

JOSIANE LUCI ARSEGO

COMPOSIÇÃO POLIFENÓLICA DE VINHOS BORDÔ, ISABEL, SEYVE  
VILLARD E NIÁGARA BRANCA, PRODUZIDOS  
NO ALTO VALE DO RIO DO PEIXE-SC

/

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para Titulação de Mestre, junto ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina.

**Orientador:** Prof. Marcelo Maraschin

**Co-orientador:** Prof. Miguel S.B. Caro

Florianópolis  
2004

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**

**COMPOSIÇÃO POLIFENÓLICA DE VINHOS BORDÔ, ISABEL, SEYVE  
VILLARD E NIÁGARA BRANCA, PRODUZIDOS  
NO ALTO VALE DO RIO DO PEIXE-SC**

**JOSIANE LUCI ARSEGO**

Florianópolis, fevereiro de 2004.

## AGRADECIMENTOS

Dedico meus agradecimentos a Deus e à minha família em primeiro lugar. Ao meu pai, Lucindo Arsego; à minha mãe, Lúcia Menin Arsego; ao meu irmão, Lucindo Arsego Jr., que foram suporte e porto seguro durante toda minha vida e em especial durante estes dois anos de muita batalha e persistência.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Maraschin pela paciência, apoio e esperança, ao Prof. Dr. Miguel Soriano Balparta Caro, pela co-orientação, prestatividade e simpatia e a Profa. Juliana Bernardi Ogliari, pela confiança e amizade.

Aos meus amigos, os quais foram de suma importância para mim durante o convívio no laboratório, Paulo Gaúcho Tchê, Liana, Gunther, Luciana, Carol, Denílson, em especial à Patrícia Flores amiga e companheira nos momentos difíceis, sempre me dando força e na boemia, filosofando, discutindo e conspirando comigo.

Ao Luis Pacheco (Vá, Vá, Vá!) pela amizade, carinho e por ter me presenteado com o meu “xodozinho” Hanna Menin, meu bebê siamês de pêlos macios e olhinhos curiosos. Também agradeço a ela, Hanninha, por ser muito fofa e subconscientemente ter suprimido uma certa carência e saudosismo de minha parte.

Agradeço às vinícolas que colaboram com a minha pesquisa, cedendo as amostras de vinhos para serem analisadas quimicamente e sensorialmente.

A uma pessoa muito especial, apesar de fazer parte da minha vida apenas há 10 meses, devo muito a ele pelos momentos relaxantes e agradabilíssimos, pelo carinho, atenção e companheirismo, Marcos Antonio do Livramento.

E, finalmente, a mim mesma, *Josiane Luci Arsego*, por ter tido força para enfrentar as diversidades encontradas durante este percurso superando-as com dignidade, estilo e elegância, transcendendo os limites da paciência e da evolução karmica.

A todos,

Muito Obrigada!

## ÍNDICE GERAL

Índice de Tabelas .....	2
Índice de Figura .....	4
<b>CAPÍTULO I – VITIVINICULTURA.....</b>	<b>5</b>
1 Introdução .....	6
1.1 Mercado Vitivinícola.....	7
1.1.1 Vitivinicultura Brasileira .....	7
1.1.2 Vitivinicultura Catarinense .....	13
1.2 Referências Bibliográficas .....	16
<b>CAPÍTULO II - METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VEGETAIS: ÊNFASE EM COMPOSTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS, TANINOS E <i>t</i>-RESVERATROL.....</b>	<b>18</b>
2.1 Introdução.....	19
2.1.1 Compostos Fenólicos (ácidos polifenólicos simples).....	21
2.1.2 Antocianinas .....	24
2.1.3 Taninos Condensados .....	27
2.1.4 <i>trans</i> -Resveratrol .....	29
2.2 Material & Métodos .....	32
2.3 Resultados & Discussão .....	35
2.3.1 Compostos Fenólicos .....	35
2.3.2 Antocianinas .....	41
2.3.3 Taninos Condensados .....	45
2.3.4 <i>t</i> -Resveratrol.....	49
2.4 Conclusões .....	54
2.5 Referências Bibliográficas .....	56
<b>CAPÍTULO III - ANÁLISