁNVÁRY et al., 2009).

A presença de diglicosídeos na uva se transmite, segundo as leis da genética, de modo dominante. Isto significa que o cruzamento entre uma cultivar vinifera e uma americana (*Vitis labrusca*, *Vitis riparia* e *Vitis rupestris*) conduz a híbridos de primeira geração que apresentam todas as antocianinas diglicosiladas. Entretanto, um novo cruzamento entre um híbrido de primeira geração e uma cultivar *Vitis vinifera* fará com que o caráter recessivo (ausência de diglicosídeos) possa ser encontrado num híbrido de segunda geração (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

As cultivares de uvas brancas normalmente não produzem antocianinas, já as tintas sintetizam e acumulam as antocianinas nas películas das bagas. A biossíntese das antocianinas é influenciada por

diferentes fatores tais como condições climáticas, temperatura, luz e práticas culturais (HEEt al., 2010).

A exposição das videiras à irradiação solar estimula a síntese e acúmulo de antocianinas nas bagas da uva, assim como temperaturas inferiores a 25°C. Já temperaturas acima dos 35°C estão associadas à degradação e inibição da síntese de antocianinas (TARARAet al., 2008).

A disponibilidade de água é um fator ambiental relevante, pois o estresse hídrico da videira durante a maturação da uva estimula a síntese e o acúmulo de antocianinas na baga (HEEt al., 2010).

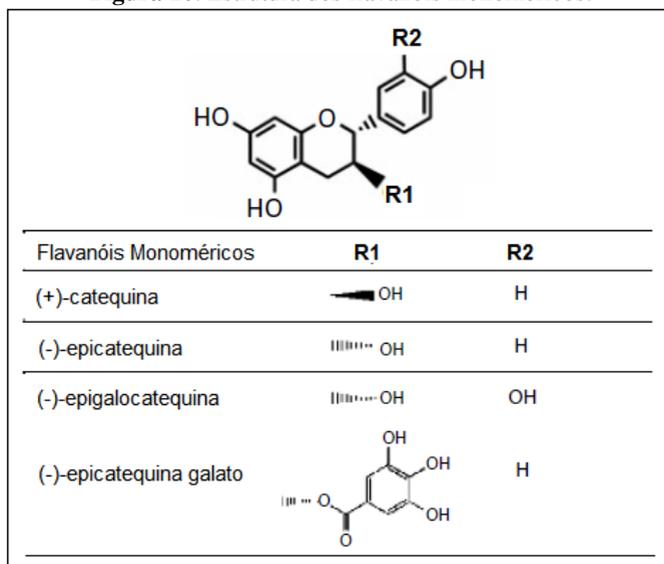
Em relação à concentração de antocianinas nos sucos de uvas, além dos fatores relativos à matéria-prima, a técnica de processamento exerce significativa influência sob sua composição, onde o emprego de calor é fundamental para uma maior extração das antocianinas nas películas (FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003; CABRERAet al., 2010).

2.9.2 Flavanóis

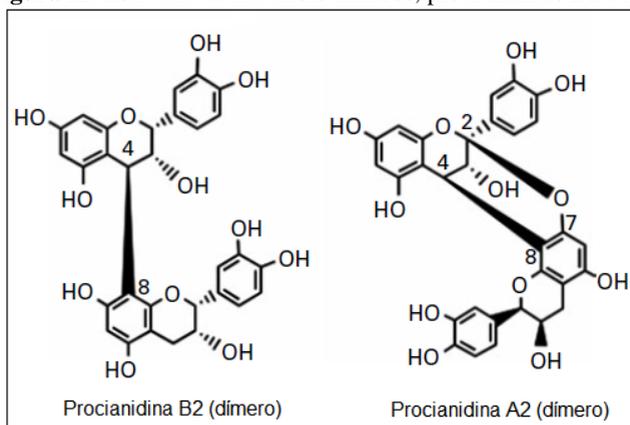
Os flavanóis são substâncias capazes de combinações estáveis com proteínas e outros polímeros vegetais tais como polissacarídeos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Segundo o grau de polimerização das estruturas químicas, os mesmos se dividem em: catequinas, procianidinas e prodelfinidinas. As catequinas são unidades flavanólicas básicas (monoméricas). As principais catequinas da uva são: (+)-catequina, (-)-epicatequina, epicatequina galato e epigallocatequina (Figura 10).

As procianidinas são dímeros resultantes da união de unidades monoméricas de flavanóis entre si por ligações C4-C8 (B1 a B4) ou C4-C6 (B5 a B8). As procianidinas do tipo A são dímeros que possuem mais de uma união interflavano C4-C8 ou C4-C6, e uma ligação éster entre os carbonos C5 ou C7 da unidade terminal e o carbono C2 da unidade superior (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003), conforme mostrado na Figura 11.

As procianidinas localizam-se principalmente nas partes sólidas das uvas. Entre variedades as diferenças nos teores de procianidinas são consideráveis, mas o seu perfil mantém-se relativamente homogêneo. Assim a procianidina B1 é normalmente mais abundante nas películas enquanto a B2 é mais abundante nas sementes (SILVA, 1995).

Figura 10. Estrutura dos flavanóis monoméricos.

Fonte: (KENNEDY, 2008).

Figura 11. Estrutura de flavanóis dímeros, procianidinas B2 e A2.

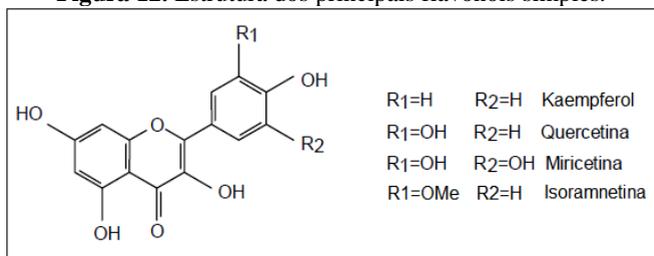
Fonte: Adaptado de (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

2.9.3 Flavonóis

Os flavonóis presentes nas uvas são representados, principalmente, pelo kaempferol, quercetina e miricetina, e pelas formas *O*-metiladas simples como a isoramnetina (Figura 12) (MAKRISet al., 2006).

É conhecido que a biossíntese envolvida na produção de flavonóis em tecidos de plantas é influenciada pela luz solar, e que uvas altamente expostas à luz do dia tem um aumento significativo da biossíntese de flavonóis (SPAYDet al., 2002).

Figura 12. Estrutura dos principais flavonóis simples.



Fonte: Adaptado de (MAKRISet al., 2006).

2.9.4 Estilbenos

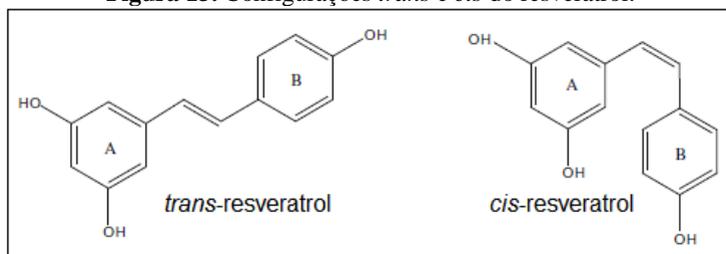
Os estilbenos são uma classe de compostos fenólicos não-flavonóides que tem recebido atenção por seus efeitos valiosos à saúde. As uvas e os vinhos são a sua principal fonte, mas a sua concentração é relativamente baixa em comparação com outros compostos fenólicos. O resveratrol é o principal estilbeno presente nas uvas, que também podem conter estilbenos oligoméricos e poliméricos como as viniferinas (ALI et al., 2010).

O resveratrol é um metabólito secundário encontrado em folhas de videiras, caules e frutos (PASTRANA-BONILLA et al., 2003). É uma fitoalexina sintetizada na casca da uva como resposta ao estresse causado pelo ataque fúngico, dano mecânico ou por irradiação de luz ultravioleta. O resveratrol é sintetizado naturalmente pela planta sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) e *cis*-resveratrol (*cis*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) (Figura 13). O isômero

trans-resveratrol é convertido para *cis*-resveratrol em presença da luz visível, pois esta forma é mais estável (SAUTTER et al., 2005).

A quantidade de resveratrol presente em sucos de uva depende da quantidade encontrada na uva, mas fatores como clima, cultivar de uva e práticas enológicas também exercem influência na sua composição (ALI et al., 2010). O resveratrol não possui relação com a qualidade sensorial nem estabilidade dos sucos, mas o interesse nesse fenólico é pelos relevantes benefícios associados à saúde devido ao seu consumo (XIA et al., 2010).

Figura 13. Configurações *trans* e *cis* do resveratrol.

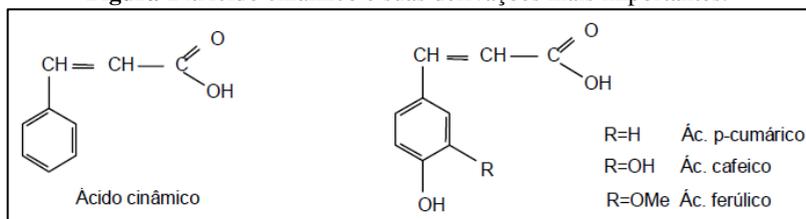


Fonte: (ALI et al., 2010).

2.9.5 Ácidos Fenólicos

Os fenóis ácidos são divididos em benzóicos e cinâmicos. Nas uvas, os ácidos fenólicos são principalmente os ácidos hidroxicinâmicos que se encontram nos vacúolos das células das películas e polpas, sob a forma de ésteres tartáricos (CHEYNIER et al., 1998).

Dos ácidos derivados do ácido benzóico, os mais importantes são os ácidos vanílico, siríngico e salicílico, que aparecem ligados às paredes celulares e, principalmente, o ácido gálico que se encontra sob a forma de éster dos flavanóis. Outros ácidos benzóicos existentes em menor quantidade são o protocatéquico, o gentísico, e o *p*-hidroxibenzóico. Os ácidos da série cinâmica encontram-se na uva combinados com o ácido tartárico sob a forma de monoésteres. Na Figura 14 encontra-se representado o ácido cinâmico e suas derivações mais importantes, o ácido ferrúlico, o ácido *p*-cumárico e o ácido caféico (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

Figura 14.Ácido cinâmico e suas derivações mais importantes.

Fonte: Adaptado de (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

2.10 Principais atividades biológicas associadas aos compostos fenólicos presentes nos sucos de uva.

Os sucos de uva são ricos em diversos compostos fenólicos e estudos têm demonstrado que essas substâncias possuem atividades biológicas relacionadas com benefícios à saúde dos consumidores (VAUZOUR et al., 2010; KRIKORIAN et al., 2012).

Os fenólicos presentes nos sucos de uva que estão associados com benefícios à saúde são, principalmente, flavonóis, flavanóis e antocianinas, que fazem parte da família dos flavonóides, os ácidos fenólicos e estilbenos como o resveratrol (SAUTTER et al., 2005; ALI et al. 2010; XIA et al., 2010; KRIKORIAN et al., 2012).

Os flavonóis kaempferol, quercitina, miricetina, e derivados *orto*-metilados simples como a isoramnetina, tem recebido considerável interesse ao longo do tempo por suas propriedades antioxidantes (MAKRIS et al., 2006).

Dentre os flavanóis, a (+)-catequina, (-)-epicatequina e procianidinas tem recebido atenção por possuir atividades antioxidantes, antiinflamatória e bactericida. As principais antocianinas presentes no suco estão associadas e atividades biológicas como capacidade antioxidante e prevenção de doenças cardiovasculares (OH et al., 2008; XIA et al., 2010).

Ácidos fenólicos como, ácidos gálico, caféico e clorogênico, têm sido estudados pela sua capacidade antioxidante e vasodilatadora (MUDINIC et al., 2010). E estilbenos em geral como o *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), em particular, tem sido associado a vários efeitos como atividade bactericida, fungicida, possuir ações cardioprotetora, atividade anticâncer e efeitos positivos para a longevidade de seres humanos, sendo este um dos fenólicos mais

estudados atualmente (ALI et al., 2010).

Entre as atividades biológicas relacionadas aos fenólicos, a capacidade antioxidante é a que está associada a praticamente todos os compostos pertencentes às famílias dos flavonoides e não flavonoides, sendo esta, uma das principais atividades biológicas pesquisadas (XIA et al., 2010).

O resultado das medições da atividade antioxidante depende da técnica utilizada (MUSELIK et al., 2007). Para sucos de uva, diversos métodos têm sido empregados para medições *in vitro* como os métodos de captura de radicais livres empregando o 1,1-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e 2,2'-azino-bis (ácido 3 - etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS), ensaios de absorção de radicais do oxigênio (ORAC) e redução do poder oxidante do ferro (FRAP) (TALCOTT e LEE, 2002; DÁVALOS et al., 2005; DANI et al., 2007; BURIN et al., 2010).

Entretanto, a Organização Internacional da Uva e Vinho (OIV) recomenda a utilização do método de captura de radicais livres com o 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) como referência para medição da atividade antioxidante *in vitro* da uva e derivados (OIV, 2011).

CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE MACERAÇÃO EM PARAMETROS DE QUALIDADE, COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ÁCIDOS ORGÂNICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SUCOS DE UVA ELABORADOS NO NORDESTE DO BRASIL

3.1 INTRODUÇÃO

A produção de suco de uva tem oferecido aos produtores brasileiros uma alternativa diferenciada de processamento, pois apenas no Rio Grande do Sul, maior estado produtor de uvas e derivados, a produção de suco integral passou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 220 milhões de litros em 2012 (MELLO, 2013).

No Vale do Submédio São Francisco (VSF), segundo maior produtor de uva e vinhos finos do Brasil, e maior exportador nacional de uvas de mesa (MELLO, 2012), à agroindústria da uva tem diversificado a sua atuação. Recentemente, empresas produtoras de uvas têm investido na elaboração de sucos em escala comercial. As principais cultivares de uva destinadas à elaboração de suco plantadas nesta região são a “Isabel Precoce” (*Vitis labrusca*) e os híbridos “BRS Cora” e “BRS Violeta” (RIBEIRO et al., 2012), cultivares lançadas pelo programa de melhoramento genético da EMBRAPA – CNPUV como alternativa de melhoria na qualidade do suco de uva (CAMARGO e MAIA, 2004; CAMARGO et al., 2005). As primeiras empresas produtoras de sucos em escala comercial no VSF têm utilizado os cortes (misturas) de “Isabel Precoce” 80% com “BRS Cora” ou “BRS Violeta” 20%, para obtenção de produtos com boa intensidade de cor.

Os sucos de uva são ricos em compostos fenólicos e estudos têm demonstrado que essas substâncias possuem atividades biológicas relacionadas com benefícios à saúde dos consumidores (VAUZOUR et al., 2010; KRİKORIAN et al., 2012). Os fenólicos presentes nos sucos de uva que estão associados com benefícios à saúde são, principalmente, flavonóis, flavanóis e antocianinas, que fazem parte da família dos flavonóides, e os não flavonóides como ácidos fenólicos e o estilbeno resveratrol (SAUTTER et al., 2005; XIA et al., 2010; KRİKORIAN et al., 2012). Entre as atividades biológicas relacionadas aos compostos fenólicos, a capacidade antioxidante é a que está associada a praticamente todos os compostos, sendo esta, uma das principais

atividades pesquisada nos sucos (XIA et al., 2010; DÁVALOS et al., 2005; DANÍ et al., 2007; BURIN et al., 2010).

Diversos fatores exercem influência sobre a composição dos sucos, entre eles, as técnicas de processamento (MORRIS e STRIEGLER, 2005). Dentro das técnicas de processamento variáveis como temperatura, tempo de maceração e uso de preparado enzimático tem influenciado sobre a composição físico-química, compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento de suco (TALCOTT e LEE, 2002; FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003; LEBLAC et al., 2008; MOJISOV et al., 2011).

Em escala industrial de processo, as técnicas de elaboração de sucos se dividem basicamente em “Hot press” (HP) e “Cold press” (CP), onde o suco é obtido por prensagem da uva aquecida (HP) ou em temperatura ambiente ou refrigerada (CP), sendo esta, a principal diferença entre as duas técnicas (MORRIS, 1998; MORRIS e STRIEGLER, 2005).

No processo HP a uva esmagada é aquecida a temperaturas de 60 a 62°C, adicionada de enzima pectinase e depositada em tanques de aço inoxidável dotados de paletas de agitação para promover a extração de compostos contidos nas películas da uva, etapa conhecida como maceração, durante tempos que variam de 30 a 60 minutos. Após a maceração o suco é drenado e o bagaço prensado, se obtendo um suco turvo que será submetido a tratamentos de clarificação para remoção dos sólidos suspensos, normalmente, com uso de filtros rotativos à vácuo ou centrífugas industriais, para posteriormente ser estabilizado, pasteurizado e engarrafado a quente (MORRIS, 1998; IYER et al., 2010).

No processo CP a maceração da uva esmagada é realizada em temperatura ambiente ou refrigerada com adição dióxido de enxofre, para inibição de enzimas oxidativas, e preparado enzimático a base de pectinases a fim de degradar as estruturas das películas da uva facilitando a liberação dos compostos fenólicos para o suco. Após a maceração é feita a prensagem do bagaço e o suco seguirá as mesmas etapas descritas no processo HP (MORRIS e STRIEGLER, 2005; LEBLAC et al., 2008).

Outra técnica de processo utilizada nos Estados Unidos é o processo “Hot Break” (HB), onde as uvas são esmagadas e aquecidas a temperaturas maiores que 75°C, por um tempo curto, para desativar rapidamente as enzimas polifenoloxidasas, sendo em seguida resfriado

até 60°C para se adicionar enzima pectinase, seguindo-se a partir daí os mesmos procedimentos utilizados no processo HP(MORRIS E STRIEGLER, 2005; IYER et al., 2010).

No processo adotado pelas primeiras empresas processadoras de suco de uva no VSF a linha industrial de processo possui características diferentes das descritas nos processos HP, CP e HB, sendo as principais, a realização de maceração por circulação do mosto através do bagaço que fica retido em peneira no interior do tanque (remontagem); a filtração do suco ser realizada no próprio bagaço da uva retido no interior do tanque de maceração, o que resulta num suco drenado com boa limpidez sem o uso de filtros ou centrifugas industriais; e a não realização da prensagem do bagaço, se extraindo o suco por sucção com uso de bomba, ficando todo o bagaço retido no interior do tanque.

Nos processos de elaboração de suco de uva a condição de maceração tem importância para a sua composição, pois é nessa fase que se incorpora no mosto os compostos presentes na película, como compostos fenólicos e aromáticos (FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003; IYER et al., 2010).

O aquecimento da uva esmagada tem por objetivo principal promover a plasmólise da membrana e rupturas na parede celular do fruto facilitando a liberação do líquido e de antocianinas responsáveis pela cor. Já a adição de preparados enzimáticos, a base de enzimas pectinases, tem as finalidades de hidrolisar a pectina presente na lamela média e quebra da parede celular das películas da uva, facilitando a liberação dos compostos das cascas para o mosto, redução da viscosidade do suco, aumento no rendimento e diminuição da turbidez (GOMES et al., 2007; CASCALES et al., 2012).

Existem diversas formulações de preparados enzimáticos disponíveis comercialmente para a maceração de frutas, onde a enzima predominante é a pectinase, porém pode conter enzimas na sua composição como celulases, poligalacturonase, pectinametilesterase e galactosidases (LANDBO e MEYER, 2004; ARNOUS e MEYER, 2010).

Com base nisto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura e dose de um preparado enzimático comercial a base de pectinase, empregados durante a maceração das uvas em condição industrial de processo, sobre os principais grupos de compostos fenólicos, ácidos orgânicos, atividade antioxidante e características analíticas de sucos de uva no Vale do Submédio São

Francisco, Brasil.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Locais de execução

As uvas das cultivares Isabel Precoce e BRS Cora foram provenientes de uma área em plena produção para elaboração de suco, situada na Empresa Brasileira de Frutas Tropicais (EBFT), pertencente ao grupo ASA Indústria e Comércio Ltda, localizada no Lote 07, Área PA III, Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, Petrolina-PE, na latitude 09°27'S e longitude 40° 38'W, a aproximadamente 350 metros de altitude. Os sucos de uva foram elaborados na unidade fabril pertencente à ASA, na mesma localidade de origem das uvas. As análises de compostos fenólicos foram realizadas no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. E, a realização das análises da atividade antioxidante no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

3.2.2 Características do vinhedo e maturação das uvas

As plantas utilizadas foram provenientes de vinhedos com idade de três anos e meio, enxertados sob o porta-enxerto IAC 572, plantadas em espaçamento 2,0 x 3,0 metros, entre plantas e linhas, respectivamente, e sistema de condução em latada. A irrigação utilizada foi por microaspersão e as videiras foram podadas (poda de produção) em 15 de outubro de 2012, para BRS Cora, e 26 de outubro de 2012, para Isabel Precoce. As uvas colhidas entre 08 e 12 de fevereiro de 2013, quando atingiram os critérios de maturação estabelecidos: sólidos solúveis (°Brix) entre 18 e 20%, acidez titulável (AT) de 0,7 a 0,9g 100mL⁻¹ de mosto, expresso em ácido tartárico, e relação °Brix/AT (Rácio) entre 20 e 26.

3.2.3 Tratamentos e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos com três repetições, onde cada repetição foi composta por um tanque de processo contendo 3.000

Kg de uva, totalizando 18 tanques de processo e 54.000 kg de uvas utilizados na execução deste trabalho. O suco foi elaborado conforme formulação adotada por empresas da região, sendo um corte composto de “Isabel Precoce 80%” e “BRS Cora 20%”, onde o corte foi feito por mistura das uvas no momento da pesagem. Os tratamentos consistem nas seguintes condições de extração: Temperaturas de 50°C e 60° sem adição de preparado enzimático, (T50E0) e (T60E0), respectivamente; Temperaturas de 50°C e 60°C com adição de preparado enzimático líquido a base de pectinase (PEP) na dose 1,5 mL 100Kg⁻¹ de uva, (T50E1,5) e (T60E1,5), respectivamente, e Temperaturas de 50°C e 60°C com adição de PEP na dose 3,0 mL 100Kg⁻¹ de uva, (T50E3) e (T60E3), respectivamente.

Os resultados obtidos das variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Também foi realizada análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot” sendo plotado os tratamentos de maceração e as variáveis analíticas, com auxílio do programa SPSS Version 17.0 statistical package for Windows (SPSS, Chicago, USA).

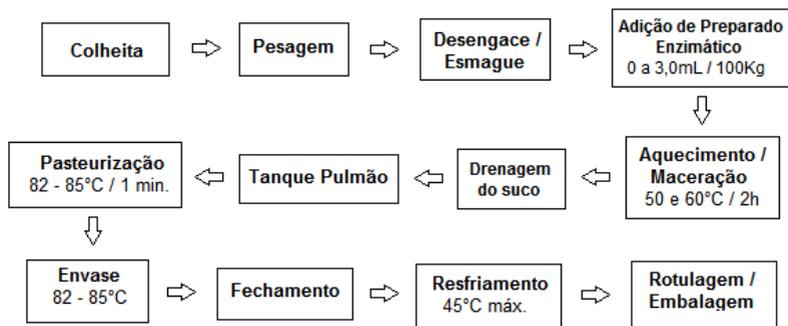
3.2.4 Padrões e Reagentes

O preparado enzimático líquido a base de pectinase (PEP) Endozym[®] Pectofruit PR foi obtido da Spindal – Pascal Biotech (Gretz-Armainvilliers, França). Álcool etílico, persulfato de potássio e Folin-Ciocalteu foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromato-2-ácido carboxílico), 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Metanol e acetona foram obtidos da J. T. Backer (México). Água purificada em sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, USA). Malvidina 3,5-diglicosídica, cianidina 3,5-diglicosídica, malvidina 3-glicosídica, cianidina 3-glicosídica, peonidina 3-glicosídica, delphinidina 3-glicosídica e pelargonidina 3-glicosídica, kaempferol 3-glicosídeo, miricetina, quercetina 3-rutinosídeo, isoramnetina, (+) –catequina, (-) –epicatequina, (-) –epicatequina galato, (-) –epigallocatequina, procianidinas A2, B1 e B2, ácido gálico, ácido cinâmico, ácido benzóico, ácido cumárico, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido caféico e *t*-resveratrol obtidos da Extrasynthese (Genay, França).

3.2.5 Elaboração dos sucos

Os sucos foram obtidos por extração a quente sem prensagem do bagaço (Figura 1), em linha de processo fabricada pela metalúrgica JAPA[®] (Garibaldi-RS, Brasil). As uvas foram desengaçadas e esmagadas em desengaçadeira automática modelo DZ-35, adicionada de preparado enzimático líquido a base de pectinase (PEP) nas doses 0; 1,5 e 3,0 mL 100 kg⁻¹ de uva, bombeadas para tanque de maceração dotado cintas de aquecimento por circulação de água a 80°C, onde foram aquecidas e permaneceram durante duas horas nas temperaturas de 50 e 60°C sob remontagem constante (Figuras 2 e 3). Após a maceração realizou-se a separação do suco, por drenagem auxiliada de bomba de sucção, com duração de 150 minutos, e envio para tanque pulmão (Figura 4) onde foi homogeneizado e enviado para pasteurização a 85°C por um tempo de um minuto, em pasteurizador tubular (Figura 5). Depois de pasteurizado o suco foi envasado à quente em garrafas de vidro incolor capacidade 300mL fabricadas pela Saint-Gobain[®] (São Paulo-SP, Brasil), utilizando uma envasadora gravimétrica automática modelo EVR12 (Figura 6), seguido de colocação das tampas metálicas do tipo “twist-off”, fechamento e tombamento da garrafa. Após fechamento as garrafas foram resfriadas em túnel de resfriamento por pulverização de água (Figura 7), até atingir a temperatura máxima de 45°C.

Figura 1. Fluxograma da elaboração do suco de uva por extração a quente sem prensagem do bagaço.



O preparado enzimático utilizado neste estudo foi o Endozym[®] Pectofruit PR foi obtido da Spindal – Pascal Biotech (Gretz-

Armainvilliers, França) que é composto em maior concentração por pectinases, mas também possui celulase, obtidas a partir de *Aspergillus niger*, sendo recomendado para maceração de uvas em dosagens entre 2,0 e 4,0 mL 100Kg⁻¹ de uva e temperatura ótima de maceração entre 50 e 60°C, segundo informações do fabricante (Anexos 2 e 3).

3.2.6 Análises físico-químicas clássicas

3.2.6.1 pH

O pH do foi determinado diretamente em 100mL do suco, segundo Brasil (2005), utilizando um potenciômetro digital de bancada microprocessado modelo pH Analyser (Tecnal, Brasil).

3.2.6.2 Sólidos Solúveis (SS)

A análise foi realizada em refratômetro digital modelo HI 96801 (Hanna, Estados Unidos).

Figura 2. Esquema da maceração da uva em remontagem constante seguido da separação do suco da uva por drenagem. Fonte: Próprio autor.

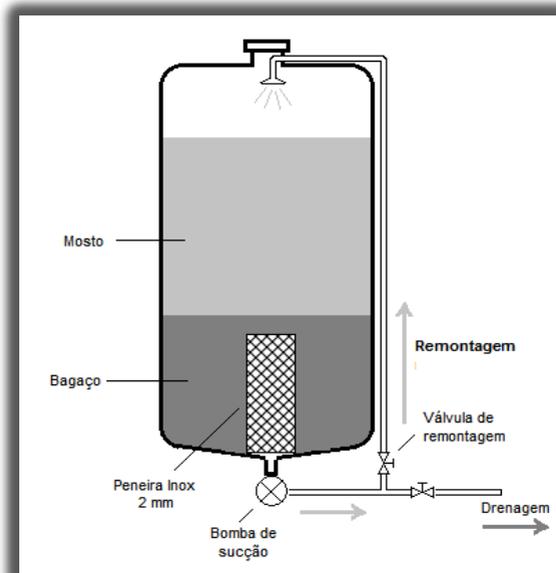


Figura 3. Tanque de maceração com controle de temperatura e sistema de remontagem constante na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 4. Tanque pulmão para armazenagem do suco na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 5. Pasteurizador tubular com controle de temperatura na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil. Fonte: (Próprio autor).



Figura 6. Enchedora gravimétrica automática com sistema de fechamento de garrafas na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 7. Túnel de resfriamento por pulverização de água na ASA Ind. e Com. Ltda, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.



3.2.6.3 Acidez titulável (AT)

Transferiram-se 10 mL da amostra para um frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 100mL de água destilada, livre de dióxido de carbono. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração azul, usando 5 gotas de solução de azul de bromotimol 1% como indicador. Os resultados foram calculados conforme a equação abaixo:

$$At = \frac{1000 \times n \times N \times 0,075}{V}$$

Sendo,

At = Acidez titulável em g L⁻¹; n = volume da solução de NaOH gasto na titulação; N = normalidade da solução de NaOH; 0,075 = miliequivalente grama do ácido tartárico; V = volume da amostra em mL.

3.2.6.4 Relação SS/AT

A relação SS/AT foi determinada pela obtenção do quociente da divisão entre os sólidos solúveis do suco (grau Brix) e a sua acidez titulável em g 100mL⁻¹ de ácido tartárico.

3.2.6.5 Rendimento de suco

O rendimento de suco no processo foi calculado em função do volume de suco obtido e do peso inicial da uva utilizada, conforme equação abaixo:

$$\text{Rendimento \%} = \frac{V_s}{P_i} \times 100$$

Sendo: V_s = volume de suco obtido(L) e P_i = peso inicial das uvas (kg).

3.2.6.6 Índices de cor

A absorbância do suco a 420nm e 520nm (A_{420} e A_{520}) representa, respectivamente, sua cor amarela e vermelha, e o índice 620nm (A_{620}) representa a cor violeta. Sua determinação no suco foi realizada segundo metodologia descrita por Glories (1984), onde os valores das absorbâncias a 420nm, 520nm e 620nm do suco, previamente centrifugado a 2500 giros por 2 minutos em centrífuga EEQ-9004/B (Edutec, Brasil), foram lidas no espectrofotômetro UV-Visível modelo UV 2000A (Instrutherm, Brasil) em cubeta de vidro de 0,5 cm de percurso óptico e o resultado expresso como 1,0 cm de percurso óptico.

A intensidade da cor (IC) foi determinada pela soma das absorbâncias a 420nm, 520nm e 620nm ($IC = A_{420} + A_{520} + A_{620}$), e a tonalidade (T) pela divisão da absorbância a 420nm pela 520nm ($T = A_{420} / A_{520}$).

3.2.6.7 Turbidez

A turbidez das amostras foi determinada por leitura direta em turbidímetro digital microprocessado modelo HI 98703 (Hanna, USA) previamente calibrado com padrões NIST de turbidez em Unidades

Nefelométricas.

3.2.7 Determinação de fenólicos totais

A concentração de fenólicos totais (FT) foi determinada pelo método espectrofotométrico com Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965), onde foram adicionados em um tubo de ensaio, 0,10 mL do suco previamente diluído (1/10) em água destilada, 7,90 mL de água destilada e 0,50 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 a 8 minutos acrescentaram-se 1,50 mL de uma solução saturada de Na_2CO_3 20%, se homogeneizou e ficou em repouso por 2 horas. Em seguida foi lida a absorbância a 765 nm em cubeta de vidro de 10mm de percurso óptico utilizando espectrofotômetro UV-Visível modelo UV 2000A (Instrutherm, Brasil) zerado com branco dos reagentes sem adição de amostra. Os resultados foram expressos em mg L^{-1} , equivalentes ao ácido gálico, por comparação com uma curva de calibração construída nas concentrações 0, 25, 50, 100, 250, 350 e 500 mg L^{-1} de ácido gálico.

3.2.8 Determinação de antocianinas monoméricas totais

A metodologia utilizada na determinação de antocianinas totais no suco foi pela diferença de pH, de acordo com Lee et al. (2005). Foram elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio 0,025M adicionada de ácido clorídrico P.A até de pH 1,0, outra de acetato de sódio 0,4M adicionada de ácido clorídrico P.A até pH 4,5. A amostra de suco foi diluída (1/10) com as soluções tampão e fez-se a leitura em 520nm e 700nm, tanto no tampão de pH 1,0 quanto de pH 4,5. A leitura a 700nm foi realizada para descontar a turbidez da amostra. O valor da absorbância final (A_F) foi calculado a partir da equação:

$$A_F = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

A concentração de pigmentos no suco foi calculada e representada como cianidina-3-glicosídeo, conforme equação abaixo:

$$\text{Antocianinas (mg L}^{-1}\text{)} = (A_F \times \text{PM} \times \text{FD} \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

Onde: PM = peso molecular da cianidina-3-glicosídeo (463,3); FD = fator de diluição (10), e ϵ = absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo (28000).

3.2.9 Análises de ácidos orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

As quantificações dos ácidos tartárico, málico, cítrico, láctico, succínico, acético e ascórbico foram realizadas por HPLC utilizando um cromatógrafo WATERS, modelo Alliance e2695, acoplado a Detector de Arranjos de Diodos (DAD), seguindo a metodologia descrita por Rybkaet al. (2012). As amostras de suco foram filtradas em membrana de 0,45 μ m e injetadas em triplicata. Na determinação dos ácidos o DAD foi mantido o comprimento de onda de 250nm para o ácido ascórbico e 210 nm para o restante dos ácidos, com tempo de corrida de 15 minutos, fluxo de 0,6 mL min⁻¹, temperatura do forno de 26°C e volume de injeção de 10 μ L. A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de 3 μ m, e pré-coluna Gemini-NX C18, 4,0 x 3,0 mm, ambas da Phenomenex[®]. A fase foi compreendida por uma solução de KH₂PO₄ a 0,025M acidificado a com H₃PO₄ atéo pH 2,6.

3.2.10 Compostos fenólicos por HPLC-DAD-DF

Os compostos fenólicos foram determinados por HPLC em cromatógrafo WATERS modelo Alliance e2695, equipado com bomba de solvente quaternário e injetor automático, acoplado a Detector de Arranjos de Diodos (DAD) e Detector de Fluorescência (DF) (Figuras 8 e 9), conforme metodologia descrita por Natividade et al. (2013). A obtenção e processamento dos dados foram realizados utilizando o Software EmpowerTM 2 (Milford, EUA). Para o DAD, foram utilizados os comprimentos de onda de 220nm para o ácido gálico, (-) – epicatequina galato, (-) – epigallocatequina galato e procianidina B1; 320nm para o *t*-resveratrol, ácido caféico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico e ácido clorogênico; 360nm para os flavonóis: kaempferol 3-*O*-glicosídeo, miricetina, quercitina, rutina e isoramnetina; e 520nm para as antocianinas: malvidina 3,5-diglicosídica, cianidina 3,5-diglicosídica, malvidina 3-glicosídica, cianidina 3-glicosídica, peonidina 3-glicosídica, delfinida 3-glicosídica e pelargonidina 3-glicosídica. Para o DF, a

excitação se deu em 280 nm e a emissão em 320nm para (+) –catequina, pricianidina B2, procianidina A2 e (-) –epicatequina. A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de 3µm, e pré-coluna Gemini-NX C18, 4,0 x 3,0 mm, ambas da Phenomenex®. A temperatura do forno foi mantida em 40°C e o volume de injeção de 10 µL do suco, previamente filtrado em membrana de 0,45µm (Allcrom-Phenomenex, USA), com fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado na separação se deu a: 0 min: 100% A; 10 min: 93% A e 7% B; 20 min: 90% A e 10% B; 30 min: 88% A e 12% B; 40 min: 77% A e 33% B; 45 min: 65% A e 35% B e 55 min: 100% B. Fase A (solução de ácido fosfórico a 0,85%) e Fase B (acetronitrila).

Repetibilidade do método

A repetibilidade do método foi baseada em seis determinações consecutivas realizadas em seis soluções padrão de cada fenólico analisado, em faixas de concentração definidas de acordo com os valores do analito comumente encontrados em sucos de uva. Os valores do %RSD obtidos foram: ácido gálico 3,14%, (-)–epicatequina galato 2,58%, (-) –epicatequina galato 1,70%, procianidina B1 1,65%, *t*-resveratrol 1,29%, ácido caféico 1,42%, ácido cinâmico 2,75%, ácido *p*-cumárico 2,81%, ácido clorogênico 0,85%, kaempferol 2,70%, miricetina 5,38%, quercetina 1,97%, rutina 1,59%, isoramnetina 2,14%, malvidina 3,5-diglicosídica 1,64%, cianidina 3,5-diglicosídica 0,73%, malvidina 3-glicosídica 2,43%, cianidina 3-glicosídica 2,11%, peonidina 3-glicosídica 1,67, delfinida 3-glicosídica 2,92%, pelargonidina 3-glicosídica 2,87%, (+)–catequina 2,27%, pricianidina B2 2,72%, procianidina A2 2,90% e (-)–epicatequina 1,48%.

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para os métodos HPLC-DAD-DF foram estimados como 3 e 10 desvios padrão, respectivamente, dos resultados obtidos. Os valores foram:

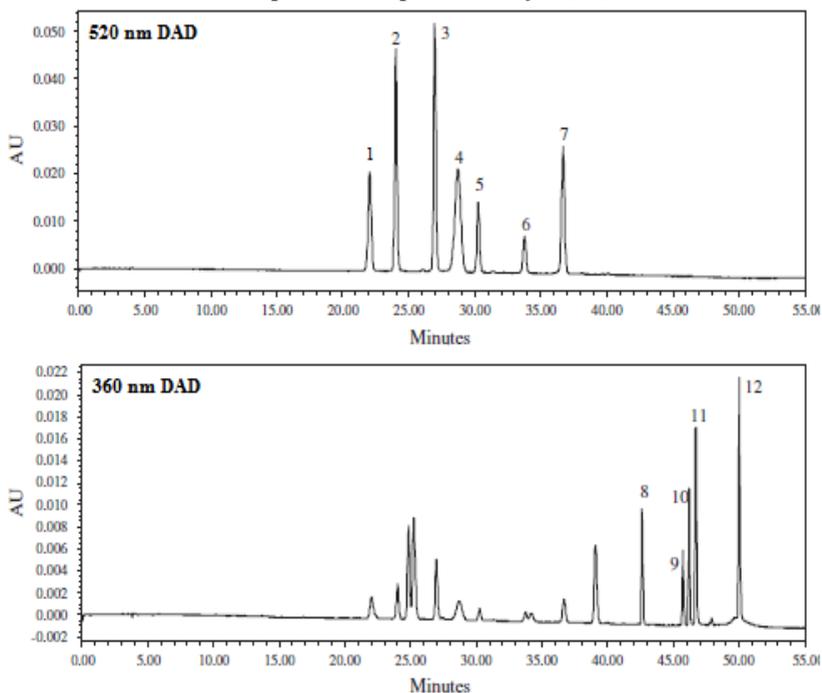
Figura 8. Cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters modelo Alliance e2695 acoplado a detector de arranjos diodos na Embrapa Semiárido, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 9. Detector de fluorescência Waters 2475 acoplado a cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters modelo Alliance e2695 na Embrapa Semiárido, Petrolina PE – Brasil. Fonte: Próprio autor.

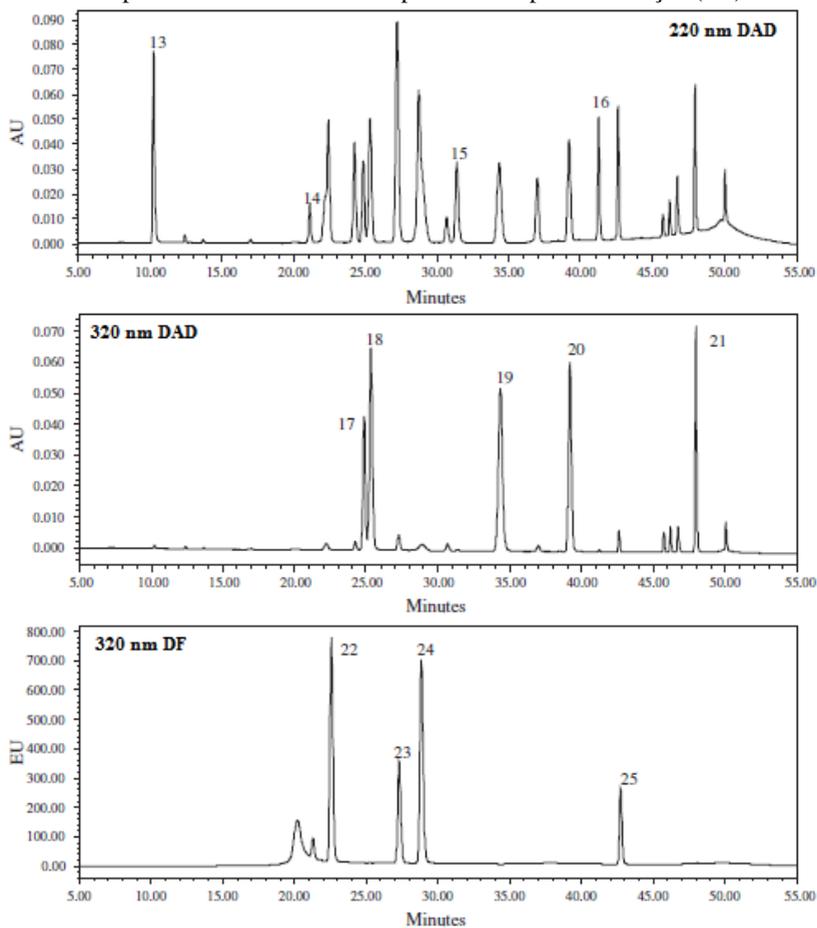


Figura 10. Cromatograma de separação de padrões dos compostos fenólicos com os respectivos tempos de retenção (RT).



Legenda: **1** – canidina 3,5-diglicosídeo (RT: 21,8 min); **2** – delphinidina 3-glicosídeo (RT: 23,8 min); **3** – malvidin 3,5-diglicosídeo-chloride (RT: 26,6min); **4** – cianidin 3-glicosídeo (RT: 28,4 min); **5** – pelargonidina 3-glicosídeo (RT: 29,7 min); **6** – peonidina 3-glicosídeo (RT: 33,4 min); **7** – malvidin 3-glicosídeo (RT: 36,3 min); **8** – rutina (RT: 42,7 min); **9** – kaempferol (RT: 45,6 min); **10** – isoramnetina (RT: 46,1 min); **11** – miricetina (RT: 46,4min); **12** – quercetina (49,8 min); **13** – ácido gálico (RT: 10,0 min); **14** – procianidina B1 (RT: 20,8 min); **15** – (-)-epigallocatequina galato (RT: 30,8 min); **16** – (-)-epicatequina galato (RT: 40,9 min); **17** – ácido clorogênico (RT: 24,3min); **18** – ácido caféico (RT: 25,0 min); **19** – ácido *p*-cumárico (RT: 33,7 min); **20** – ácido cinâmico (RT: 38,5 min); **21** – *trans*-resveratrol (RT: 47,7min); **22** – (+)-catequina (RT: 22,3 min); **23** – procianidina B2 (RT: 27,0min); **24** – (-)-epicatequina (RT: 47,7 min); **25** – procianidina A2 (RT: 49,8min).

Figura 10 (Continuação). Cromatograma de separação dos padrões dos compostos fenólicos com os respectivos tempos de retenção (RT).



Fonte: Adaptado de (NATIVIDADE et al., 2013).

do gálico 0,07 e 0,24 mg L⁻¹ (R² = 0,9987), (-)-epicatequina galato 0,07 e 0,10 mg L⁻¹ (R² = 0,9912), (-) -epigallocatequina 0,19 e 0,31 mg L⁻¹ (R² = 0,9993), procianidina B1 0,03 e 0,11 mg L⁻¹ (R² = 0,9997), *t*-resveratrol 0,01 e 0,05 mg L⁻¹ (R² = 0,9991), ácido caféico 0,08 e 0,28 mg L⁻¹ (R² = 0,9988), ácido cinâmico 0,11 e 0,37 mg L⁻¹ (R² = 0,9993), ácido *p*-cumárico 0,05 e 0,16 mg L⁻¹ (R² = 0,9999), ácido clorogênico 0,02 e 0,07 mg L⁻¹ (R² = 0,9986), kaempferol 0,06 e 0,21 mg L⁻¹ (R² =

0,9987), miricetina 0,01 e 0,03 mg L⁻¹ (R² = 0,9992), quercitina 0,002 e 0,01 mg L⁻¹ (R² = 0,9996), rutina 0,04 e 0,13 mg L⁻¹ (R² = 0,9998), isoramnetina 0,01 e 0,04 mg L⁻¹ (R² = 0,9988), malvidina 3,5-diglicosídica 0,06 e 0,21 mg L⁻¹ (R² = 0,9990), cianidina 3,5-diglicosídica 0,04 e 0,14 mg L⁻¹ (R² = 0,9984), malvidina 3-glicosídica 0,03 e 0,12 mg L⁻¹ (R² = 0,9976), cianidina 3-glicosídica 0,11 e 0,37 mg L⁻¹ (R² = 0,9984), peonidina 3-glicosídica 0,01 e 0,08 mg L⁻¹ (R² = 0,9976), delfinida 3-glicosídica 0,09 e 0,28 mg L⁻¹ (R² = 0,9990), pelargonidina 3-glicosídica 0,04 e 0,12 mg L⁻¹ (R² = 0,9388), (+)-catequina 0,01 e 0,03 mg L⁻¹ (R² = 0,9887), pricianidina B2 0,001 e 0,003 mg L⁻¹ (R² = 0,9839), procianidina A2 0,003 e 0,01 mg L⁻¹ (R² = 0,9901) e (-)-epicatequina 0,01 e 0,04 mg L⁻¹ (R² = 0,9838). Onde os resultados foram considerados aceitáveis para os fins propostos.

3.2.11 Determinação da atividade antioxidante DPPH e ABTS

A atividade antioxidante *in vitro* dos sucos de uva foi determinada utilizando os métodos de captura de radicais livres ABTS e DPPH, de acordo com Re et al. (1999) e Kim et al. (2002), respectivamente. O padrão analítico Trolox foi utilizado para a construção da curva analítica e os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox por litro de suco de uva (mmol TEAC L⁻¹). Para realização dos métodos, as amostras de suco de uva foram diluídas com água deionizada na proporção de 2:10. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis L-2010 Hitachi® (Tóquio, Japão).

A atividade do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi medida através da extinção do máximo da absorção em 517 nm. O método consiste na mistura de 100 µL da amostra de suco de uva com 2,90 mL de solução etanólica do radical DPPH 1 mM e incubação no escuro durante 30 minutos. A solução de DPPH foi diluída com etanol para uma absorbância entre 0,900 e 1,000 a 517 nm. As leituras de absorbância foram realizadas nos tempos 0 (sem adição de amostra) e 30 minutos (com adição de amostra).

No método ABTS, a atividade antioxidante dos sucos de uva foi determinada através da taxa de decaimento da absorbância a 754 nm do radical ABTS. O radical catiônico (ABTS •) foi produzido através da

reação de 5 mL de radical ABTS 7 mM com 5 mL de persulfato de potássio 2,45 mM. A mistura foi mantida no escuro e à temperatura ambiente (20 ° C) durante 16 horas previamente às análises. No processo, a solução ABTS foi diluída com etanol para uma absorbância de $0,700 \pm 0,050$ a 754 nm. Para cada amostra, a absorbância da solução ABTS (940 μ L) foi lida em espectrofotômetro no tempo $t = 0$ min, e após 6 minutos ($t = 6$ min) da adição de 60 μ L de suco de uva.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Análises clássicas e rendimento de suco

Os resultados das análises clássicas dos sucos estão apresentados na Tabela 1. As condições de maceração avaliadas não influenciou nos sólidos solúveis, pH, acidez titulável e relação SS/AT dos sucos, onde os valores obtidos estão de acordo com a legislação brasileira para suco integral, que estabelece sólidos solúveis no mínimo de 14, acidez titulável mínima de $0,41\text{g } 100\text{ mL}^{-1}$ de mosto, e relação SS/AT entre 14 e 45 (BRASIL, 2000). O valor médio de sólidos solúveis dos sucos elaborados ($19,1 \pm 0,4$) foram maiores que a média relatada por Rizzon e Miele (2012) para sucos comerciais brasileiros ($16,2 \pm 1,1$), entretanto, em climas tropicais como o encontrado no Vale do Submédio São Francisco (VSF), onde predominam temperaturas altas e insolação, o metabolismo da videira favorece a um maior acúmulo de sólidos solúveis na baga das uvas (Ribeiro et al., 2012).

Em relação à intensidade de cor e tonalidade dos sucos não houve diferença significativa entre as condições de maceração utilizadas, onde os valores médios obtidos variaram de 5,38 a 6,56 para intensidade de cor, e de 0,78 a 0,95 para tonalidade, estando estes resultados de acordo com os mencionados para sucos de uva brasileiros (RIZZON e MIELE, 2012; BURIN et al., 2010).

Os valores de turbidez dos sucos variaram de 147 a 84 NTU, onde a turbidez dos sucos foi reduzida em função da utilização de preparado enzimático (PEP) e do aumento da temperatura de maceração de 50 para 60°C. Em trabalho realizado por Landbo e Meyer (2004) com 10 preparados enzimáticos a base de pectinases utilizados na obtenção de suco de groselha também foi observado que a melhor condição de redução da turbidez se deu com macerações em 60°C. Sandri et al. (2011) também observaram um aumento da claridade de sucos de uva e

de outras frutas com aplicação de preparados enzimáticos a base de pectinase em temperaturas de 50°C.

No rendimento de suco não houve influência das temperaturas utilizadas, mas o emprego do PEP elevou o rendimento de 59% (590 litros de suco por tonelada de uva) para 65% (650 litros de suco por tonelada de uva) com a dose 3,0 mL 100 kg⁻¹ de uva (T50E3 e T60E3), tendo-se um incremento total de 6,0%. Segundo Morris (1998) o rendimento dos sucos de uva podem chegar a 73,8% (738L ton⁻¹ de uva), no processo HP, e 64,3% (643L ton⁻¹ de uva), no processo CP, dependendo da cultivar de uva utilizada e da eficiência da prensagem.

Em trabalho realizado por Leblac et al. (2008) os autores observaram um aumento de rendimento de 41,5 para 61,1% em suco de uva “Carlos”, e de 40,8 para 56,2% em suco de “Noble”, em virtude da adição de enzima pectinase na dose 10g 100kg⁻¹ e 14 horas de maceração a 7°C. Nesse mesmo estudo também se obteve rendimento variando de 49 a 52% para as mesmas cultivares em processo HP com temperatura de 60°C sem adição de enzima. Mojsov et al. (2011) obtiveram rendimentos de suco da cultivar “Vranec” por prensagem a frio, de 44,8% sem adição de enzima, e 50,3% com a adição de preparado enzimático a base de pectinase (Vonozyn Vintage FCE® Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca) na dose 4,0 g 100kg⁻¹ de uva, obtendo-se um incremento de 5,5%.

Esses resultados demonstram que a técnica de elaboração dos sucos utilizada neste trabalho obteve alto rendimento, mesmo sem a realização da prensagem da uva, e esse fato pode ser atribuído à pressão negativa gerada no interior do bagaço devido à sucção por bombeamento, o que favoreceu uma boa extração em tempo de drenagem de 150 minutos (2,5 horas).

Mesmo sem a adição de preparado enzimático o rendimento obtido (59%) foi considerado alto em comparação ao mencionado por outros autores para sucos obtidos por prensagem nas técnicas HP e CP. O incremento de volume de suco com utilização da enzima foi significativo, e da ordem de 5,0 a 6,0%, estando de acordo com o mencionado por outros autores em processos de elaboração de sucos (MORRIS, 1998; MOJOSOVet al., 2011). Com a dose de PEP em 1,5 mL 100 kg⁻¹ de uva o rendimento chegou a 64%, sendo considerado como um bom resultado, uma vez que o fabricante do preparado enzimático utilizado recomenda doses entre 2,0 e 4,0 mL 100kg⁻¹ para tratamentos de maceração da uva.

Tabela 1. Resultados das análises dos parâmetros clássicos de qualidade dos sucos de uva obtidos em diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
pH	3,39 ± 0,2 a	3,38 ± 0,01 a	3,37 ± 0,04 a	3,39 ± 0,07 a	3,39 ± 0,08 a	3,35 ± 0,02 a
Sólidos Solúveis %	19,2 ± 0,2 a	19,0 ± 0,4 a	19,2 ± 0,1 a	19,2 ± 0,3 a	18,7 ± 0,6 a	19,2 ± 0,0 a
Acidez Titulável %	0,83 ± 0,02 a	0,85 ± 0,04 a	0,84 ± 0,02 a	0,85 ± 0,04 a	0,85 ± 0,04 a	0,85 ± 0,03 a
SS/AT	23,2 ± 0,9 a	22,5 ± 0,8 a	22,9 ± 0,7 a	22,6 ± 0,9 a	22,2 ± 1,9 a	22,8 ± 0,9 a
Turbidez NTU	147 ± 6 a	113 ± 5 bc	100 ± 5 cd	135 ± 15 ab	100 ± 9 cd	84 ± 15 e
Intensidade de Cor	6,56 ± 1,04 a	6,00 ± 0,51 a	5,78 ± 0,39 a	5,38 ± 0,43 a	5,94 ± 0,29 a	5,77 ± 0,44 a
Tonalidade	0,79 ± 0,10 a	0,95 ± 0,02 a	0,90 ± 0,14 a	0,87 ± 0,17 a	0,82 ± 0,06 a	0,78 ± 0,05 a
Rendimento de Suco %	59 ± 0,6 c	64,1 ± 0,1 b	64,7 ± 0,3 ab	59 ± 0,4 c	64,1 ± 0,3 b	65 ± 0,2 a

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinases por 100kg de uva fresca. Rendimento de suco (%) - expresso como litros de suco por 100kg de uva fresca.

3.3.2 Ácidos orgânicos por HPLC

Os resultados das análises de ácidos orgânicos nos sucos elaborados estão apresentados na Tabela 2. Os tratamentos de maceração utilizados resultaram em diferenças significativas na composição dos ácidos orgânicos do suco de uva. Para o ácido tartárico, principal ácido orgânico dos sucos de uva, foi observada uma redução no tratamento de maceração a 60°C com 3,0 mL de PEP (T60E3), em relação ao suco obtido em 50°C sem adição de enzima (T50E0), mas de maneira geral as médias variaram de 5,64 a 4,30g L⁻¹.

Em relação ao ácido málico houve um pequeno aumento em sua concentração nos sucos que receberam o PEP, e os valores variaram de 3,46 a 3,80 g L⁻¹. Para o ácido cítrico, as macerações sem enzima ou com dose 1,5 mL de PEP não diferiram significativamente entre si, mas em comparação com a dose 3,0 mL de PEP se teve um aumento considerável na concentração deste ácido no suco de uva, passando de aproximadamente 290 para 503 mg L⁻¹.

A concentração dos ácidos succínico e ascórbico nos sucos de uva não sofreram influência dos tratamentos de maceração empregados e apresentaram valores médios de 43 a 87 mg L⁻¹, e 8,3 a 11,0 mg L⁻¹, para os respectivos ácidos.

Para o ácido láctico de maneira geral a sua concentração no suco foi aumentada com o uso de PEP, principalmente, nas condições de maceração em 50°C onde os valores passaram de 227 para 603 mg L⁻¹.

O ácido acético, principal ácido indesejado em vinhos e sucos, apresentou redução significativa em seus valores com o uso do PEP, onde a variação foi de aproximadamente 637 mg L⁻¹ no tratamento sem enzima para 420 mg L⁻¹ na maceração com 3,0 mL de PEP.

Os valores dos ácidos tartárico e málico obtidos nos sucos elaborados estão de acordo com os valores mencionados na literatura para sucos de uvas brasileiros (RIZZON e MIELE, 2012) e sucos de diversas cultivares de uvas *Vitis vinífera* elaborados por processo HP. Já os valores de ácido cítrico obtidos foram superiores aos encontrados na literatura para sucos de uvas, cuja variação foi de 31 a 181 mg L⁻¹ (SOYER et al., 2003).

3.3.3 Fenólicos totais e Flavanóis

Os resultados dos compostos fenólicos quantificados nos sucos

de uva estão apresentados na Tabela 3. Os valores médios de fenólicos totais variaram de 959 a 1384 mg L⁻¹ nos sucos obtidos nas diferentes condições de maceração avaliadas. A concentração de fenólicos totais nos sucos obtidos foram semelhantes, com um valor médio um pouco inferior na condição de maceração T50E1,5.

Os valores de fenólicos totais obtidos neste estudo estão de acordo com os valores mencionados para sucos de uva comerciais brasileiros, que variaram de 270 a 3433 mg L⁻¹, com médias entre 1430 e 1915 mg L⁻¹ (MALACRIDA e MOTTA, 2005; SAUTTER et al., 2005; BURIN et al., 2010). Também foram semelhantes aos mencionados em sucos comerciais Espanhóis, cujos valores variaram entre 705 e 1177 mg L⁻¹ (DÁVALOS et al., 2005).

Para os flavanóis epicatequina, epicatequina galato, epigalocatequina e procianidina A2, não houve diferenças significativas entre os sucos obtidos nas diferentes condições de maceração avaliadas.

As macerações em 50 e 60°C não influenciaram na concentração de catequina dos sucos, mas os tratamentos que não receberam o PEP durante a maceração (T50E0 e T60E0) tiveram valores de catequina muito superiores, com médias variando de 48,1 a 50,8 mg L⁻¹, em relação aos sucos que receberam as doses 1,5 e 3,0 mL de PEP (T50E1,5; T50E3, T60E1,5 e T60E3), cujas médias, variaram entre 9,8 a 14,9 mg L⁻¹.

Para as procianidinas B1 e B2 não houve diferença entre os tratamentos T50E0, T60E0, T50E1,5 e T60E1,5; mas nos tratamentos que recebem dose 3,0 mL de PEP (T50E3 e T60E3) a concentração de procianidinas B1 e B2 aumentou significativamente, principalmente em relação a procianidina B1 que passou de valores médios entre 5,9 e 11,6 para valores de 34,4 a 36,8 mg L⁻¹.

Esses resultados evidenciam que doses maiores da enzima utilizada podem resultar numa maior extração das procianidinas B1 e B2 que estão presentes em maior proporção na película e semente da uva, respectivamente.

De maneira geral os principais flavanóis encontrados nos sucos foram a catequina e procianidinas B1 e B2. Em trabalho realizado por Fuleki e Ricardo-da-Silva (2003) com sucos de uva “Concord” elaborados por processo HP com adição de enzima pectinase, na dose de 50 mg L⁻¹ de mosto e maceração em 60°C, se obtiveram valores de catequina, epicatequina e procianidinas B1 e B2 semelhantes aos obtidos neste estudo. Também foi verificado por esses autores que a

pasteurização do suco aumentou as concentrações de procianidinas B1 e B2.

Tabela 2. Valores dos ácidos orgânicos em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
ÁCIDOS ORGÂNICOS						
Tartárico g L ⁻¹	5,64 ± 0,22 ^a	5,32 ± 0,47 ^{ab}	4,75 ± 0,56 ^{ab}	5,33 ± 0,29 ^{ab}	5,26 ± 0,41 ^{ab}	4,30 ± 0,19 ^b
Málico g L ⁻¹	3,46 ± 0,18 ^b	3,65 ± 0,04 ^{ab}	3,77 ± 0,02 ^{ab}	3,50 ± 0,06 ^{ab}	3,80 ± 0,03 ^a	3,70 ± 0,21 ^{ab}
Cítrico mg L ⁻¹	313 ± 6 ^b	290 ± 35 ^b	470 ± 26 ^a	317 ± 6 ^b	345 ± 40 ^b	503 ± 30 ^a
Ascórbico mg L ⁻¹	8,3 ± 3,2 ^a	11 ± 0,3 ^a	9,6 ± 0,6 ^a	9,2 ± 1,0 ^a	9,4 ± 0,4 ^a	9,6 ± 0,2 ^a
Láctico mg L ⁻¹	227 ± 46 ^{bc}	373 ± 97 ^{abc}	603 ± 227 ^{ab}	200 ± 10 ^c	693 ± 237 ^a	278 ± 6 ^{bc}
Succínico mg L ⁻¹	87 ± 25 ^a	73 ± 15 ^a	70 ± 20 ^a	43 ± 15 ^a	87 ± 6 ^a	80 ± 72 ^a
Acético mg L ⁻¹	537 ± 58 ^{ab}	510 ± 70 ^{ab}	420 ± 10 ^b	637 ± 55 ^a	450 ± 17 ^b	460 ± 121 ^{ab}
Ácidos totais g L ⁻¹	10,27 ± 0,54	10,23 ± 0,73	10,09 ± 0,86	10,04 ± 0,44	10,64 ± 0,74	9,33 ± 0,63

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinases por 100kg de uva fresca.

Tabela 3. Valores dos flavanóis e fenólicos totais em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
Dose de Enzima						
FLAVANÓIS						
Catequina	48,1 ± 13,4 a	9,8 ± 0,9 b	9,9 ± 0,5 b	50,8 ± 4,7 a	14,9 ± 0,6 b	11,2 ± 3,4 b
Epicatequina	1,0 ± 1,0 a	0,6 ± 0,1 a	0,8 ± 0,7 a	1,4 ± 0,5 a	1,3 ± 0,1 a	1,7 ± 0,3 a
Epigallocatequina	1,6 ± 0,1 a	1,4 ± 0,1 a	2,2 ± 1,2 a	2,4 ± 3,0 a	0,8 ± 0,0 a	0,8 ± 0,1 a
Epicatequina galato	1,4 ± 0,6 a	3,1 ± 0,4 a	2,1 ± 0,5 a	5,0 ± 1,1 a	3,9 ± 0,6 a	1,8 ± 0,3 a
Procianidina A2	2,8 ± 0,1 a	2,8 ± 0,2 a	2,6 ± 0,2 a	2,6 ± 0,3 a	3,2 ± 0,7 a	3,0 ± 0,2 a
Procianidina B1	5,9 ± 5,5 b	7,3 ± 0,5 b	34,4 ± 2,4 a	11,6 ± 2,8 b	9,9 ± 1,0 b	36,8 ± 0,8 a
Procianidina B2	9,3 ± 0,4 b	9,0 ± 1,5 b	13,1 ± 3,1 ab	11,3 ± 0,9 ab	10,4 ± 0,6 b	16,1 ± 2,5 a
(Soma) Flavanóis quantificados	70,1 ± 21,1	34 ± 3,7	65,1 ± 8,6	109,7 ± 13,3	44,4 ± 3,6	71,4 ± 7,6
Fenólicos Totais	1343 ± 218 ab	959 ± 33 b	1088 ± 183 ab	1296 ± 39 ab	1384 ± 207 a	1203 ± 101 ab

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinases por 100kg de uva fresca. Flavanóis e Fenólicos totais expressos em mg L⁻¹.

3.3.4 Flavonóis e *trans*-resveratrol

Em relação aos flavonóis houve diferença significativa no suco obtido na condição de maceração T50E0, em relação aos demais, pois este apresentou os menores valores de kaempferol, rutina e quercitina (Tabela 4). Já para todas as outras condições de maceração não houve diferenças significativas em nenhum dos flavanóis quantificados. As somas dos flavanóis quantificados (kaempferol, isoramnetina, quercitina, rutina e miricetina) variou de 2,7 a 5,1 mg L⁻¹ nos sucos elaborados, sendo estes valores inferiores aos mencionados em diversos sucos de uva (TALCOTT e LEE, 2002; STALMACH et al., 2011).

Para o estilbeno *trans*-resveratrol não houve diferença significativa entre os sucos das diferentes condições de maceração, e os valores médios variaram de 0,67 a 0,90 mg L⁻¹.

Os valores de *trans*-resveratrol obtidos nos sucos estudados são considerados altos, pois diversos autores mencionaram concentrações deste estilbeno em sucos de uvas de diferentes cultivares, regiões de origem e processos de elaboração, variando de 0,00 até 0,44 mg L⁻¹ (NATIVIDADE et al., 2013; DANI et al., 2007; LEBLAC et al., 2008; SAUTTER et al., 2005).

Em trabalho realizado por Leblac et al. (2008) foram avaliadas as concentrações de diversos estilbenos, entre eles o *trans*-resveratrol, em sucos de uvas obtidos pelos processos de prensagem a frio sem adição enzima (CP sem enzima), prensagem a frio com adição de enzima (CP com enzima) e prensagem a quente sem adição de enzima (HP sem enzima), sendo observado que com a adição da enzima pectinase no processo CP a concentração de estilbenos do suco foi aumentada. Mas os valores de estilbenos nas duas condições de processo CP foram inferiores as obtidas no processo HP, onde a presença de *trans*-resveratrol só foi detectada nos sucos obtidos por processo HP (0,10 mg L⁻¹).

Também foi observado por Leblac et al. (2008) que a presença do resveratrol foram observados em maior quantidade nas formas de *cis*-resveratrol-3-*O*-glicosídeo (*cis*-piceid) com valores entre 0,60 e 0,80 mg L⁻¹ e *trans*-resveratrol-3-*O*-glicosídeo (*trans*-piceid) com valores acima de 1,5 mg L⁻¹ nos sucos HP, sendo atribuído ao procedimento de aquecimento das uvas e uso de enzima pectinase a responsabilidade pelas maiores concentrações de estilbenos nos sucos de uvas.

Tabela 4. Valores dos flavonóis e *trans*-resveratrol em sucos de uva obtidos de diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
Dose de Enzima	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
FLAVONÓIS						
Kaempferol	0,7 ± 0,5 b	1,4 ± 0,4 ab	0,9 ± 0,2 ab	1,5 ± 0,3 a	1,0 ± 0,1 ab	1,2 ± 0,2 ab
Miricetina	0,1 ± 0,1 a	0,2 ± 0,0 a	0,2 ± 0,1 a	0,2 ± 0,1 a	0,2 ± 0,1 a	0,3 ± 0,1 a
Isoramnetina	0,8 ± 0,6 a	1,3 ± 0,2 a	1,2 ± 0,6 a	1,5 ± 0,2 a	1,4 ± 0,3 a	1,6 ± 0,2 a
Rutina	0,9 ± 0,6 a	1,4 ± 0,2 ab	1,5 ± 0,1 ab	1,5 ± 0,1 ab	1,4 ± 0,3 ab	1,8 ± 0,3 a
Quercitina	ND	0,03 ± 0,06 b	0,10 ± 0,00 ab	0,10 ± 0,00 ab	0,07 ± 0,06 ab	0,17 ± 0,06 a
(Soma) Flavonóis quantificados	2,7 ± 1,8	4,3 ± 1,5	3,9 ± 1,0	4,8 ± 0,7	4,1 ± 0,9	5,1 ± 0,9
ESTILBENO						
<i>trans</i> -resveratrol	0,67 ± 0,1 a	0,67 ± 0,1 a	0,90 ± 0,3 a	0,70 ± 0,1 a	0,73 ± 0,1 a	0,90 ± 0,4 a

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinase por 100 kg de uva fresca. Flavonóis e *trans*-resveratrol expressos em mg L⁻¹. ND – Não Detectado.

A quantidade de resveratrol nas uvas, vinhos e sucos variam em função de fatores como clima, cultivar de uva e infecção por fungos, pois este estilbeno é produzido num mecanismo de defesa da planta. A presença de luz UV e práticas enológicas também exercem influência na sua composição (ALI et al., 2010).

Lucena et al. (2010) atribuíram à elevada concentração de *trans*-resveratrol em uvas e vinhos oriundos do VSF a fatores como a elevada exposição das plantas a radiação solar e altas temperaturas, condições que caracterizam o clima desta região, e a técnicas de manejo das videiras como a submissão das plantas ao estresse hídrico restringindo-se a irrigação após o período de pintor “*verasion*”.

Os valores elevados de *trans*-resveratrol nos sucos elaborados neste trabalho poderiam estar associados a fatores combinados como manejo das videiras e condições climáticas, com a técnica de processo utilizada. Podendo essa combinação ter favorecido numa melhor extração deste estilbeno, uma vez que em sucos artesanais oriundos da mesma região, obtidos por extração em painéis com vapor, Natividade et al. (2013) encontraram valores de *trans*-resveratrol de 0,05 mg L⁻¹ no suco de “Isabel Precoce” e não sendo detectado no suco de “BRS Cora”.

3.3.5 Antocianinas

Os valores de antocianinas nos sucos de uva estão apresentados na Tabela 5. As concentrações de antocianinas monoméricas totais nos sucos não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para os tratamentos de maceração estudados, e os valores médios variaram de 103 a 155 mg L⁻¹.

A soma média das antocianinas quantificadas por HPLC variou de 25,2 a 44,1 mg L⁻¹ nos sucos oriundos das diferentes condições de maceração, onde a antocianina que predominou foi a malvidina 3-glicosídeo com valores médios entre 7,1 e 11,2 mg L⁻¹, seguida em ordem decrescente por cianidina 3-glicosídeo (5,2 a 8,0 mg L⁻¹), malvidina 3,5 diglicosídeo (5,2 a 6,6 mg L⁻¹), cianidina 3,5 diglicosídeo (3,9 a 5,7 mg L⁻¹), delphinidina 3-glicosídeo (1,2 a 6,0 mg L⁻¹), pelargonidina peonidina 3-glicosídeo (0,4 a 3,9 mg L⁻¹) e peonidina 3-glicosídeo (2,0 a 3,1 mg L⁻¹), se verificando um distribuição homogênea das antocianinas nos sucos elaborados.

Em trabalho realizado por Natividade et al. (2013) foram caracterizadas as antocianinas nos sucos artesanais de “Isabel Precoce” e “BRS Cora” oriundos do VSF e o perfil mostrou que no suco de “Isabel

Precoce”, principal cultivar utilizada na formulação dos sucos deste trabalho, predominou a malvidina 3-glicosídeo (24 mg L^{-1}) seguida pela malvidina 3,5-diglicosídeo ($15,7 \text{ mg L}^{-1}$), e no suco de “BRS Cora”, cultivar utilizada na formulação para a melhoria da cor do suco, predominou a delfinidina 3-glicosídeo ($32,2 \text{ mg L}^{-1}$) seguida da cianidina 3,5-diglicosídeo ($22,5 \text{ mg L}^{-1}$), resultados estes que explicam o perfil homogêneo de antocianinas obtidos nos sucos formulados neste trabalho.

Os valores das antocianinas quantificadas por HPLC nos sucos estudados foram considerados baixos, sendo esses resultados atribuídos às altas temperaturas na região de cultivo das uvas desde o período de pintor das uvas no mês de janeiro até a colheita em fevereiro de 2013, cujas médias das temperaturas máximas foram de $34,6$ e $35,9^\circ\text{C}$ nesses meses (Anexo 1). Tarara et al. (2008) mencionam que temperaturas acima dos 35°C está associada à degradação e inibição da síntese de antocianinas nas bagas da uvas.

Os valores de antocianinas monoméricas totais obtidos em todos os sucos elaborados neste estudo estão de acordo com os mencionados na literatura para sucos artesanais e comerciais brasileiros, cuja variação foi de $25,6$ a $450,4 \text{ mg L}^{-1}$ (MALACRIDA e MOTTA, 2005; BURIN et al., 2010), e inferiores aos valores mencionados por Iyer et al. (2010) em sucos da cultivar “Concord” (850 mg L^{-1}) elaborados em condição industrial por processo HP nos Estados Unidos, com maceração a 60°C por 30 minutos em tanques dotados sistema de agitação, e a adição de $3,5 \text{ mL}$ de preparado enzimático (DSM Food Specialties, Parsippany, N. J., USA) por 100 kg de uva.

A soma das antocianinas quantificadas por HPLC nos sucos obtidos das diferentes condições de maceração neste trabalho estão de acordo com os resultados obtidos por Capanoglu et al. (2013) para sucos de uva pasteurizado e clarificado elaborados em condição industrial de processo na Turquia, onde a maceração foi realizada em temperaturas de 40 a 50°C durante 30 a 45 minutos com adição de enzima pectinase.

Diversos estudos têm mostrado que a concentração e o perfil de antocianinas nos sucos de uvas variam em função das técnicas processamento, tratos culturais da videira e cultivares de uvas utilizadas (TALCOTT e LEE, 2003; DANI et al., 2007; OH et al., 2008) e que as etapas de processo como pasteurização e tratamentos de clarificação, centrifugação e filtração tem resultado em diminuições na concentração das antocianinas dos sucos (CAPANOGLU et al., 2013).

Tabela 5. Valores de antocianinas nos sucos de uva obtidos das diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
Dose de Enzima						
ANTOCIANINAS						
Malvidina 3,5-diglicosídeo	6,6 ± 2,0 a	4,6 ± 0,6 a	5,2 ± 1,0 a	5,6 ± 0,6 a	6,1 ± 0,3 a	6,4 ± 0,1 a
Malvidina 3-glicosídeo	11,0 ± 4,9 a	7,1 ± 0,8 a	8,1 ± 3,6 a	8,8 ± 1,5 a	10,5 ± 0,5 a	11,2 ± 0,5 a
Cianidina 3,5-diglicosídeo	5,6 ± 0,9 a	3,9 ± 1,0 a	4,8 ± 1,0 a	4,7 ± 0,5 a	5,7 ± 0,3 a	5,6 ± 1,0 a
Cianidina 3-glicosídeo	7,9 ± 1,9 a	5,8 ± 1,2 a	5,2 ± 3,2 a	6,6 ± 0,4 a	7,3 ± 0,3 a	8,0 ± 0,3 a
Delfinidina 3-glicosídeo	6,0 ± 3,5 a	1,2 ± 0,3 a	3,3 ± 2,8 a	4,6 ± 1,7 a	5,7 ± 1,5 a	6,0 ± 1,2 a
Peonidina 3-glicosídeo	3,1 ± 1,5 a	2,0 ± 0,1 a	2,2 ± 1,0 a	2,4 ± 0,4 a	2,4 ± 0,2 a	3,0 ± 0,1 a
Pelargonidina 3-glicosídeo	3,9 ± 1,9 a	0,4 ± 0,2 a	2,4 ± 1,4 a	2,5 ± 1,3 a	3,5 ± 0,4 a	3,6 ± 0,4 a
(Soma) Antocianinas quantificadas	44,1 ± 16,6	25 ± 4,2	31,2 ± 14	35,2 ± 6,4	41,2 ± 3,5	43,8 ± 3,6
Antocianinas monoméricas totaismg L ⁻¹	155 ± 46 a	107 ± 22 a	117 ± 39 a	123 ± 2 a	103 ± 6 a	129 ± 21 a

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinase por 100 kg de uva fresca. Antocianinas expressas em mg L⁻¹.

3.3.6 Ácidos Fenólicos

Os resultados dos ácidos fenólicos estão apresentados na Tabela 6. A soma dos ácidos fenólicos quantificados variou de 22,4 a 29,2 mg L⁻¹ nos sucos obtidos das diferentes condições de maceração, mas não houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para as concentrações dos ácidos fenólicos identificados nos sucos.

O principal ácido detectado foi o ácido caféico com valores médios variando de 15,3 a 17,9 mg L⁻¹, sendo quantitativamente bastante superior aos demais ácidos analisados, ácido gálico (2,2 a 3,4 mg L⁻¹), cinâmico (0,5 a 2,0 mg L⁻¹), clorogênico (1,8 a 3,2 mg L⁻¹) e *p*-cumárico (1,1 a 1,7 mg L⁻¹).

Os valores obtidos para os ácidos gálico, cinâmico, clorogênico e *p*-cumárico estão de acordo com os mencionados para sucos de uvas (STALMACH et al., 2011; NATIVIDADE et al., 2013), entretanto para o ácido caféico os valores foram maiores. Em trabalho realizado por Mudinic et al. (2010) foi observado que os principais ácidos fenólicos presentes nos derivados de uvas possuem uma considerável atividade antioxidante, o que sugere um fator positivo na contribuição do ácido caféico para a atividade antioxidante dos sucos obtidos neste trabalho.

3.3.7 Atividade antioxidante por DPPH e ABTS

As médias e desvio padrão dos resultados obtidos estão apresentados na Figura 11. A atividade antioxidante dos sucos (AOX) foi expressa como equivalentes em milimol de Trolox por litro de suco (mM TEAC L⁻¹). Os valores de AOX obtidos variaram de 23,20 a 31,38 mM pelo método com DPPH, e entre 26,20 e 34,17 mM no método com ABTS. As AOX medidas pelos métodos com DPPH e ABTS em sucos de uvas brasileiros, comerciais e artesanais, encontrados na literatura apresentaram valores variando de 2,12 a 11,05 mM TEAC L⁻¹ (BURIN et al., 2010; VEDANA et al., 2008). Já em diversos tipos de vinhos foram mencionados valores variando de 3,44 a 23,17 mM TEAC L⁻¹ (GRISSET et al., 2011; ARCARI et al., 2013; KOSTADINOVIC et al., 2012;).

Os resultados da capacidade antioxidante medidas pelos métodos DPPH e ABTS em todos os sucos elaborados apresentaram uma alta atividade antioxidante, entretanto entre os tratamentos de

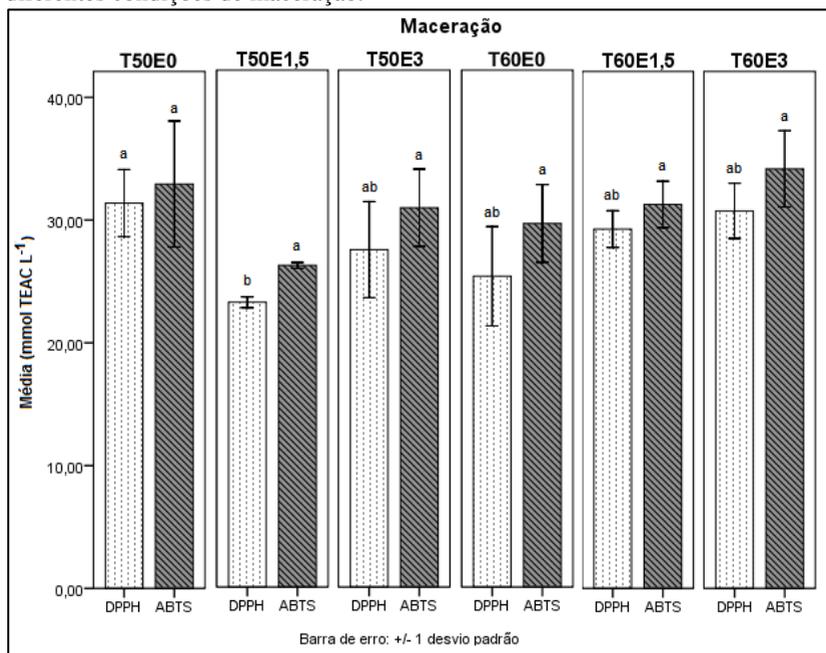
maceração estudados não houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para a medição com ABTS, já para a medição com DPPH foram observadas pequenas diferenças, sendo significativa no tratamento T50E1,5.

Tabela 6. Valores dos ácidos fenólicos nos sucos de uva obtidos em diferentes condições de maceração.

Temperatura	50°C			60°C		
	0	1,5	3,0	0	1,5	3,0
Dose de Enzima						
ÁCIDOS FENÓLICOS						
Ácido gálico	2,7 ± 0,7 a	2,2 ± 0,1 a	2,3 ± 0,4 a	3,4 ± 1,1 a	2,8 ± 0,3 a	2,8 ± 0,5 a
Ácido caféico	17,9 ± 1,6 a	15,3 ± 0,2 a	15,7 ± 1,0 a	16,5 ± 1,1 a	17,2 ± 0,9 a	17,2 ± 1,6 a
Ácido cinâmico	1,2 ± 1,0 a	0,5 ± 0,1 a	1,2 ± 0,7 a	1,4 ± 0,8 a	1,7 ± 0,3 a	2,0 ± 0,2 a
Ácido clorogênico	1,8 ± 0,4 a	3,2 ± 2,0 a	2,3 ± 0,1 a	2,4 ± 1,2 a	2,7 ± 0,1 a	2,5 ± 0,3 a
Ácido <i>p</i> -cumárico	1,1 ± 0,4 b	1,4 ± 0,1 ab	1,4 ± 0,0 ab	1,5 ± 0,5 ab	1,6 ± 0,2 ab	1,7 ± 0,1 a
(Soma) Ácidos Fenólicos quantificados	24,7 ± 4,1	22,4 ± 2,5	22,9 ± 2,2	29,2 ± 4,7	26 ± 1,8	26,2 ± 2,7

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Dose de Enzima – mililitros de preparado enzimático a base de pectinase por 100 kg de uva fresca. Ácidos Fenólicos expressos em mg L⁻¹.

Figura 11. Valores de atividade antioxidante dos sucos de uvas obtidos das diferentes condições de maceração.



3.3.8 Análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot”

A análise de componentes principais foi aplicada nos ácidos orgânicos, compostos fenólicos e atividade antioxidante analisados, em função dos tratamentos (variável suplementar), resultando em 36 componentes principais. As componentes 1 e 2 (PC1 e PC2, respectivamente) explicaram 66,0% da variância obtida no experimento, onde a PC1 explicou 39,8% e a PC2 26,2%. O fator de análise está apresentado na Tabela 7, e mostrou que as variáveis com maior contribuição para a separação dos tratamentos de maceração na PC1 com loading > 0,70 foram fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT), atividade antioxidante DPPH e ABTS, epicatequina (Epc), epicatequina galato (loading negativo), ácido cafeíco (Acf), ácido cinâmico (Acn), pelargonidina 3-glicosídeo (Pel), cianidina 3-glicosídeo (Cia), cianidina 3,5-diglicosídeo (CiD), malvidina 3-glicosídeo (Mal), malvidina 3,5-diglicosídeo (MaD), delphinidina 3-

glicosídeo (Del) e pelargonidina 3-glicosídeo (Pel). Na PC2 as variáveis que mais contribuíram na separação (loading > 0,70) foram: catequina (loading negativo), procianidina B1 (PB1), kaempferol (Kae), quercitina (Que), isoramnetina (Ism) e rutina (Rut).

As componentes PC1 e PC2 separaram os tratamentos de maceração em quatro grupos distintos (Figura 12). A componente 1 (PC1) com um maior peso de variância explicada (39,8%) separou os tratamentos de maceração em dois grupos, as macerações realizadas a 50°C (T50E0, T50E1,5 e T50E3) e as realizadas a 60°C (T60E0; T60E1,5 e T60E3) influenciado principalmente pelas correlações positivas entre os tratamentos de maceração em 60°C com FT, AMT, DPPH, ABTS, Epc, Acf, Acn, Pel, Cia, CiD, Mal, MaD, Del e Pel. Já a componente 2 (PC2) separou os tratamentos de maceração também em dois grupos, os que não receberam enzima (T50E0 e T60E0) e os que receberam preparado enzimático a base de pectinase (T50E1,5; T50E3, T60E1,5 e T60E3), influenciados pelas correlações positivas entre os tratamentos T50E1,5; T50E3, T60E1,5 e T60E3 com a PB1, Kae, Que, Ism e Rut, e correlação negativa com a catequina.

Com base nas separações obtidas na PC1 e PC2 fica evidenciado que o aumento da temperatura de maceração de 50 para 60°C foi o fator que mais contribuiu para uma maior extração de compostos fenólicos das películas, principalmente em relação as antocianinas quantificadas no suco.

O uso de preparado enzimático na maceração foi o fator que influenciou na elevação das concentrações de procianidina B1, kaempferol, quercitina, isoramnetina e rutina, e na diminuição da catequina nos sucos obtidos. Já a combinação da temperatura de 60°C com o uso do preparado enzimático na dose 3,0 mL 100kg⁻¹ de uva (T60E3) resultaram numa maior extração de quase todos os compostos fenólicos analisados, com excessões para a catequina e epicatequina que diminuíram as concentrações.

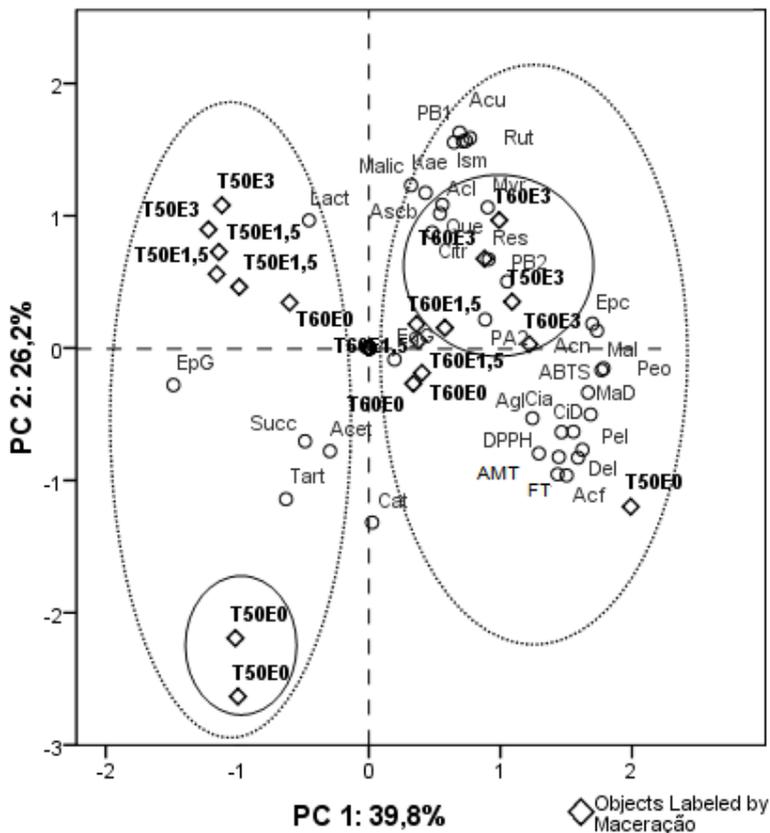
A análise de componentes principais conseguiu separar bem os tratamentos de maceração em função dos compostos analisados, fornecendo uma visão geral sobre o efeito da temperatura e do uso de preparado enzimático na extração de compostos bioativos da uva. Além de mostrar as altas correlações entre as atividades antioxidantes por DPPH e ABTS com as antocianinas, fenólicos totais, catequina, epicatequina, ácido caféico, ácido cinâmico e ácido gálico, separados por loadings positivos na componente 1.

Tabela 7. Correlações (loadings) dos compostos fenólicos e ácidos orgânicos nas componentes principais 1 e 2.

Váriáveis	Componente	
	PC1	PC2
Catequina	0,014	-0,723
Epicatequina galato	-0,815	-0,153
Epigallocatequina	0,107	-0,047
Ácido gálico	0,682	-0,291
Procianidina B1	0,379	0,894
Ácido caféico	0,825	-0,528
Ácido cinâmico	0,952	0,072
Ácido clorogênico	0,297	0,558
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,405	0,860
<i>trans</i> -resveratrol	0,500	0,368
Kaempferol	0,355	0,853
Quercetina	0,307	0,595
Isoramnetina	0,392	0,857
Rutina	0,423	0,871
Miricetina	0,496	0,583
Epicatequina	0,932	0,101
Procianidina A2	0,485	0,118
Procianidina B2	0,577	0,276
Pelargonidina 3-glicosideo	0,873	-0,455
Cianidina 3,5-diglicosideo	0,804	-0,348
Cianidina 3-glicosideo	0,853	-0,347
Malvidina 3-glicosideo	0,925	-0,275
Delfinidina 3-glicosideo	0,891	-0,422
Malvidina 3,5-diglicosideo	0,970	-0,092
Peonidina 3-glicosideo	0,979	-0,085
DPPH	0,792	-0,452
ABTS	0,914	-0,185
Fenólicos totais	0,787	-0,523
Antocianinas monoméricas totais	0,710	-0,437
Ácido acético	-0,162	-0,427
Ácido cítrico	0,264	0,479
Ácido láctico	-0,249	0,530
Ácido málico	0,177	0,675
Ácido succínico	-0,266	-0,387
Ácido tartárico	-0,345	-0,626
Ácido ascórbico	0,237	0,644
Tratamentos de maceração*	0,062	0,919
<i>Eigenvalue</i>	14,318	9,441
% Varância	39,77	26,23
% Variância acumulada	39,77	66,0

*Variável suplementar.

Figura 12. “Biplot” da separação dos tratamentos de maceração em função das análises de compostos fenólicos, atividade antioxidante e ácidos orgânicos, nas componentes principais.



EpG – Epicatequina Galato; Cat – Catequina; Epc – Epicatequina; EgG – Epigalocatequina; PB1 – Procianidina B1; PB2 – Procianidina B2; PA2 – Procianidina A2; Kae – Kaempferol; Ism – Isoramnetina; Myr – Miricetina; Rut – Rutina; Que – Quercitina; Res – Resveratrol; Acu – Ácido cumárico; Acl – Ácido clorogênico; Acn – Ácido cinâmico; Agl – Ácido gálico; Acf – Ácido caféico; Cia – Cianidina 3-glicosídeo; CiD – Cianidina 3,5-diglicosídeo; Mal – Malvidina 3-glicosídeo; MaD – Malvidina 3,5-diglicosídeo; Pel – Pelargonidina 3-glicosídeo; Del – Delfinidina 3-glicosídeo; Peo – Peonidina 3-glicosídeo; AMT – Antocianinas monoméricas totais; FT – Fenólicos totais; DPPH – Atividade antioxidante; ABTS – Atividade antioxidante; Tart – Ác. Tartárico; Malic – Ác. Málico; Acet – Ác. Acético; Succ – Ác. Succínico; Citr – Ác. Cítrico; Ascb – Ác. Ascórbico; Lact – Ác. Láctico.

3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo utilizado para obtenção dos sucos apresentou um alto rendimento sem a prensagem da uva. Os tratamentos de maceração exerceram influência significativa em parâmetros de qualidade como rendimento e limpidez do suco, onde a temperatura de 60°C com adição do preparado enzimático a base de pectinases resultaram num incremento de 6,0% no rendimento e na redução da turbidez. Foram observadas diferenças na composição fenólica, onde o uso da enzima diminuiu a concentração de catequinas e aumentou as procianidinas B1 e B2. A elevação da temperatura de maceração de 50 para 60°C foi o fator que mais contribuiu para a maior extração de compostos fenólicos das películas, principalmente em relação as antocianinas. O aumento da temperatura de 60°C com o uso do preparado enzimático na dose 3,0 mL 100kg⁻¹ de uva resultaram na maior extração de praticamente todos os compostos fenólicos analisados, bem como no aumento da concentração dos ácidos málico e láctico, e diminuição do ácido acético nos sucos. A atividade antioxidante nos sucos foram altas, e entre os compostos bioativos quantificados se teve destaque para o ácido caféico, procianidina B1 e, principalmente, o *trans*-resveratrol com valores superiores aos encontrados em sucos de regiões tradicionais. A análise de componentes principais separou bem os tratamentos de maceração em função dos fenólicos e ácidos orgânicos, fornecendo uma visão geral sobre o efeito da temperatura e do uso de preparado enzimático na extração de compostos bioativos da uva. Além de evidenciar altas correlações entre as atividades antioxidantes obtidas com as antocianinas, fenólicos totais, catequina, ácidos caféico, cinâmico e gálico.

CAPÍTULO IV – COMPOSTOS FENÓLICOS, ÁCIDOS ORGÂNICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS DE UVAS PRODUZIDOS COM NOVAS VARIEDADES BRASILEIRAS PLANTADAS NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL

4.1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de sucos de uva está estimada entre 11 e 12 milhões de hectolitros, onde os principais países produtores e consumidores desta bebida são os Estados Unidos da América, Brasil e Espanha (OIV, 2013). No Brasil a produção de suco de uva tem crescido a cada ano, pois apenas no Rio Grande do Sul, maior estado produtor de uvas e derivados, a produção passou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 220 milhões de litros em 2012 (MELLO, 2013).

Os sucos de uvas brasileiros são elaborados com uvas americanas (*Vitis labrusca*) e híbridas, sendo as cultivares “Isabel”, “Bordô” e “Concord”, todas *Vitis labrusca*, a base para o suco brasileiro (RIZZON e MIELE, 2012). Já os sucos de uva produzidos nos Estados Unidos são elaborados, principalmente, com a cultivar “Concord”, e variedades Muscadíneas (*Vitis rotundifolia*) (MORRIS, 1998; IYER et al., 2010).

A região do Vale Submédio São Francisco (VSF), localizada no Nordeste do Brasil entre os paralelos 8 e 9° Hemisfério Sul e longitude 40W em clima tropical semi-árido, tem recebido destaque no cenário vitivinícola por ser o segundo maior produtor de uvas e vinhos finos do Brasil e representar mais de 95% da exportação nacional de uvas de mesa (MELLO, 2012).

Recentemente empresas têm investido na produção de sucos de uva em escala comercial nesta região. Entretanto, a viticultura praticada no VSF (Viticultura Tropical) é diferente de outras regiões tradicionais do mundo, pois a mesma videira produz duas safras por ano. Por se tratar de uma região de clima quente, com alta luminosidade e água em abundância para a irrigação, as empresas vinícolas fazem um planejamento da época em que pretendem colher a uva e realizam a poda de produção das videiras em diferentes períodos, adotando um sistema de escalonamento para se ter colheitas distribuídas ao longo do mês, e em vários meses do ano (TEIXEIRA et al., 2007; CAMARGO et

al., 2011). Com isso, se elaboram sucos de uva de maneira constante durante todo o ano.

As uvas destinadas à produção de suco plantadas no Vale do Submédio São Francisco são a “Isabel Precoce” (*Vitis labrusca*) e os híbridos “BRS Cora” e “BRS Violeta”, e em fase experimental, o híbrido “BRS Magna”, que fazem parte das novas cultivares brasileiras desenvolvidas para a melhoria da qualidade do suco de uva (Ribeiro et al., 2012; CAMARGO et al., 2011; RITSCHER et al., 2012).

A “Isabel Precoce” é originária de uma mutação somática espontânea da cultivar “Isabel”, que apresenta boa produtividade, maturação antecipada e as mesmas características de sua cultivar de origem (CAMARGO, 2004). Já as cultivares híbridas “BRS Cora” e “BRS Violeta” são utilizadas na melhoria de cor em sucos com deficiência nesse atributo, onde se recomenda a sua mistura na proporção de 15 a 20% da formulação do suco (CAMARGO e MAIA, 2004; CAMARGO et al., 2005). O híbrido “BRS Magna” é uma cultivar de ampla adaptação climática, destinado à elaboração de sucos com boa coloração e aroma típico de *Vitis labrusca* (RITSCHER et al., 2012).

As primeiras empresas produtoras de sucos em escala comercial no Vale do São Francisco têm utilizado os cortes (misturas) de “Isabel Precoce” 80% com “BRS Cora” ou “BRS Violeta” 20%, para obtenção de produtos com boa intensidade de cor.

Os sucos de uva são ricos em compostos fenólicos e estudos têm demonstrado que essas substâncias possuem atividades biológicas relacionadas com benefícios à saúde dos consumidores (VAUZOUR et al., 2010; KRİKORIAN et al., 2012). Os fenólicos presentes nos sucos de uva, que estão associados com benefícios à saúde são, principalmente, flavonóis, flavanóis e antocianinas, que fazem parte da família dos flavonoides, e os não flavonoides como ácidos fenólicos e o estilbeno resveratrol (SAUTTER et al., 2005; ALI et al. 2010; XIA et al., 2010; KRİKORIAN et al., 2012).

Os flavonóis são representados, principalmente, pelo kaempferol, quercitina, miricetina, e por derivados *orto*-metilados simples como a isoramnetina, os quais tem recebido considerável interesse ao longo do tempo por suas propriedades antioxidantes (MAKRIS et al., 2006). Dentre os flavanóis, a (+)-catequina, (-)-epicatequina e procianidinas tem recebido atenção por possuir atividades antioxidantes, antiinflamatória e bactericida (XIA et al., 2010).

As principais antocianinas encontradas no suco de uva são a malvidina, cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina e pelargonidina, e atividades biológicas como capacidade antioxidante e prevenção de doenças cardiovasculares têm sido associadas ao seu consumo (OHet al., 2008; XIA et al., 2010).

Ácidos fenólicos como, ácidos gálico, caféico e clorogênico, têm sido estudados pela sua capacidade antioxidante e vasodilatadora (MUDINICet al., 2010). E estilbenos em geral como o *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), em particular, tem sido associado a vários efeitos como atividade bactericida, fungicida, possuir ações cardioprotetora, atividade anticâncer e efeitos positivos para a longevidade de seres humanos (ALI et al., 2010).

Outro grupo de compostos de interesse em sucos de uva são os ácidos orgânicos, devido a sua influência nas propriedades organolépticas como sabor, cor e aroma. Também exercem influência sobre a estabilidade do suco, e são utilizados como um possível indicador de alterações microbiológicas nesta bebida (MATOet al., 2007).

Os ácidos orgânicos presentes nos sucos de uva são semelhantes aos encontrados no mosto das uvas frescas, onde predominam os ácidos tartárico e málico, e os ácidos succínico e cítrico estão em menor quantidade (SOYERet al., 2003). Já a presença do ácido acético é um indicador de alterações microbiológicas indesejadas (PEYNAUD, 1999).

Entre as atividades biológicas relacionadas aos fenólicos, a capacidade antioxidante é a que está associada a praticamente todos os compostos pertencentes às famílias dos flavonoides e não flavonoides, sendo esta, uma das principais atividades biológicas pesquisada. O resultado das medições da atividade antioxidante depende da técnica utilizada (MUSELIK et al., 2007), para sucos de uva, diversos métodos têm sido empregados (DÁVALOS et al., 2005; DANI et al., 2007; BURIN et al., 2010), entretanto, a Organização Internacional da Uva e Vinho (OIV) recomenda a utilização do método de captura de radicais livres com o 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (OIV, 2011).

Fatores como cultivares de uvas, técnicas de processamento, tratos culturais da videira e regiões geográficas de origem exercem significativa influência na composição fenólica e atividade antioxidante dos sucos (TALCOTT e LEE, 2002; FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003; LEBLACet al., 2008; DANI et al., 2007; NATIVIDADE et al.,

2013).

A fim de avaliar o potencial fenólico bioativo de sucos de uva, o objetivo deste trabalho foi de determinar os compostos fenólicos, ácidos orgânicos e a atividade antioxidante *in vitro* dos sucos de uva elaborados com novos cultivares *Vitis labrusca* e híbridos plantados no Vale do Submédio São Francisco, região Nordeste do Brasil.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Localização, obtenção das uvas e características do vinhedo

As uvas das cultivares “Isabel Precoce” e “BRS Violeta” foram provenientes de uma área em plena produção para elaboração comercial de suco, situada na Fazenda Fujiyama, que faz parte da Cooperativa Agrícola Nova Aliança (COANA), situada no Projeto Senador Nilo Coelho – Núcleo 4, lote 56, Zona Rural, Petrolina-PE, na latitude 09° 21’ S e longitude 40° 40’ W, a aproximadamente 360 metros de altitude. As uvas das cultivares “BRS Cora” e “BRS Magna” foram colhidas no vinhedo experimental da Fazenda Timbaúba Agrícola localizada na Rodovia BR 122, Km 174, PISNC Núcleo 11, Zona Rural, Petrolina PE, na latitude 09° 11’ S e longitude 40° 29’ W.

As plantas utilizadas foram provenientes de vinhedos com idade média de dois anos, enxertadas sob o porta-enxerto *Paulsen 1103*, plantadas em espaçamento 3,5 x 3,0 metros entre linhas e plantas, respectivamente, e conduzidas em sistema de latada. A irrigação foi realizada por microaspersão e as videiras foram podadas (poda de produção) em 25 de junho de 2012 e as uvas colhidas no período de 15 a 19 de outubro de 2012, quando atingiram os critérios de maturação estabelecidos: sólidos solúveis (grau Brix) entre 18 e 21, acidez titulável (AT) de 0,7 a 0,9g 100mL⁻¹ de mosto, expresso em ácido tartárico, e relação °Brix/AT (Rácio) entre 20 e 26.

Os sucos das uvas foram elaborados na planta industrial pertencente à COANA, localizada no Projeto Senador Nilo Coelho – Núcleo 02, lote 551, Zona Rural, Petrolina-PE. As análises de compostos fenólicos foram realizadas no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. E, a realização das análises da atividade antioxidante no Departamento de Ciência e Tecnologia de

Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Os dados climáticos média/mês da região nos meses de junho a outubro de 2012, da poda até a época da colheita, foram: temperatura 25,6°C, precipitação pluviométrica 1,8 mm; umidade relativa 54%, evaporação 8,2 mm, radiação 486,8 ly/dia e insolação 8,5 horas, medidos na estação agrometeorológica de Bebedouro – Petrolina PE (09°09'S 40°22'W).

Os sucos elaborados foram: “Isabel Precoce” (IP), “BRS Cora” (BC), “BRS Violeta” (BV), “BRS Magna” (BM), e cortes comerciais utilizados por empresas da região, “Isabel Precoce” 80% com “BRS Violeta” 20% (IPBV) e “Isabel Precoce” 80% com “BRS Cora” 20% (IPBC), sendo os cortes realizados por mistura das uvas no momento da pesagem.

4.2.2 Tratamentos e análise estatística

Os tratamentos consistiram em seis sucos de uva elaborados em escala industrial (IP, BC, BV, BM, IPBV e IPBC), onde cada suco foi obtido de um tanque de processo contendo 3.000 kg de uva, totalizando 18.000 kg utilizados. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso com três repetições, onde cada repetição correspondeu a uma garrafa de suco obtida do tanque de processo. Os resultados obtidos das variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Também foram aplicadas análises de correlação de Pearson a 5% e 1% de probabilidade, entre compostos fenólicos quantificados e atividade antioxidante, com auxílio do programa SPSS Version 17.0 statistical package for Windows (SPSS, Chicago, USA).

4.2.3 Padrões e Reagentes

Álcool etílico, persulfato de potássio e Folin-Ciocalteu foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromato-2-ácido carboxílico), 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Metanol, acetonitrila e ácido fosfórico 85% foram obtidos da Vetec química Fina Ltda (Rio de Janeiro, Brasil), J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) e Fluka (Switzerland), respectivamente. Água ultrapura obtida por

purificação em sistema Purelab Option Q Elga System (USA). Malvidina 3,5-diglicosídica, cianidina 3,5-diglicosídica, malvidina 3-glicosídica, cianidina 3-glicosídica, peonidina 3-glicosídica, delphinidina 3-glicosídica e pelargonidina 3-glicosídica, kaempferol 3-glicosídeo, miricetina, quercitina, rutina (quercitina 3-rutinosídeo), isoramnetina 3-glicosídeo, (+) –catequina, (-) –epicatequina, (-) –epicatequina galato, (-) –epigallocatequina, procianidinas A2, B1 e B2, e *t*-resveratrol obtidos da Extrasynthese (Genay, França). Ácido gálico, ácido cinâmico e ácido caféico da Chem Service (West Chester, USA). Ácido *p*-cumárico e ácido clorogênico da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

4.2.4 Elaboração dos sucos

Os sucos foram elaborados na empresa COANA, Petrolina PE, obtidos por extração à quente sem prensagem do bagaço (Figura 1), em linha de processo fabricada pela metalúrgica JAPA[®] (Garibaldi-RS, Brasil). As uvas foram desengaçadas e esmagadas em desengaçadeira automática modelo DZ-35, adicionada de preparado enzimático líquido a base de pectinase Endozym[®] Pectofruit PR fabricado por Spindal – Pascal Biotech (Gretz-Armainvilliers, França) na dose 3,0 mL 100 kg⁻¹ de uva (Figura 2), bombeadas para tanque de maceração dotado de cintas de aquecimento por circulação de água a 80°C, onde foram aquecidas até atingir 60°C (duração do aquecimento de uma hora) e permaneceram em maceração durante uma hora na temperatura de 60°C sob constante remontagem da parte líquida (Figuras 3 e 4). Após a maceração realizou-se separação do suco, por drenagem durante 2,5 horas, com auxílio de bomba de sucção, procedimento que dispensa a prensagem do bagaço, e envio para tanque pulmão (Figura 5) onde foi homogeneizado e enviado para pasteurização a 85°C por um tempo de um minuto, em pasteurizador do tipo placas (Figura 6). Depois de pasteurizado o suco foi envasado à quente em garrafas de vidro incolor capacidade 1L fabricadas pela Saint-Gobain[®] (São Paulo-SP, Brasil), utilizando uma envasadora gravimétrica automática modelo EVR12 (Figura 7), seguido de colocação das tampas, fechamento e tombamento da garrafa. Após o fechamento as garrafas foram resfriadas em túnel de resfriamento, por pulverização de água, até atingir a temperatura máxima de 45°C.

Figura 1. Fluxograma da elaboração do suco de uva por extração a quente sem prensagem do bagaço.

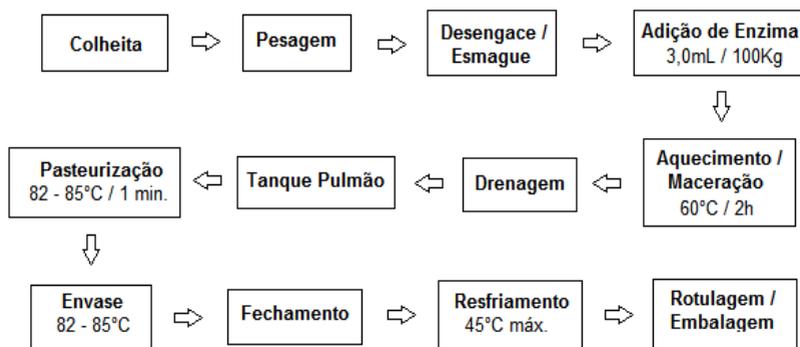


Figura 2. Desengace e esmague da uva com adição de preparado enzimático por pulverização. Fonte: Próprio autor.



Figura 3. Tanque de maceração com controle de temperatura e sistema de remontagem constante na empresa COANA, Petrolina PE - Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 4. Esquema da maceração com remontagem constante e separação do suco da uva por drenagem. Fonte: Próprio autor.

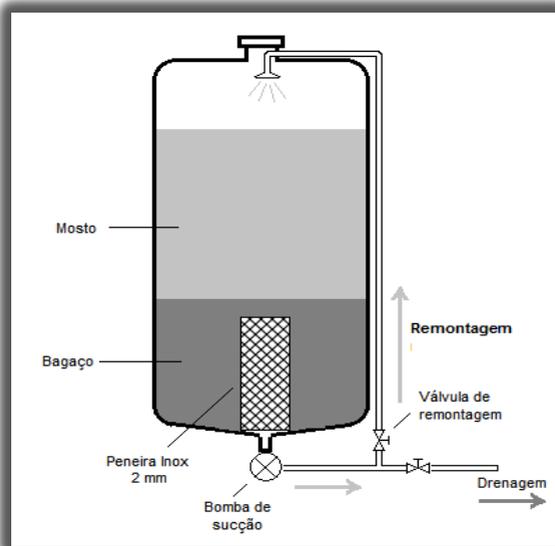


Figura 5. Tanque pulmão de armazenagem do suco na empresa COANA, Petrolina PE - Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 6. Pasteurizador tipo placas com controle de temperatura na empresa COANA, Petrolina PE - Brasil. Fonte: Próprio autor.



Figura 7. Enchedora gravimétrica automática com sistema de fechamento de garrafas na empresa COANA, Petrolina PE - Brasil. Fonte: Próprio autor.



4.2.5 Análises físico-químicas clássicas

Todas as determinações analíticas foram realizadas em triplicata, em três repetições, onde cada repetição foi composta por uma garrafa de suco obtida pós-envase do tanque com o respectivo suco da cultivar.

4.2.5.1 pH

O pH do foi determinado diretamente por medida eletrométrica dos íons H^+ em 100mL do suco, segundo Brasil (2005), utilizando um potenciômetro digital de bancada microprocessado modelo pH Analyser (Tecnal, Brasil).

4.2.5.2 Sólidos Solúveis (SS)

A análise foi realizada por leitura do grau Brix do suco em refratômetro digital modelo HI 96801 (Hanna, Estados Unidos).

4.2.5.3 Acidez titulável (AT)

Transferiram-se 10 mL da amostra para um erlenmeyer de 250 mL contendo 100mL de água destilada, livre de dióxido de carbono. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração azul, usando 5 gotas de solução de azul de bromotimol 1% como indicador. Os resultados foram calculados conforme a equação abaixo:

$$At = \frac{1000 \times n \times N \times 0,075}{V}$$

Sendo,

At = Acidez titulável em g L⁻¹; n = volume da solução de NaOH gasto na titulação; N = normalidade da solução de NaOH; 0,075 = miliequivalente grama do ácido tartárico; V = volume da amostra em mL.

4.2.5.4 Relação SS/AT

A relação SS/AT foi determinada pela obtenção do quociente da divisão entre os sólidos solúveis do suco (grau Brix) e a sua acidez titulável em g 100mL⁻¹ de ácido tartárico.

4.2.5.5 Índices de cor

A absorbância do suco a 420nm e 520nm (A₄₂₀ e A₅₂₀) representa, respectivamente, sua cor amarela e vermelha, e o índice 620nm (A₆₂₀) representa a cor azul. Sua determinação no suco foi realizada segundo metodologia descrita por Glories (1984), onde as absorbâncias a 420nm, 520nm e 620nm do suco, previamente centrifugado a 2500 rpm por 5 minutos em centrífuga EEQ-9004/B (Edutec, Brasil), foram lidas no espectrofotômetro UV-Visível modelo UV 2000A (Instrutherm, Brasil) em cubeta de vidro de 0,5 cm de percurso óptico e o resultado expresso como 1,0 cm de percurso óptico. A intensidade da cor (IC) foi determinada pela soma das absorbâncias a 420nm, 520nm e 620nm (IC = A₄₂₀ + A₅₂₀ + A₆₂₀).

4.2.6 Determinação de fenólicos totais

A concentração de fenólicos totais (FT) foi determinada pelo método espectrofotométrico com Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965), onde foram adicionados em um tubo de ensaio, 0,10 mL do suco previamente diluído 1/10 em água destilada, 7,90 mL de água destilada e 0,50 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 a 8 minutos acrescentaram-se 1,50 mL de uma solução saturada de Na_2CO_3 20%, se homogeneizou e ficou em repouso por 2 horas. Em seguida foi lida a absorbância a 765 nm em cubeta de vidro de 10mm de percurso óptico utilizando espectrofotômetro UV-Visível modelo UV 2000A (Instrutherm, Brasil) zerado com branco dos reagentes sem adição de amostra. Os resultados foram expressos em mg L^{-1} , equivalentes ao ácido gálico, por comparação com uma curva de calibração construída nas concentrações 0, 25, 50, 100, 250, 350 e 500 mg L^{-1} de ácido gálico.

4.2.7 Determinação das antocianinas monoméricas totais

A metodologia utilizada na determinação de antocianinas monomérica totais (AMT) foi a da diferença de pH, de acordo com Lee et al. (2005). Foram elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio 0,025M adicionada de ácido clorídrico P.A até de pH 1,0, outra de acetato de sódio 0,4M adicionada de ácido clorídrico P.A até pH 4,5. A amostra de suco foi diluída (1/10) em cada soluções tampão e fez-se a leitura a 520nm e 700nm, tanto no tampão de pH 1,0 quanto de pH 4,5. A leitura a 700nm é foi realizada para descontar a turbidez da amostra. O valor da absorbância final (A_F) foi calculado a partir da equação:

$$A_F = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

A concentração de pigmentos no suco será calculada e representada como cianidina-3-glicosídeo, conforme equação abaixo:

$$\text{Antocianinas (mg L}^{-1}\text{)} = (A_F \times \text{PM} \times \text{FD} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Sendo: MM = massa molecular da cianidina-3-glicosídeo(463,3); FD = fator de diluição e ϵ = absortividade molar da cianidina-3-glicosídeo (28000).

4.2.8 Análises de ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As quantificações dos ácidos tartárico, málico, cítrico, láctico, succínico, acético e ascórbico foram realizadas por HPLC utilizando um cromatógrafo WATERS, modelo Alliance e2695, acoplado a Detector de Arranjos de Diodos (DAD), seguindo a metodologia descrita por Rybkaet al. (2012). As amostras de suco foram filtradas em membrana de 0,45 μ m e injetadas em triplicata. Na determinação dos ácidos o DAD foi mantido no comprimento de onda de 250 nm para o ácido ascórbico e 210 nm para os ácidos tartárico, málico, cítrico, láctico, succínico e acético, com tempo de corrida de 15 minutos, fluxo de 0,6 mL min⁻¹, temperatura do forno de 26°C e volume de injeção de 10 μ L. A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de 3 μ m, e pré-coluna Gemini-NX C18, 4,0 x 3,0 mm, ambas da Phenomenex[®]. A fase foi compreendida por uma solução de KH₂PO₄ a 0,025M acidificado a com H₃PO₄ até pH 2,6. Para a linearidade do método, os valores de R² obtidos variaram entre 0,9984 e 0,9998. O menor e maior valor para limite de detecção (LOD) foram respectivamente 0,03 e 3,59 mg L⁻¹ para os ácidos ascórbico e cítrico.

4.2.9 Compostos fenólicos por HPLC

Os compostos fenólicos foram determinados por HPLC em cromatógrafo WATERS modelo Alliance e2695, equipado com bomba de solvente quaternário e injetor automático, acoplado a Detector de Arranjos de Diodos (DAD) e Detector de Fluorescência (DF), conforme metodologia descrita por Natividade et al. (2013). A obtenção e processamento dos dados foram realizados utilizando o Software EmpowerTM 2 (Milford, EUA). Para o DAD, foram utilizados os comprimentos de onda de 220nm para o ácido gálico, (-) –epicatequina galato, (-) –epigallocatequina e procianidina B1; 320nm para o *t*-resveratrol, ácido caféico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico e ácido clorogênico; 360nm para os flavonóis: kaempferol 3-*O*-glicosídeo, miricetina, quercitina, rutina e isoramnetina; e 520nm para as antocianinas: malvidina 3,5-diglicosídica, cianidina 3,5-diglicosídica, malvidina 3-glicosídica, cianidina 3-glicosídica, peonidina 3-glicosídica, delphinidina 3-glicosídica e pelargonidina 3-glicosídica. Para o DF, a

excitação se deu em 280 nm e a emissão em 320nm para (+) –catequina, pricianidina B2, procianidina A2 e (-) –epicatequina. A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de 3 μ m, e pré-coluna Gemini-NX C18, 4,0 x 3,0 mm, ambas da Phenomenex®. A temperatura do forno foi mantida em 40°C e o volume de injeção de 10 μ L do suco, previamente filtrado em membrana de 0,45 μ m (Allcrom-Phenomenex, USA), com fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado na separação se deu a: 0 min: 100% A; 10 min: 93% A e 7% B; 20 min: 90% A e 10% B; 30 min: 88% A e 12% B; 40 min: 77% A e 33% B; 45 min: 65% A e 35% B e 55 min: 100% B. Solvente A (solução de ácido fosfórico a 0,85%) e Solvente B (acetronitrila).

Repetibilidade do método

A repetibilidade do método foi baseada em seis determinações consecutivas realizadas em seis soluções padrão de cada fenólico analisado, em faixas de concentração definidas de acordo com os valores do analito comumente encontrados em sucos de uva. Os valores do %RSD obtidos foram: ácido gálico 3,14%, (-)–epicatequina galato 2,58%, (-) –epigalocatequina 1,70%, procianidina B1 1,65%,*t*-resveratrol 1,29%, ácido caféico 1,42%, ácido cinâmico 2,75%, ácido *p*-cumárico 2,81%, ácido clorogênico 0,85%, kaempferol 2,70%, miricetina 5,38%, quercitina 1,97%, rutina 1,59%, isoramnetina 2,14%, malvidina 3,5-diglicosídica 1,64%, cianidina 3,5-diglicosídica 0,73%, malvidina 3-glicosídica 2,43%, cianidina 3-glicosídica 2,11%, peonidina 3-glicosídica 1,67, delfinida 3-glicosídica 2,92%, pelargonidina 3-glicosídica 2,87%, (+)–catequina 2,27%, pricianidina B2 2,72%, procianidina A2 2,90% e (-)–epicatequina 1,48%.

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para os métodos HPLC-DAD-DF foram estimados como 3 e 10 desvios padrão da média, respectivamente, dos resultados obtidos. Os valores foram: ácido gálico 0,07 e 0,24 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9987$), (-)–epicatequina galato 0,07 e 0,10 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9912$), (-) –epigalocatequina 0,19 e 0,31 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9993$), procianidina B1 0,03 e 0,11 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9997$),*t*-resveratrol 0,01 e 0,05 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9991$), ácido caféico 0,08 e 0,28 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9988$), ácido cinâmico 0,11 e 0,37 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,9993$),

ácido *p*-cumárico 0,05 e 0,16 mg L⁻¹ (R² = 0,9999), ácido clorogênico 0,02 e 0,07 mg L⁻¹ (R² = 0,9986), kaempferol 0,06 e 0,21 mg L⁻¹ (R² = 0,9987), miricetina 0,01 e 0,03 mg L⁻¹ (R² = 0,9992), quercitina 0,002 e 0,01 mg L⁻¹ (R² = 0,9996), rutina 0,04 e 0,13 mg L⁻¹ (R² = 0,9998), isoramnetina 0,01 e 0,04 mg L⁻¹ (R² = 0,9988), malvidina 3,5-diglicosídica 0,06 e 0,21 mg L⁻¹ (R² = 0,9990), cianidina 3,5-diglicosídica 0,04 e 0,14 mg L⁻¹ (R² = 0,9984), malvidina 3-glicosídica 0,03 e 0,12 mg L⁻¹ (R² = 0,9976), cianidina 3-glicosídica 0,11 e 0,37 mg L⁻¹ (R² = 0,9984), peonidina 3-glicosídica 0,01 e 0,08 mg L⁻¹ (R² = 0,9976), delphinida 3-glicosídica 0,09 e 0,28 mg L⁻¹ (R² = 0,9990), pelargonidina 3-glicosídica 0,04 e 0,12 mg L⁻¹ (R² = 0,9388), (+)-catequina 0,01 e 0,03 mg L⁻¹ (R² = 0,9887), pricianidina B2 0,001 e 0,003 mg L⁻¹ (R² = 0,9839), procianidina A2 0,003 e 0,01 mg L⁻¹ (R² = 0,9901) e (-)-epicatequina 0,01 e 0,04 mg L⁻¹ (R² = 0,9838). Onde os resultados foram considerados aceitáveis para os fins propostos.

4.2.10 Determinação da atividade antioxidante com DPPH e ABTS

A atividade antioxidante *in vitro* dos sucos de uva foi determinada utilizando os métodos de captura de radicais livres ABTS e DPPH, de acordo com Re et al. (1999) e Kim et al. (2002), respectivamente. O padrão analítico Trolox foi utilizado para a construção da curva analítica e os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox por litro de suco de uva (mmol TEAC L⁻¹). Para realização dos métodos, as amostras de suco de uva foram diluídas com água deionizada na proporção de 2:10. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis L-2010 Hitachi® (Tóquio, Japão).

A atividade do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi medida através da extinção do máximo da absorção em 517 nm. O método consiste na mistura de 100 µL da amostra de suco de uva com 290 mL de solução etanólica do radical DPPH 1 mM e incubação no escuro durante 30 minutos. A solução de DPPH foi diluída com etanol para uma absorbância entre 0,900 e 1,000 a 517 nm. As leituras de absorbância foram realizadas nos tempos 0 (sem adição de amostra) e 30 minutos (com adição de amostra).

No método ABTS, a atividade antioxidante dos sucos de uva foi determinada através da taxa de decaimento da absorbância a 754 nm do

radical ABTS. O radical catiônico (ABTS •) foi produzido através da reação de 5 mL de radical ABTS 7 mM com 5 mL de persulfato de potássio 2,45 mM. A mistura foi mantida no escuro e à temperatura ambiente (20 ° C) durante 16 horas previamente às análises. No processo, a solução ABTS foi diluída com etanol para uma absorvância de $0,700 \pm 0,050$ a 754 nm. Para cada amostra, a absorvância da solução ABTS (940 μ L) foi lida em espectrofotômetro no tempo $t = 0$ min, e após 6 minutos ($t = 6$ min) da adição de 60 μ L de suco de uva.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análises de parâmetros clássicos

Os resultados das análises clássicas dos sucos estão apresentados na Tabela 1.

Os valores de sólidos solúveis, acidez titulável e relação SS/AT estão de acordo com a legislação brasileira para suco de uva integral, que estabelece sólidos solúveis no mínimo de 14, acidez titulável mínima de 0,41g 100 mL⁻¹ de mosto, e relação SS/AT entre 14 e 45 (BRASIL, 2000). Os valores médios de sólidos solúveis dos sucos elaborados ($20,3 \pm 0,5$) foram maiores que a média relatada por Rizzon e Miele (2012) para sucos comerciais brasileiros ($16,2 \pm 1,1$), entretanto, em climas tropicais como o encontrado no Vale do Submédio São Francisco (VSF), onde predominam temperaturas altas e insolação, o metabolismo da videira favorece a um maior acúmulo de sólidos solúveis na baga das uvas (RIBEIRO et al., 2012).

A intensidade de cor evidenciou características diferentes entre as variedades estudadas, sendo que os sucos de “BRS Violeta” (BV), “BRS Magna” (BM) e “BRS cora” obtiveram os maiores valores de IC, 11,15; 9,05 e 7,74, respectivamente. Os sucos de “Isabel Precoce” elaborados em corte com 20% dos híbridos “BRS Cora” e “BRS Violeta”, IPBC e IPBV, respectivamente, apresentaram um aumento significativo na intensidade de cor, que passou de 2,78 para 5,29 e 7,07. Os resultados obtidos confirmam que a utilização das cultivares híbridas BC e BV, em cortes, melhora a cor de sucos deficientes neste atributo, como no caso do suco de “Isabel Precoce” (IP).

Tabela 1. Valores médios das análises dos parâmetros clássico em sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do São Francisco, Petrolina - PE.

Análises	Sucos de Uva					
	IP	BC	BV	BM	IPBV	IPBC
pH	3,44 b	3,24 c	3,46 b	3,62 a	3,45 b	3,26 c
Sólidos Solúveis (SS)	20,0 c	21,0 a	20,2 b	20,3 bc	20,6 b	19,4 d
Acidez Titulável (AT)	0,77 d	1,06 a	0,85 c	0,68 e	0,80 cd	0,94 b
Relação SS/AT	26,2 b	19,8 d	23,8 c	29,9 a	25,8 b	20,7 d
Intensidade da Cor	2,78 f	7,74 c	11,15 a	9,05 b	5,29 e	7,07 d

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. AT – expressa como g 100mL⁻¹ em ácido tartárico; SS – expresso como % (°Brix). IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”, BM – “BRS Magna”, IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

4.3.2 Ácidos orgânicos por HPLC

Os resultados das análises dos ácidos orgânicos nos sucos de uva estão apresentados na Tabela 2. A soma dos ácidos orgânicos dos sucos variou de 8,64 a 12,04 g L⁻¹, onde principais ácidos presentes foram o tartárico com valores variando de 4,60 a 6,32 g L⁻¹, e o málico entre 2,12 e 4,15 g L⁻¹. O ácido cítrico variou de 250 e 730 mg L⁻¹, o ácido ascórbico entre 4,8 e 15,5 mg L⁻¹ e o ácido láctico de 190 a 643 mg L⁻¹. O suco BC não apresentou ácido succínico, mas nos demais sucos a variação ficou entre 153 e 203 mg L⁻¹. Já o ácido acético esteve presente nas amostras em concentrações variando de 347 a 447 mg L⁻¹.

Os principais ácidos orgânicos encontrados nos sucos de uva são o tartárico e o málico, representando mais que 80% da soma total dos ácidos.

Tabela 2. Valores de ácidos orgânicos nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.

	Sucos de Uva						
	IP	BC	BV	BM	IPBV	IPBC	
Tartárico g L ⁻¹	5,26 ± 0,02 c	6,32 ± 0,01 a	4,88 ± 0,10 e	5,02 ± 0,06 d	4,60 ± 0,01 f	5,42 ± 0,01 b	
Málico g L ⁻¹	2,12 ± 0,03 d	4,15 ± 0,16 a	3,29 ± 0,06 b	3,06 ± 0,05 b	2,63 ± 0,12 c	2,54 ± 0,05 c	
Cítrico g L ⁻¹	457 ± 40 b	730 ± 130 a	250 ± 96 c	287 ± 12 bc	343 ± 15 bc	270 ± 17 bc	
Ascórbico mg L ⁻¹	4,8 ± 1,2 d	10,5 ± 3,6 abc	15,5 ± 0,6 a	12,4 ± 0,3ab	9,1 ± 2,0 bcd	6,7 ± 1,2 cd	
Láctico g L ⁻¹	190 ± 10 d	467 ± 83 b	390 ± 26 c	417 ± 20 b	643 ± 116 a	227 ± 32 cd	
Succínico g L ⁻¹	163 ± 32 b	ND	313 ± 86 a	173 ± 20 b	153 ± 75 b	203 ± 25 ab	
Acético g L ⁻¹	447 ± 23 a	360 ± 95 a	440 ± 36 a	433 ± 73 a	437 ± 92 a	347 ± 32 a	
(Soma) Ácidos orgânicos g L ⁻¹	8,64 ± 0,16	12,04 ± 0,47	9,58 ± 0,36	9,40 ± 0,25	8,82 ± 0,43	9,01 ± 0,17	

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ND – Não Detectado.

IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”, BM = “BRS Magna”, IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

As suas concentrações podem variar em função de fatores relacionados à uva como estágio de maturação, variedade da uva e clima, e fatores relacionados ao processo como a realização da estabilização tartárica do suco a qual resulta na redução da concentração do ácido tartárico (LIU et al., 2006; RIBEIRO et al., 2012; SOYER et al., 2003).

Em trabalho realizado por Liu et al. (2006) as concentrações de ácidos orgânicos no mosto de 98 cultivares de uvas, híbridas e *Vitis vinifera*, variaram de 1,54 a 9,09 g L⁻¹ para o ácido tartárico e 0,36 a 7,06 g L⁻¹ para o ácido málico. Já Soyer et al. (2003) obtiveram variações nas concentrações de ácidos orgânicos em sucos de uvas de 12 variedades plantadas na Turquia, entre 4,07 a 4,92 g L⁻¹ para o ácido tartárico e 1,36 a 3,47 g L⁻¹ para o málico.

O ácido acético é o principal ácido orgânico indesejado em sucos, pois a sua presença em alta concentração é um indicativo da ocorrência de fermentações não desejadas no mosto da uva ou da falta de sanidade da matéria-prima (PEYNAUD, 1999). A legislação brasileira estabelece o limite máximo de 500 mg L⁻¹ para o ácido acético nos sucos de uva (BRASIL, 2000).

Os ácidos cítrico, succínico e ascórbico estão presentes nos sucos das uvas em concentrações minoritárias. Soyer et al. (2003) obteve valores de ácido cítrico entre 31 e 181 mg L⁻¹ em sucos de diversas cultivares. Já para o ácido ascórbico, Dani et al. (2007) obtiveram valores de 4,4 a 57,2 mg L⁻¹ em sucos das cultivares *Vitis labrusca* “Bordô” e “Niágara”.

Os valores dos ácidos orgânicos obtidos neste trabalho estão de acordo com os mencionadas na literatura para diversos sucos de uvas (SOYER et al., 2003; MATO et al., 2006; RIZZON e MIELE, 2012). E no caso do ácido acético, as concentrações obtidas estão de acordo com o estabelecido pela legislação brasileira para sucos de uva (BRASIL, 2000).

O suco do híbrido BC foi o que apresentou a maior concentração dos ácidos tartárico e málico com valores de 6,32 e 4,15 g L⁻¹, respectivamente, mesmo com a uva colhida em estágio de maturação semelhante aos das demais cultivares. Em trabalho realizado por Ribeiro et al. (2012) foi observado que essa cultivar possui a capacidade de atingir valores elevados de sólidos solúveis (°Brix) mantendo uma alta acidez total, sendo mencionado que a sua utilização na formulação de sucos, além contribuir no aumento da cor, pode contribuir com o aumento da concentração da acidez total. Este fato foi

observado neste trabalho, onde o suco IPBC apresentou um aumento significativo na acidez titulável e ácidos tartárico e málico, em relação ao suco IP.

Nas condições de viticultura tropical do Vale do Submédio São Francisco, devido ao escalonamento da produção por diferentes datas de poda das videiras, é possível colher simultaneamente uvas em diferentes estádios de maturação. Com isso, a prática de mistura de uvas com diferentes concentrações de sólidos solúveis e acidez titulável é uma prática possível de ser realizada para se obter sucos padronizados em relação aos açúcares e acidez, parâmetros importantes na qualidade do sabor dos sucos de uva.

4.3.3 Fenólicos totais e flavanóis

Os valores das médias e desvio padrão dos fenólicos totais e flavanóis dos sucos estão apresentados na tabela 3. A concentração de fenólicos totais dos sucos elaborados apresentam diferenças significativas entre as cultivares estudadas, onde o suco BV foi o que apresentou a maior média (2712 mg L⁻¹), seguido pelo suco BM (2097 mg L⁻¹) e BC (1944 mg L⁻¹). O suco IP foi o que apresentou a menor concentração de fenólicos totais (779 mg L⁻¹), mas nos sucos IPBV e IPBC os fenólicos totais foram elavados para 1897 e 1353 mg L⁻¹, respectivamente.

A concentração de fenólicos totais em sucos de uva comerciais brasileiros variam de 270 a 3433 mg L⁻¹, com médias entre 1430 e 1915 mg L⁻¹, em função de técnicas de elaboração e região de origem (MALACRIDA e MOTTA, 2005; SAUTTER et al., 2005; BURIN et al., 2010). Em sucos comerciais espanhóis, Dávalos et al.(2005) mencionaram valores entre 705 e 1177 mg L⁻¹, já em sucos das cultivares “Noble” (*Vitis rotundifolia*) e “Concord” (*Vitis labrusca*) os valores variaram de 1280 a 2880 mg L⁻¹ (TALCOTT e LEE, 2002; IYER et al., 2010).

Os flavanóis analisados apresentaram diferenças significativas entre os sucos elaborados. O flavanol encontrado em maior quantidade foi a procianidina B1, seguido da procianidina B2 e catequina. O suco IP se destacou por apresentar a maior concentração de procianidina B1 (47,1 mg L⁻¹) e as menores de catequina (4,7 mg L⁻¹) e epigalocatequina (0,9 mg L⁻¹). O suco BV apresentou as maiores concentrações de

catequina ($19,4 \text{ mg L}^{-1}$), epicatequina galato ($6,2 \text{ mg L}^{-1}$) e procianidina A2 ($3,6 \text{ mg L}^{-1}$), assim como a maior soma de flavanóis quantificados ($93,8 \text{ mg L}^{-1}$). Já os cortes IPBV e IPBM apresentaram um significativo aumento na concentração de catequina e epicatequina galato, em relação ao suco IP.

Em caracterização dos compostos fenólicos dos sucos artesanais, extraídos em panela com vapor, das uvas “Isabel Precoce”, “BRS Cora” e

Tabela 3. Valores de flavanóis o fenólicos totais nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.

FLAVANÓIS	SUCOS DE UVA					
	IP	BC	BV	BM	IPBV	IPBC
Catequina	4,7 ± 0,1 c	12,4 ± 0,3 b	19,8 ± 0,4 a	9,1 ± 3,0 b	21,0 ± 0,1 a	17,9 ± 0,1 a
Epicatequina	1,0 ± 1,0 a	1,4 ± 0,5 a	0,6 ± 0,1 a	1,3 ± 0,1 a	0,8 ± 0,8 a	1,7 ± 0,3 a
Epigallocatequina	1,6 ± 0,1 a	1,2 ± 0,0 b	1,9 ± 0,2 a	1,3 ± 0,1 a	0,8 ± 0,2 c	0,7 ± 0,2 c
Epicatequina galato	0,9 ± 0,1 e	4,7 ± 0,4 b	6,2 ± 0,1 a	4,2 ± 0,2 cb	4,0 ± 0,1 c	2,4 ± 0,1 d
Procianidina A2	2,8 ± 0,2 bc	2,9 ± 0,2 b	3,6 ± 0,1 a	2,3 ± 0,1 c	1,7 ± 0,4 d	1,4 ± 0,1 d
Procianidina B1	47,1 ± 0,1 b	37,2 ± 0,6 e	44,2 ± 0,3 c	36,0 ± 0,7 f	69,4 ± 0,1 a	38,5 ± 0,1 d
Procianidina B2	14,3 ± 0,1 c	16,3 ± 0,7 b	17,5 ± 0,5 a	17,9 ± 0,4 a	13,1 ± 0,3 d	10,9 ± 0,2 e
Flavanóis quantificados (Soma)	72,4 ± 1,7	76,1 ± 2,7	93,8 ± 1,7	72,1 ± 4,6	110,8 ± 2,0	73,5 ± 1,1
Fenólicos Totais	779 ± 27 d	1944 ± 16 b	2712 ± 31 a	2097 ± 66 b	1897 ± 169 b	1353 ± 23 c

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Flavanóis e Fenólicos totais expressos em mg L^{-1} . IP = "Isabel Precoce"; BC = "BRS Cora"; BV = "BRS Violeta"; BM = "BRS Magna"; IPBV = Blend "Isabel Precoce" 80% e "BRS Violeta" 20% e IPBC = Blend "Isabel Precoce" 80% e "BRS Cora" 20%.

“BRS Violeta” oriundas do VSF, Natividade et al. (2013) obtiveram valores de catequina, procianidina B2 e epicatequina no suco de “BRS Violeta” superiores aos mencionados neste trabalho, com exceção da procianidina B1 que foi inferior; já nos sucos de “Isabel Precoce” e “BRS Cora” as concentrações de todos os flavanóis analisados foram inferiores.

Em sucos da cultivar “Concord” elaborados por processo HP em Portugal os valores de catequina, epicatequina e procianidina B2 foram semelhantes aos encontrados neste trabalho, entretanto, para a procianidina B1 foram inferiores (FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003); já em sucos comerciais da cultivar Bordô (*Vitis labrusca*) manejada em sistema tradicional e orgânico no Rio Grande do Sul - Brasil, os valores de procianidinas B1 e B2 foram inferiores aos obtidos neste estudo (DANI et al. 2007).

Com base nestes resultados é observado que técnicas de elaboração, condições de processo, tratos culturais e cultivares de uva empregados na elaboração dos sucos resultam em produtos com diferentes composições de flavanóis e fenólicos totais. E que os sucos das cultivares BV, BC e BM apresentaram elevadas concentrações fenólicos totais, sendo que os cortes IPBV e IPBM obtiveram um significativo aumento destes compostos em relação ao suco IP. O suco de BV foi o que apresentou a maior média da soma de flavanóis quantificados e fenólicos totais, assim como, o que mais contribuiu com o aumento destes compostos no suco de IP. Em todos os sucos elaborados com as cultivares IP, BC, BV e BM, o principal flavanol encontrado foi a procianidina B1.

4.3.4 Flavonóis e *trans*-resveratrol.

Os valores obtidos para os flavonóis e *t*-resveratrol analisados estão apresentados na Figura 8. Os sucos elaborados apresentaram diferenças significativas entre as cultivares e cortes comerciais avaliados. As concentrações de kaempferol variou de 0,5 a 1,0 mg L⁻¹, quercitina de 0,5 a 0,8 mg L⁻¹, isoramnetina de 0,3 a 1,7 mg L⁻¹, rutina de 0,9 a 5,9 mg L⁻¹ e miricetina de 0,1 a 0,8 mg L⁻¹ nos sucos elaborados. Dentre os flavonóis quantificados a rutina foi a que esteve presente em maiores concentrações nos sucos BM a BV, com médias de 5,9 e 4,7 mg L⁻¹, respectivamente. Em relação ao kaempferol não houve diferença significativa entre os sucos, já para a miricetina e

isoramnetina, o suco BV apresentou as maiores concentrações, 0,8 e 1,2 mg L⁻¹, respectivamente. O suco IP se diferenciou por possuir maior concentração de quercitina (0,8 mg L⁻¹) e menores de rutina (0,9 mg L⁻¹) e miricetina (0,1 mg L⁻¹). Os cortes IPBV e IPBM obtiveram aumento significativo na concentração de rutina, isoramnetina e miricetina, em comparação com o suco de IP.

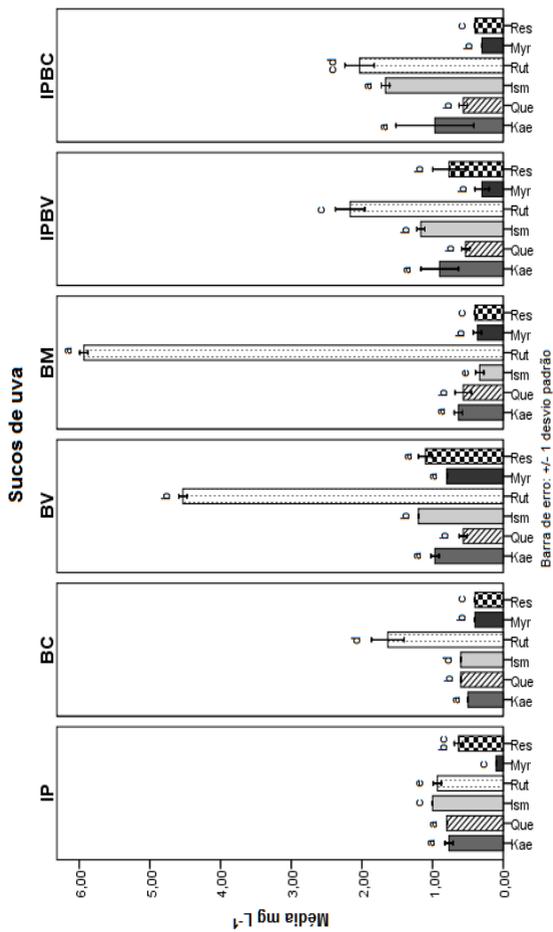
Em caracterização dos sucos artesanais de IP, BC e BM oriundos do VSF, Natividade et al. (2013) encontraram valores de flavonóis semelhantes aos obtidos neste trabalho, onde o principal flavanol presente foi a rutina, no suco BV (5,1 mg L⁻¹). Em sucos elaborados com as cultivares “Carlos” (branca) e “Noble” (tinta), foram obtidos valores médios variando de 0,6 a 50,5 para miricetina, 1,8 a 24,3 para quercitina e 1,9 a 26,1 mg L⁻¹ para kaempferol. Já em suco comercial de “Concord” foram encontrados valores de miricetina em 8,8 mg L⁻¹, quercitina 10,3 mg L⁻¹ e kaempferol de 0,8 mg L⁻¹ (STALMACH et al., 2011).

Os valores de miricetina, quercitina e kaempferol dos sucos estudados foram semelhantes aos obtidos por Natividade et al. (2013) para sucos artesanais elaborados com as mesmas cultivares no VSF, e menores que os mencionados na literatura para sucos de outras cultivares em outras regiões (FULEKI e RICARDO-DA-SILVA, 2003; STALMACH et al., 2011). A concentração de rutina obtida nos sucos BM e BV foram consideradas altas, pois em diversos vinhos tintos finos varietais, comerciais, oriundos do Brasil, Argentina e Chile, a concentração de rutina variou de 0,83 a 4,19 mg L⁻¹ (GRANATO et al., 2011). Os cortes IPBC e IPBM tiveram aumento significativo de flavonóis, principalmente de rutina, em comparação com o suco de IP.

É conhecido que a biossíntese envolvida na produção de flavonóis em tecidos de plantas é influenciada pela luz solar, e que uvas altamente expostas à luz do dia tem um aumento significativo da biossíntese de flavonóis (SPAYDet al., 2002). Entretanto, os sucos elaborados com as cultivares estudadas oriundas do VSF apresentaram concentrações de miricetina, quercitina e kaempferol menores que os mencionados na literatura, mesmo com as características de alta temperatura e luminosidade que caracteriza o clima do VSF. Em relação à rutina a concentração encontrada nos sucos BM e BV foram consideradas elevadas, o que sugere que as cultivares BM e BV possuam características intrínsecas que favoreçam na síntese deste flavanol.

Para o *trans*-resveratrol as variações nos sucos estudados foram significativas. O suco BV foi o que apresentou a maior concentração de *t*-resveratrol (1,10 mg L⁻¹), seguido pelo IP (0,63 mg L⁻¹) e, BC e BM ambos com 0,40 mg L⁻¹. Em relação aos cortes comerciais, a cultivar BV influenciou significativamente elevando a concentração de 0,63 mg L⁻¹ no suco IP para 0,77 mg L⁻¹ no suco IPBV, já o suco IPBC manteve a concentração de *t*-resveratrol em 0,40 mg L⁻¹. Em sucos artesanais das

Figura 8. Valores médios dos flavonóis e *trans*-resveratrol nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.



Barra de médias seguidas de letras iguais, entre sucos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Kae – Kaempferol; Que – Quercetina; Ism – Isorametina; Rut – Rutina; Myr – Miricetina; Res – *trans*-resveratrol. IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”, BM – “BRS Magna”, IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

cultivares IP, BC e BV oriundas do VSF, Natividade et al. (2013) encontrou valores de *t*-resveratrol de 0,05 mg/L para IP e 0,40 mg L⁻¹ para a BV, não sendo detectado a sua presença no suco BC. Dani et al. (2007) obtiveram valores de *t*-resveratrol variando de 0,08 a 0,21 mg L⁻¹ em sucos comerciais de “Bordô” elaborados com uvas cultivadas em sistema convencional e orgânico, respectivamente.

Para sucos de uva integrais brasileiros, Sautter et al. (2005) mencionaram valores de 0,39 a 0,44 mg L⁻¹ para *t*-resveratrol. E, em trabalho realizado por Leblac et al. (2008) foi estudado a influência de diferentes técnicas de elaboração sobre a concentração de estilbenos nos sucos de “Noble” e “Carlos” (*Vitis rotundifolia*), e, “Mid South” e “Miss Blanc” (*Vitis labrusca*), sendo verificado que no processo HP se obteve as maiores concentrações de estilbenos, e que o *t*-resveratrol só foi detectado nos sucos de “Carlos” e “Noble” elaborados por esta técnica, porém, em concentrações de aproximadamente 0,10 mg L⁻¹.

Devido à importância do resveratrol em estudos associados com benefícios para a saúde de consumidores, é de se destacar a elevada concentração de *t*-resveratrol nos sucos estudados, principalmente, com a cultivar BV, onde os valores obtidos foram superiores aos encontrados na literatura para diversos sucos de uvas. Os valores de *t*-resveratrol encontrado nos sucos estudados foram semelhantes aos obtidos em vinhos oriundos da mesma região, cujos valores variaram entre 0,21 e 1,26 mg L⁻¹ na maioria das amostras analisadas (LUCENA et al., 2010). Também é mencionado por Lucena et al. (2010) que a maior parte do resveratrol nos vinhos do Vale do São Francisco se dá na forma do isômero *cis*-resveratrol onde, na maioria dos vinhos, os valores estiveram entre 1,06 e 5,49 mg L⁻¹. Alguns autores também mencionaram que o resveratrol está presente em vinhos, em sua maioria, na forma de *cis*-resveratrol (VITRACet al., 2005), fato também constatado por Leblac et al. (2008) em sucos de uvas “Carlos” e “Noble” elaborados por diferentes técnicas de processo, o que pode sugerir que a concentração de resveratrol nos sucos estudados possam ser ainda maiores.

A quantidade de resveratrol nas uvas, vinhos e sucos varia em função de fatores como clima, cultivar de uva e infecção por fungos, já que este estilbeno é produzido num mecanismo de defesa da planta. A presença de luz UV e práticas enológicas também exercem influência na sua composição (ALiet al., 2010). Fatores como a elevada exposição das plantas a luz solar e altas temperaturas, que caracterizam o clima do

VSF, e técnicas de manejo das videiras como a submissão das plantas ao estresse hídrico restringindo-se a irrigação após o “*verasion*”, também poderia estar associado à elevada presença do resveratrol nas uvas e por consequência em seus derivados como o suco (LUCENA et al. (2010).

4.3.5 Ácidos fenólicos

Os valores dos ácidos fenólicos analisados estão apresentados na Tabela 4. Os sucos elaborados apresentaram concentrações de ácidos fenólicos variando de 1,8 a 13,6 para o ácido gálico, 8,6 a 41,2 ácido caféico, 2,1 a 21,3 ácido clorogênico, 2,1 a 9,0 ácido *p*-cumárico e 0,4 a 2,8 mg L⁻¹ para ácido cinâmico. Os sucos BC, BV e BM apresentaram maiores concentrações de ácidos fenólicos que o suco IP. O suco BV se destacou por apresentar a maior concentração de ácido clorogênico (21,3 mg L⁻¹) e em quantidade muito superior aos demais sucos, já os sucos BM e BC se destacaram por apresentar as maiores concentrações de ácido caféico, 41,2 e 35,8 mg L⁻¹, respectivamente.

Os sucos IPBV e IPBC tiveram as suas concentrações de ácidos gálico, caféico e clorogênico elevadas em relação ao suco IP, principalmente em ácido caféico, sendo este, o principal ácido fenólico encontrado em quantidade nos sucos avaliados.

Em sucos artesanais de IP, BC e BV oriundos do VSF, os valores de ácidos fenólicos encontrados foram menores que os obtidos neste estudo, onde as maiores concentrações foram de 7,3 e 2,6 mg L⁻¹ para os ácidos caféico e clorogênico, respectivamente, no suco de IP (NATIVIDADE et al., 2013). Em suco comercial de “Concord”, Stalmach et al. (2011) obtiveram concentrações respectivas de 8,6; 0,3 e 0,9 mg L⁻¹, para os ácidos gálico, caféico e *p*-cumárico. E em diversos vinhos tintos e brancos os valores máximos de ácidos fenólicos obtidos foram: ácido gálico em 72,0; caféico em 23,0; *p*-cumárico em 10,7 e clorogênico em 3,7 mg L⁻¹ (ROBBINS e BEAN, 2004; GRANATO et al., 2011).

Os valores dos ácidos caféico, *p*-cumárico e clorogênico encontrados nos sucos elaborados foram superiores aos encontrados na literatura para sucos, e em relação aos ácidos caféico e clorogênico os valores foram superiores as concentrações máximas observadas em diversos estudos com vinhos.

Tabela 4. Valores ácidos fenólicos nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.

ÁCIDOS FENÓLICOS	SUCOS DE UVA					
	IP	BC	BV	BM	IPBV	IPBC
Ácido gálico	1,8 ± 0,1 e	13,6 ± 0,1 a	10,5 ± 0,8 b	7,3 ± 0,1 c	6,4 ± 0,4 c	3,9 ± 0,1 d
Ácido caféico	8,6 ± 0,1 d	35,8 ± 0,5 a	28,9 ± 0,4 b	41,2 ± 6,0 a	23,3 ± 0,1 bc	18,8 ± 0,2 b
Ácido cinâmico	0,5 ± 0,0 d	0,6 ± 0,2 d	1,9 ± 0,1 b	2,8 ± 0,1 a	0,4 ± 0,0 d	1,6 ± 0,0 c
Ácido clorogênico	4,1 ± 0,1 d	8,3 ± 0,3 b	21,3 ± 0,6 a	2,1 ± 0,1 e	4,8 ± 0,1 c	4,8 ± 0,2 c
Ácido <i>p</i> -cumárico	2,6 ± 0,1 d	4,5 ± 0,4 bc	9,0 ± 0,1 a	5,1 ± 1,0 b	3,8 ± 0,0 c	2,1 ± 0,0 d
(Soma) Ácidos Fenólicos quantificados	17,6 ± 0,4	62,8 ± 1,5	71,6 ± 1,9	58,5 ± 7,3	37,6 ± 0,6	31,2 ± 0,5

Ácidos fenólicos expressos em mg L⁻¹. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”; BM = “BRS Magna”; IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

4.3.6 Antocianinas

Os valores médios de antocianinas obtidos estão apresentados na tabela 4. As antocianinas manoméricas totais dos sucos obtiveram médias variando de 29 mg L⁻¹ a 464 mg L⁻¹. O suco BV foi o que apresentou o maior valor médio de antocianinas monoméricas (464 mg L⁻¹), seguido, em ordem decrescente de valores, pelo suco BM (410 mg L⁻¹), BV (225 mg L⁻¹) e IP (29 mg L⁻¹). Os sucos IPBV e IPBC obtiveram valores de 157 e 126 mg L⁻¹, respectivamente. Os valores de antocianinas monoméricas obtidos em todos os sucos elaborados estão de acordo com aos mencionados na literatura para sucos artesanais e comerciais brasileiros, cuja variação vai de 25,6 a 450,4 mg L⁻¹ (MALACRIDA e MOTTA, 2005; BURIN et al., 2010).

Em relação às antocianinas quantificadas as principais encontradas foram a delfinidina 3-glicosídeo e as cianidinas 3,5-Diglicosídeo e 3-monoglicosídeo. O suco que apresentou a maior soma de antocianinas quantificadas foi o BV (164,6 mg L⁻¹), seguido do suco BM (115,4 mg L⁻¹), já os sucos IP, BC apresentaram somas de 5,9 e 30,6 mg L⁻¹, respectivamente. Os cortes IPBV e IPBC apresentaram um significativo aumento na soma de antocianinas quantificadas em relação ao suco IP, apresentando valores de 43 e 28,1 mg L⁻¹, respectivamente. Os sucos BV e BM se destacaram por apresentar predominância da delfinidina 3-glicosídeo em concentrações de 72,7 e 52,2 mg L⁻¹, respectivamente; já no suco BC houve igual concentração de delfinidina 3-monoglicosídeo e cianidina 3,5-Diglicosídeo (11,8 mg L⁻¹). A predominância da delfinidina e cianidinas prevaleceu no corte IPBV, já no corte IPBC as malvidinas e cianidinas prevaleceram.

O perfil de antocianinas tem variado em função de diversas cultivares de uvas. Em sucos elaborado por processo HPcom “Concord” e “Salvador” (híbrido *Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) predominaram, em ordem de relevância, a malvidina 3-glicosídeo, delfinidina 3-glicosídeo e petunidina 3-glicosídeo, já no suco de “Rubired” (híbrido *Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) predominou malvidina 3,5-diglicosídeo e peonidina 3,5-diglicosídeo (WANG et al., 2003). Uma grande variação no perfil e valores de antocianinas foi encontrada nos sucos elaborados, em escala laboratorial, com as principais cultivares de uvas plantadas na Korea do Sul (OH et al., 2008). Nos sucos artesanais das cultivares IP, BC e BV (NATIVIDADE et al., 2013), o perfil de antocianinas foi semelhante ao obtido neste estudo, onde a principal antocianina encontrada foi a

delfinidina 3-glicosídeo nos sucos BC e BV, e malvidinas no suco IP.
666,8 mg L⁻¹ no suco IP.

Tabela 5. Valores de antocianinas nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.

	SUCOS DE UVA					
	IP	BC	BV	BM	IPBV	IPBC
Malvidina 3,5-Diglicosídeo	1,8 ± 0,0 d	0,7 ± 0,0 e	11,7 ± 0,0 a	5,5 ± 0,2 b	4,7 ± 0,1 c	4,8 ± 0,1 c
Malvidina 3-glicosídeo	0,9 ± 0,1 d	ND	1,6 ± 0,2 b	1,3 ± 0,3 c	1,6 ± 0,1 b	6,2 ± 0,1 a
Cianidina 3,5-Diglicosídeo	ND	11,8 ± 0,1 c	38,0 ± 0,6 a	12,6 ± 0,1 b	9,2 ± 0,1 d	4,3 ± 0,2 e
Cianidina 3-glicosídeo	3,0 ± 0,0 e	1,4 ± 0,1 f	32,7 ± 0,5 b	37,2 ± 0,2 a	10,7 ± 0,1 c	7,8 ± 0,1 d
Delfinidina 3-glicosídeo	ND	11,7 ± 0,2 d	73,7 ± 1,2 a	52,2 ± 0,4 b	15,2 ± 0,2 c	3,0 ± 0,1 e
Peonidina 3-glicosídeo	0,2 ± 0,1 c	0,3 ± 0,1 c	0,2 ± 0,0 c	ND	0,4 ± 0,0 b	1,5 ± 0,1 a
Pelargonidina 3-glicosídeo	ND	6,7 ± 0,1 a	6,7 ± 0,1 a	6,6 ± 0,1 a	1,2 ± 0,2 b	0,5 ± 0,1 a
(Soma) Antocianinas quantificadas	5,9 ± 0,2	30,6 ± 0,6	164,6	115,4 ± 1,3	43 ± 0,8	28,1 ± 0,8
Antocianinas monoméricas totais	29 ± 1 f	225 ± 1 c	464 ± 6 a	410 ± 2 b	156 ± 2 d	127 ± 2 e

Antocianinas expressas em mg L^{-1} . Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ND – Não Detectado. IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”; BM = “BRS Magna”; IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

Entretanto, a soma das antocianinas quantificadas obtidas foram superiores, variando de 73 mg L^{-1} no suco IP. Vale destacar que na técnica artesanal de elaboração dos sucos em panela de vapor, a uva passa por um processo de cozimento e as temperaturas de extração chegam a 80°C o que faz com que a degradação das películas e extração dos compostos aconteça de forma diferente da empregada em nível industrial utilizada neste trabalho, onde a temperatura de extração foi de 60°C com uso de preparado enzimático a base de pectinase, sem a prensagem do bagaço.

4.3.7 Atividade antioxidante DPPH e ABTS

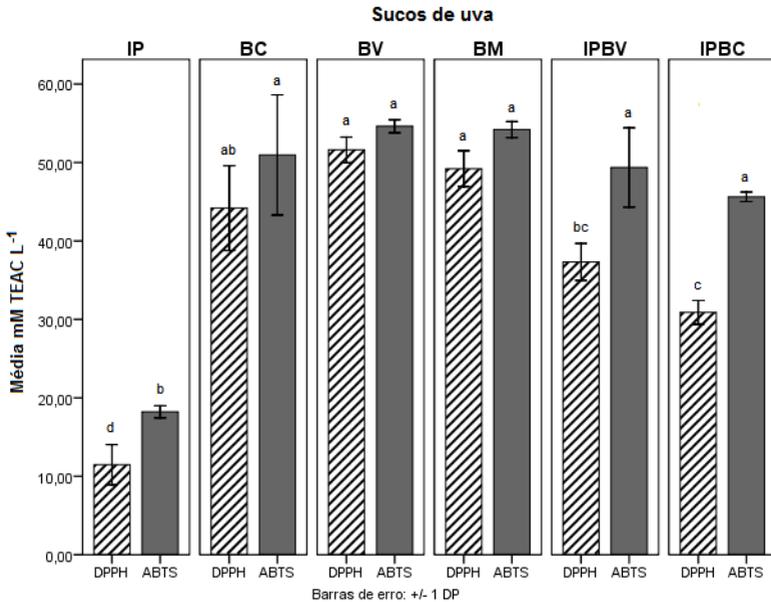
As médias e desvio padrão dos resultados obtidos estão apresentados na figura 2. A atividade antioxidante dos sucos (AOX) foi expressa como equivalentes em milimol de Trolox por litro de suco (mM TEAC L^{-1}). No método DPPH se obtiveram diferenças significativas entre os sucos das cultivares e os cortes comerciais. O suco IP apresentou a menor AOX com valor médio de $11,5 \text{ mM}$, já os sucos das cultivares híbridas BC, BV e BM apresentaram médias de $44,2$; $51,6$ e $49,2 \text{ mM}$, respectivamente. Os sucos IPBV e IPBM obtiveram atividades de $37,3$ e $31,0 \text{ mM}$. No método ABTS apenas o suco IP obteve diferença significativa em relação AOX, com uma média de $18,2 \text{ mM}$. Os sucos BC, BV e BM apresentaram médias respectivas de $51,0$; $54,6$ e $54,2 \text{ mM}$. Já nos sucos IPBC e IPBV as atividades antioxidantes foram $49,4$ e $45,6 \text{ mM}$, respectivamente.

As AOX medidas pelos métodos com DPPH e ABTS em sucos de uvas comerciais, artesanais e concentrados, encontrados na literatura, apresentaram valores variando $2,12$ a $11,05 \text{ mM TEAC L}^{-1}$ (BURINet al., 2010; VEDANA et al., 2008; GOLLÜCKE et al.; 2009). Já em vinhos tintos foram mencionados valores variando de $3,44$ a $23,17 \text{ mM TEAC L}^{-1}$ (GRISet al., 2011; KOSTADINOVIC et al., 2012).

Os resultados da capacidade antioxidante medidas pelos métodos DPPH e ABTS em todos os sucos estudados apresentaram valores acima dos encontrados para sucos na literatura. O suco IP, entre os elaborados, foi o que apresentou a menor AOX, já os sucos BC, BV e BM obtiveram valores de capacidade antioxidantes muito superiores aos encontrados para sucos e vinhos na literatura. Os cortes IPBC e IPBV

obtiveram um aumento significativo de AOX em comparação com o suco IP, o que ressalta a importância da utilização desses cortes comerciais, pois além de melhorar a cor, elevaram a concentração de fenólicos de maneira geral e AOX dos sucos de “Isabel Precoce” que é a principal uva de suco plantada no VSF. Entre os métodos de medição de AOX utilizados, o DPPH apresentou uma maior capacidade de diferenciação dos resultados obtidos.

Figura 9. Valores médios da atividade antioxidante medida por DPPH e ABTS nos sucos de novas cultivares de uvas brasileiras plantadas no Vale do Submédio São Francisco, Petrolina - PE.



Barras de médias seguidas de letras iguais, entre sucos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. IP = “Isabel Precoce”; BC = “BRS Cora”; BV = “BRS Violeta”, BM – “BRS Magna”, IPBV = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Violeta” 20% e IPBC = Blend “Isabel Precoce” 80% e “BRS Cora” 20%.

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre

compostos fenólicos e as atividades antioxidantes com DPPH e ABTS estão apresentados na Tabela 6. Para fins de discussão utilizamos os coeficientes positivos de correlação, significativos a 1% de probabilidade de erro, entre os compostos analisados e as capacidades antioxidantes obtidas.

Para o DPPH os compostos fenólicos que apresentaram valores de r positivos ($p < 0,01$) foram os flavanóis epicatequina galato ($r = 0,92$) e procianidina B2 ($r = 0,60$), os flavonóis rutina ($r = 0,74$) e miricetina ($r = 0,76$), os ácidos fenólicos gálico ($r = 0,78$), caféico ($r = 0,86$) e p -cumárico ($r = 0,73$), e as antocianinas pelargonidina 3-diglicosídeo ($r = 0,84$), cianidina 3-diglicosídeo ($r = 0,74$), cianidina 3,5-diglicosídeo ($r = 0,67$) e delphinidina 3-diglicosídeo ($r = 0,76$).

Para o ABTS os compostos fenólicos que apresentaram valores de r positivos ($p < 0,01$) foram os flavanóis catequina ($r=0,60$) e epicatequina galato ($r = 0,83$), os flavonóis rutina ($r = 0,61$) e miricetina ($r = 0,69$), os ácidos fenólicos gálico ($r = 0,69$) e caféico ($r = 0,79$), e as antocianina pelargonidina 3-diglicosídeo ($r = 0,67$) e delphinidina 3-glicosídeo ($r = 0,60$). As correlações entre antocianinas totais apresentaram valores de 0,89 e 0,74 ($p < 0,01$) para o DPPH e ABTS, respectivamente, e para os fenólicos totais os valores foram de 0,94 e 0,84 ($p < 0,01$). A correlação obtida entre os dois métodos de medição de AOX utilizados, DPPH e ABTS, também foram positivas e significativas a 1%, com um valor de $r = 0,88$. Em trabalho realizado por Mudinic et al. (2010) foram feitas as medições das atividades antioxidantes *in vitro* de soluções a $1,0 \text{ mM L}^{-1}$ denove ácidos fenólicos pelo método com ABTS, entre eles os ácidos gálico, caféico e p -cumárico, onde foi verificada uma relevante AOX destes compostos, sendo encontrados valores de 2,79 mM, 1,42 mM e 1,22 mM TEAC L^{-1} para os ácidos gálico, caféico e p -cumárico, respectivamente. Em outro estudo, Muselik et al. (2007) também determinaram a AOX *in vitro* de soluções a $1,0 \text{ mM L}^{-1}$ de antocianinas monoméricas e flavanóis pelo método com ABTS, onde foi verificado que a delphinidina 3-glicosídeo foi a antocianina que apresentou a maior AOX (2,93 mM) seguida pela cianidina 3-rutinosídeo (2,77 mM), e que os flavanóis epicatequina galato (5,31 mM), procianidina B1 (6,29 mM) e procianidina B2 (8,36 mM) foram os flavanóis com as maiores AOX. Esses resultados poderiam explicar as altas AOX encontradas nos sucos elaborados nesse estudo, medidas pelos métodos com DPPH e ABTS, uma vez que entre

os compostos com correlação positiva com a AOX, a catequina, procianidina B2, ácido caféico, delphinidina 3-glicosídeo e cianidinas mono e diglicosídicas foram os fenólicos que estiveram presentes em maior concentração nos sucos estudados. Correlações positivas ($p < 0,01$) também foram encontradas entre antocianinas totais e fenólicos totais dos sucos de uva, com a AOX medida pelo método com DPPH em outros trabalhos (DANI et al., 2007; BURIN et al, 2010).

Tabela 6. Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante dos sucos medida pelos métodos com DPPH e ABTS.

FLAVANÓIS	DPPH		ABTS	
	Pearson valor <i>r</i>	Prob.	Pearson valor <i>r</i>	Prob.
Catequina	0,47*	0,049	0,60**	0,009
Epigallocatequina	0,07	0,773	-0,18	0,485
Epicatequina galato	0,92**	0,000	0,83**	0,000
Epicatequina	-0,07	0,796	-0,03	0,910
Procianidina A2	0,24	0,336	-0,01	0,980
Procianidina B1	-0,19	0,442	-0,11	0,678
Procianidina B2	0,60**	0,008	0,31	0,211
FLAVONÓIS				
Kaempferol	-0,05	0,857	-0,04	0,884
Isorhamnetina	-0,34	0,171	-0,16	0,524
Rutina	0,74**	0,000	0,61**	0,008
Quercitina	-0,69**	0,001	-0,81**	0,000
Miricetina	0,76**	0,000	0,69**	0,002
ESTILBENO				
<i>t</i> -Resveratrol	0,15	0,541	0,09	0,723
ÁCIDOS FENÓLICOS				
Ácido gálico	0,78**	0,000	0,69**	0,002
Ácido cafeico	0,86**	0,000	0,79**	0,000
Ácido cinâmico	0,56*	0,015	0,48*	0,045
Ácido clorogênico	0,46	0,055	0,33	0,178
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,73**	0,001	0,53*	0,025
ANTOCIANINAS				
Pelargonidina 3-glicosídeo	0,84**	0,000	0,67**	0,003
Cianidina 3-glicosídeo	0,74**	0,001	0,59*	0,010
Cianidina 3,5-Diglicosídeo	0,67**	0,003	0,54*	0,022
Malvidina 3-glicosídeo	0,54*	0,020	0,47*	0,047

Delfinidina 3-glicosídeo	0,76**	0,000	0,60**	0,009
Malvidina 3,5-Diglicosídeo	-0,16	0,523	0,05	0,849
Peonidina 3-glicosídeo	-0,28	0,257	-0,03	0,910
Antocianinas totais	0,89**	0,000	0,74**	0,000
Fenólicos totais	0,94**	0,000	0,84**	0,000
DPPH	-	-	0,88**	0,000

* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

**Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ($p < 0,01$).

4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi observada uma significativa concentração de compostos fenólicos associados à atividade antioxidante *in vitro* nos sucos estudados. O uso dos híbridos BV e BC, em cortes com o suco IP, aumentaram significativamente a intensidade de cor e a concentração de fenólicos totais e antocianinas totais dos sucos formulados IPBV e IPBC, principalmente, em relação a fenólicos como catequina e epicatequina galato, ácidos gálico, ácido caféico, rutina, delfinidina e cianidinas, compostos que foram associados à alta atividade antioxidante encontrada nos sucos. O que faz com que o uso destes cortes seja uma prática de extrema importância na obtenção de sucos com alta concentração de fenólicos associados a atividades biológicas benéficas à saúde dos consumidores. O híbrido BC além de contribuir com o aumento da cor e fenólicos do suco formulado IPBC, também foi responsável pelo aumento da concentração de ácidos orgânicos como tartárico e málico. O suco da cultivar BV foi o responsável pelo maior aumento de fenólicos dos sucos formulados, e o BM demonstrou um bom potencial para ser utilizado em cortes comerciais, uma vez que apresentou uma composição fenólica inferior apenas a do suco BV. Os sucos elaborados apresentaram uma relevante concentração de *trans*-resveratrol, com destaque para o BV com valor semelhante aos encontrados em vinhos. De maneira geral a atividade antioxidante dos sucos foram altas, e estiveram associadas, principalmente, aos fenólicos: catequina, procianidina B2, ácido caféico, delfinidina 3-glicosídeo e cianidinas mono e diglicosídicas. Portanto se conclui que é possível elaborar sucos de uva com as novas cultivares brasileiras plantadas no Nordeste do Brasil, que apresentem boa quantidade de compostos

bioativos e características próprias originadas da viticultura tropical praticada no Vale do Submédio São Francisco, que difere das demais regiões tradicionais do mundo.

5. CONCLUSÃO

É possível elaborar sucos de uva com as novas cultivares brasileiras, plantadas no Nordeste do Brasil, que apresentem boa quantidade de compostos bioativos, alta atividade antioxidante e expressem características próprias originadas da viticultura tropical praticada no Vale do Submédio São Francisco, que difere das demais regiões tradicionais do mundo. O processo de obtenção dos sucos por extração a quente sem prensagem do bagaço obteve um alto rendimento. A prática de mistura da uva “Isabel Precoce” com as variedades “BRS Cora” e “BRS Violeta” aumentou significativamente o conteúdo bioativo e atividade antioxidante dos sucos comerciais. A melhor condição de maceração da uva para a obtenção da maior concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante dos sucos foi na temperatura de 60°C com adição de preparado enzimático a base de pectinases na dose 3,0 mL por 100kg de uva fresca.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pela concessão de bolsa e aporte financeiro na execução deste trabalho (Projeto APQ-0962-5.07/10).

À Empresa Brasileira de Frutas Tropicais (EBFT) / ASA Indústria e Comércio Ltda, pela disponibilização da infraestrutura de linha de processo e das matérias-primas utilizados na elaboração dos sucos de uva.

À Cooperativa Agrícola Nova Aliança – COANA pela disponibilização da infraestrutura de linha de processo e matérias-primas utilizados na elaboração dos sucos de uva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, K.; MALTESE, F.; CHOI, Y.; VERPOTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape - derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 3, p. 357 - 378, sept. 2010.

ARCARI, S. G.; CHAVES, E. S.; VANDERLINDE, R. ROSIER, J. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Brazilian fortified wines: Chemical composition, chromatic properties and antioxidant activity. **Food Research International** 53, 164–173, 2013.

ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Discriminated release of phenolic substances from red wine grape skins (*Vitis vinifera* L.) by multicomponent enzymes treatment. **Biochemical Engineering Journal** 49, 68–77, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000, Seção 1, p. 54-58.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 24 de 08 de setembro de 2005. Manual Operacional de Bebidas e Vinagres. Brasília, Publicado no **Diário Oficial da União** em 20 de setembro de 2005, Seção 1, p. 11.

BURIN, V. M.; FALCÃO, L. D.; GONZAGA, L. V. FETT, R.; ROSIER, J. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(4): 1027-1032, out.-dez. 2010.

CABRERA, S. G.; JANG, J. I. H.; KIM, S. T.; LEE, Y. R.; LEE, H. J.; CHUNG, H. S.; MOON, K. D. Effects of processing time and temperature on the quality components of Campbell grape juice. **Journal of Food Processing and Preservation** 33, 347–360, 2009.

CAMARGO, U. A. 'Isabel Precoce': alternativa para a vitivinicultura brasileira. **Comunicado Técnico N° 54**, 2004. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2004> Acessado

em maio de 2013.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G. “BRS Cora” nova cultivar de uva para suco, adaptada a climas tropicais. **Comunicado Técnico N.º. 53**, 2004. Disponível em:

<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2004> Acessado em maio de 2013.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J. C. “BRS Violeta” nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. **Comunicado Técnico N.º. 63**, 2005. Disponível em <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2005> Acessado em maio de 2013.

CAMARGO, U. A.; TONETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Volume Especial, E. 144-149, 2011.

CAPANOGLU, E.; VOS, R. C. H.; HALL, R. D.; BOYACIOGLU, D.; BEEKWILDER, J. Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. **Food Chemistry** 139, 521–526, 2013.

CASCALES, I. R-.; GARCIA, J. M. R-.; ROCA, J. M. L-.; PLAZA, E. G-. The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and colour evolution during the maceration process. **Food Chemistry** 130, 626–631, 2012.

CBHSF, Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco. Disponível em: www.saofrancisco.cbh.gov.br. Acessado em: 22 de março de 2010.

CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M.; SARNI-MACHADO, P. **OEnologie - Fondements Scientifiques et Technologiques**. Collection Science & Techniques Agroalimentaires. Techniques & Documentation, Paris, pp124-162, 1998.

CODVASF – Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco e do Parnaíba. Perímetros irrigados. Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br/principal/perimetros-irrigados/polos-de->

desenvolvimento-1/juazeiro-petrolina Acessado em novembro de 2013.

COOMBE, B. Influence of temperature on composition and quality of grapes. **In: *Proceedings of the International Symposium on Grapevine Canopy and Vigor Management*, XXII IHC pp. 23-35. Davis, USA: ISHS Acta Horticulturae 206, 1987.**

DANI, C.; OLIBONI, L. S.; VANDERLINDE, R.; BONATTO, D.; SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, 45, 2574–2580, 2007.

DÁVALOS, A.; BARTOLOME, B.; GÓMEZ-CORDOVE´S, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. **Food Chemistry**, 93, 325–330, 2005.

FERNANDES, A. L. M. A. P. **Impacto da rolha de cortiça na composição polifenólica de vinhos tintos engarrafados.**2007, 161 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar da Faculdade de Ciências) – Universidade do Porto, 2007.

FULEKI, T. e RICARDO-DA-SILVA, J. M. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**51, 640–646, 2003.

GLORIES, Y. La couler des vins rouges, 2^a Partie Mesure, Origine et Interpretation. **Conn. Vigne Vin.**, 18 (4), p. 253-271, 1984.

GOLLÜCKE, A. P. B.; CATHARINO, R. R.; SOUZA, J. C.; EBERLIN, M. N.; TAVARES, D. Q. Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. **Food Chemistry**, 112, 868–873, 2009.

GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, Vol. 30, No. 1, 136-145, 2007.

GRANATO, D.; KATAYAMA, F. C. U.; CASTRO, I. A. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. **Food Chemistry** 129, 366–373, 2011.

GRIS, E. F.; MATTIVI, F., FERREIRA, E. A.; VRHOVSEK, U.; PEDROSA, R. C.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. **Food Chemistry** 126, 213–220, 2011.

HE, F.; MU, L.; YAN, G. L.; LIANG, N. N.; PAN, Q. H.; WANG, J.; REEVES, M. J.; DUAN, C. Q. Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. **Molecules** 15, 9057-9091, 2010.

IYER, M. M.; SACKS, G. L.; PADILLA-ZAKOUR, O. I. Impact of harvesting and processing conditions on green leaf volatile development and phenolics in concord grape juice. **Journal of Food Science**, 75(3), 297–304, 2010.

JACKSON, R.S. **Wine Science Principle and Applications**, 3rd ed.; Academic Press: Burlington, VT, USA, 2008, p. 287-295.

JÁNVÁRY, L.; HOFFMANN, T.; PFEIFFER, J.; HAUSMANN, L.; TÖPFER, R.; FISCHER, T. C.; SCHWAB, W. A. Double mutation in the anthocyanin 5-*O* glucosyltransferase gene disrupts enzymatic activity in *Vitis vinifera* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 57, 3512-3518, 2009.

KENNEDY, J. A. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. **Ciencia Investigación Agraria** 35(2): 107-120, 2008.

KIM, Y K.; GUO, Q.; PACKER, L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. **Toxicology**, v.172, p.149-156, 2002.

KOSTADINOVIC, S.; WILKENS, A.; STEFOVA, M.; IVANOVA, V.; VOJNOSKI, B.; MIRHOSSEINI, H.; WINTERHALTER, P. Stilbene levels and antioxidant activity of Vranec and Merlot wines from Macedonia: Effect of variety and enological practices. **Food**

Chemistry135, 3003–3009, 2012.

KRIKORIAN, R.; BOESPFLUG, E. L.; FLECK, D. E.; STEIN, A. L., WIGHTMAN, J. D.; SHIDLER, M. D.; HOSSIENY, S. S. Concord grape juice supplementation and neurocognitive function in human aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**60, 5736–5742, 2012.

LANDBO, A. K.; MEYER, A. S. Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice.**Innovative Food Science and Emerging Technologies** 5, 503– 513, 2004.

LEBLANC, M. R.; JOHNSON, C. E.; WILSON, P. W.Influence of pressing method on juice stilbene content in Muscadine and Bunch Grapes.**Journal of Food Science** 73, N. 4, 2008.

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

LIU, H. -F.;WU, B. -H.; FAN, P. -G.; LI, S. -H.; LI, L. -S. Sugar and acid concentrations in 98 grape cultivars analyzed by principal component analysis. **Journal of the Scienceof Food and Agriculture**86:1526–1536, 2006.

LUCENA, A. P. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; MACIEL, J. A. C.; TAVARES, J. X.; BARBOSA-FILHO, J. M.; OLIVEIRA, E. J. Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines. **Journal of Food Composition and Analysis** 23, 30–36, 2010.

MAKRIS, D. P.; KALLITHRAKAB, S.; KEFALASA, K. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19, 396–404, 2006.

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

MANFROI, V. Enologia. **In:** Viticultura e Enologia: *elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros* / Eduardo Giovannini; Vitor Manfroi – Bento Gonçalves. IFRS, 2009.

MARTENS, S.; KNOTT, J. SEITZ, C. A; JANVARI, L.; YU, S.; FORKMANN, G. Impact of biochemical pre-studies on specific metabolic engineering strategies of flavonoid biosynthesis in plant tissues. **Bio.Eng. Journal**, 14, p. 227-235, 2003.

MARZAROTTO, V. Suco de Uva. **In:** Tecnologia de Bebidas: Matéria-prima, Processamento, BPF/APPCC, Legislação, Mercado. Coordenador: Waldemar Gastoni Venturini Filho. Edgar Blücher: São Paulo, 2005.

MATO, I.; LUQUE, S. S.; HUIDOBRO, J. F. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. **Food Chemistry** 102, 104–112, 2007.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2011. **Comunicado Técnico** 115, 2012. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2011>

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012. **Comunicado Técnico**, 137, 2013. (Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2013>)

MOJSOV, K; ZIBEROSKI, J.; BOZINOVIC, Z. The effect of pectolytic enzyme treatments on red grapes mash of Vranec on grape juice yields. **International Cross-Industry Journal**. Vol.7(1), PP. 84-86, 2011.

MORRIS J. R.; STRIEGLER, K. R. **Processing fruits: science and technology**. 2nd ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press. 2005.

MORRIS, J. R. Factors influencing grape juice quality. **HortTechnology**, 8 (4), 471-478, 1998.

MUDNIC, I.; MODUN, D.; RASTIJA, V.; VUKOVIC, J.; BRIZIC, I.; KATALINIC, V.; KOZINA, B.; MEDIC-SARIC, M.; BOBAN, M. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry** 119, 1205–1210, 2010.

MUSELÍK, J.; GARCÍA-ALONSO, M.; MARTÍN-LÓPEZ, M. P.; ŽEMLIČKA, M.; RIVAS-GONZALO, J. C. Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. **International Journal of Molecular Science** 8, 797-809, 2007.

NATIVIDADE, M. M. P., CORRÊA, L. C., SOUZA, S. V. C., PEREIRA, G. E. & LIMA, L. C. O. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal** 110, 665–674, 2013.

OH, Y. S.; LEE, J. H.; YOON, S. H. OH, C. H.; CHOI, D. -S.; CHOE, E.; JUNG, M. Y. Characterization and Quantification of Anthocyanins in Grape Juices Obtained from the Grapes Cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. **Journal of Food Science** 73, N. 5, 2008.

OIV - ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN. **Vine and Wine Outlook 2008-2009**. OIV – 18. Belgique.:Peters SA, 2013. ISBN 979-10-91799-08-9 Disponível em: (<http://www.oiv.int/oiv/info/esplublicationoiv>)

ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN – OIV. **Compendium of International Methods of Analysis**. Edition 2011, v. 1. Disponível em: (<http://www.oiv.int/oiv/info/frplublicationoiv#analysevin>)

PASTRANA-BONILLA E, AKOH C, SELLAPPAN S, KREWER G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51:5497–503, 2003.

PEREIRA, G. E. **Vinhos Tropicais do Brasil**. Associação Brasileira de Enologia, 2010. Artigo disponível em: <http://www.enologia.org.br> Acesso em 12/04/2010.

PEYNAUD, E. **Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino**. Madrid, España: Mundi-Prensa, 1999.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGEMNTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology Medicine**, v.26, p.1234-1237, 1999.

RIBEIRO, T. P.; LIMA, M. A. C.; ALVES, R. E. Maturação e qualidade de uvas para suco em condições tropicais, nos primeiros ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.47, n.8, p.1057-1065, 2012.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, P.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, Y. **Tratado de Enología: química del vino estabilización y tratamientos**. 1ª. Ed. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 2003. V.2, 537p.

RITSCHER, P.; MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A.; ZANUS, M. C.; SOUZA, R. T.; FAJARDO, T. G. M. 'BRS Magna' nova cultivar de uva para suco com ampla adaptação climática. **Comunicado Técnico N.º 125**, 2012. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/> acessado em abril de 2013.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva** / Luiz Antenor Rizzon, Júlio Meneguzzo. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, Coleção Agroindústria Familiar, 2007. 45 p.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 32(1), 93-97, 2012.

ROBBINS, R. J.; BEAN, S. R. Development of a quantitative high-performance liquid chromatography–photodiode array detection measurement system for phenolic acids. **Journal of Chromatography A**, 1038, 97–105, 2004.

RYBKA, A. C. P.; PEREIRA, G. E.; BIASOTO, A. C. T.; CORRÊA, L. C. Development of methodology for the determination of organic acids in must, grape juice and wine by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **In: 16th World Congress of Food Science and Technology: Addressing Global Food Security and Wellness through Food Science and Technology**, 2012, Foz do Iguaçu. Book of Abstracts, 2012. Disponível em: <http://iufost.org.br/sites/iufost.org.br/files/anais/05609.pdf>

SANDRI, I. G.; FONTANA, R. C.; BARFKNECHT, D. M.; SILVEIRA, M. M. Clarification of fruit juices by fungal pectinases. **Food Science and Technology** 44, 2217-2222, 2011.

SAUTTER, C. K.; DENARDIN, S.; ALVES, A. O.; MALLMANN, C. A.; PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 437-442, 2005.

SILVA, R. J. M. Estrutura e composição das procianidinas da uva e do vinho. Efeitos potenciais na saúde. *3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo*. Évora, Portugal. 1995. Vol. 2: 343-355.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144–158.

SOYER, Y.; KOCA, N.; KARADENIZ, F. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. **Journal of Food Composition and Analysis** 16, 629–636, 2003.

SPAYD, S. E.; TARARA, J. M.; MEE, D. L.; FERGUSON, J. C. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. **American Journal of Enology and Viticulture** 53, 171–182, 2002.

STALMACH, A.; EDWARDS, C. A.; WIGHTMAN, J. D.; CROZIER, A. Identification of (poly)phenolic compounds in Concord grape juice and their metabolites in human plasma and urine after juice consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 59, 9512–9522, 2011.

TALCOTT, S. T.; LEE, J. -H. Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of Muscadine wine and juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50, 3186–3192, 2002.

TARARA, J.M.; LEE, J.; SPAYD, S.E.; SCAGEL, C.F. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. **American Journal of Enology and Viticulture** 59, 235-247, 2008.

TEIXEIRA, A. H. C. ; AZEVEDO, P. V. . Zoneamento agroclimático para a videira europeia no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 4, n. 1, p. 139-145, 1996.

TEIXEIRA, A. H. C.; BASTIAANSEN, W. G. M.; BASSOI, L. H. Crop water parameters of irrigated wine and table grapes to support water productivity analysis in the São Francisco river basin, Brazil. **Agricultura I Water Management**, 94, 31-42, 2007.

TONIETTO, J.; CAMARGO, U. A. Vinhos tropicais no Brasil e no mundo. **Bon Vivant**, v.8, n. 94, p. 15, 2006. Disponível em <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos> Acessado em 26/07/10.

VAUZOUR, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; CORONA, G.; ORUNA-CONCHA, M. J.; SPENCER, J. P. E. Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. **Nutrients**, 2, 1106-1131, 2010.

VITRAC, X.; BORNET, A.; VANDERLINDE, R.; VALLS, J.; RICHARD, T.; DELAUNAY, J. C.; MERILLON, J. M.; TEISSEDE, P.

L. Determination of stilbenes (delta-viniferin, transastringin, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol, epsilon-viniferin) in Brazilian wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53 (14), 5664– 5669, 2005.

WANG, H.; RACE, E. J.; SHRIKHANDE, A. J. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 1839–1844, 2003.

XIA, E. Q.; FANG, D. G.; JUN, G. Y.; BIN, L. H. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, 11, 622-646, 2010.

ANEXOS

Anexo 1. Médias mensais da estação agrometeorológica de Bebedouro, Petrolina-PE (09°09'S, 40°22'W).
Período: agosto de 2012 a março de 2013.

DADOS CLIMÁTICOS	2012						2013		
	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	
Precipitação pluviométrica (mm)	2,4	0	0	11,9	0,2	70,8	0	4,2	
Temperatura mínima (°C)	18,2	19,7	21,5	23,8	23,7	24	23,6	24,2	
Temperatura média (°C)	24,3	26,2	27,5	28,5	28,7	28,3	28,9	29,2	
Temperatura máxima (°C)	31,2	33,4	34,5	35,2	35,8	34,6	35,9	35,5	
Umidade Relativa (%)	55	50	47	55	48	58	49	51	
Evaporação (mm)	7,9	9,1	9,8	8,3	9,8	8,1	9,3	9,3	
Insolação (h)	8,1	9,5	9,7	6,7	7,6	5,7	8,3	7,5	
Radiação solar (ly/dia)	471	575,7	590	505,8	561,4	507,2	566,7	524,6	
Velocidade do vento (Km/dia)	278,8	268,1	273,2	183,1	203,7	184,1	216,3	186	

Anexo 2. Ficha técnica do preparado enzimático utilizado na maceração das uvas.

**Enzima pectolítica purificada por três concentrações para
tratamento do fruto antes de prensagem**

Endozym[®] Pectofruit PR

Fabricante

SPINDAL - PASCAL BIOTECH - Z.I. - 3 Rue Ampère - 77220 Gretz - Armainvilliers
(FRANCE) - tél. +33.(0)1.64.07.80.00 - fax +33.(0)1.64.07.59.20
E-mail: spindal@spindal.fr - site: www.aeb-group.com

Importador

AEB BIOQUÍMICA LATINO AMERICANA S/A
RUA Tavares de Lyra, 3728 - São José dos Pinhais - PR
Fone 41 3888 5200 Fax 41 3888 5248 Email aeb@aeb-brasil.com.br

Doses de emprego

De 20 a 60g/tonelada, de acordo com o tempo de contato, da temperatura e do tipo de
fruta a tartar.

Confeção

Bombonas de 10,0 kg e 25,0 kg.

Anexo 2(continuação). Ficha técnica do preparado enzimático utilizado na maceração das uvas.

FICHA TÉCNICA E DE SEGURANÇA

2 COMPOSIÇÃO e INFORMAÇÕES SOBRE INGREDIENTES

Características da matéria ativa: preparado enzimático a base de pectinases produzidas à partir de *Aspergillus niger*.

Pectinase (PL) – CAS: 9033-35-6

Polygacturonase (PG) – CAS: 9032-75-1

Pectinmetilesterase (PME) – CAS: 9025-98-3

Celulase – CAS: 9012-54-8

8 VALORES LIMITES DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Equipamento individual de proteção: Proteção respiratória: máscara respiratório homologado para este tipo de enzima (filtro P3).
Proteção das mãos: luvas borrachas ou PVC impermeável. Proteção dos olhos: lunetas de proteção ou máscara ocular.

9 PROPRIEDADES FÍSICO QUÍMICAS

Aspecto: Líquido marrom
Característico
Odor: 4,0 a 4,5
pH ótimo:
Temperatura ótima: 45-55°C



AEB BIOQUÍMICA LATINO AMERICANA S/A
Tavares de Lyra, 3728 - Bairro Afonso Pena-São José dos Pinhais-PR
Fone (041) 3888-5200 Fax (041) 3888-5248 - SAC AEB 0800 7225217 E-mail: aeb@aeb-brasil.com.br

Data da última revisão: 10 de Fevereiro de 2009.

Anexo 3. Recomendações de uso do preparado enzimático utilizado na maceração das uvas.

<p>Endozym® PECTOFRUIT PR é uma preparação enzimática ultra-concentrada, especialmente desenvolvida para tratamentos de maceração de frutas antes da prensagem.</p> <p>Pascal Biotech desenvolveu esta enzima pectolítica com uma concentração especialmente elevada de pectinliase (PL), para conseguir uma total fluidificação da estrutura da fruta antes da prensagem. Em sinergia com a atividade PL, as outras atividades principais e secundárias, trazem um grau muito elevado de degradação da pectina e uma liberação ótima do suco durante a prensagem.</p> <p>A contribuição das atividades arabanásica, celulásica e hemicelulásica, balanceadas com cuidado em sua formulação, realizam uma perfeita degradação da pectina e outros polissacarídeos da fruta.</p> <p>Endozym® PECTOFRUIT PR deve ser usado para o tratamento das frutas antes da prensagem.</p>	
DOSAGEM	MODALIDADES DE USO
<p>Dosagem varia de acordo com:</p> <ul style="list-style-type: none"> * a temperatura de tratamento; * o tempo da ação enzimática no tanque de maceração; * conforme a fruta ou legume a ser tratado. <p>Dosagem média no purê entre 15 e 25°C: 40-60 mL/ton começando com 60 minutos de maceração.</p> <p>Entre 25 e 35°C temperatura é possível degradar qualidades aromáticas do suco.</p> <p>Dosagem média no purê entre 45 e 50°C: 20-40 mL/ton começando com 30 minutos.</p>	<p>Diluição: diluir 10 vezes o volume em água desmineralizada antes de adicionar ao suco a ser tratado. Ter certeza de que a solução enzimática está perfeitamente homogeneizada.</p> <p>Dispersão: Endozym® PECTOFRUIT PR é ideal quando adicionado antes do tanque de clarificação com auxílio de uma bomba dosadora, ou dosagem com agitação contínua.</p> <p>Endozym® PECTOFRUIT PR é ativa em:</p> <ul style="list-style-type: none"> * pH: 3,0 a 5,5 * Temperatura: 8-65°C <p>Condições ótimas</p> <ul style="list-style-type: none"> * pH: 3,5 a 5,0 * Temperatura: 50-60°C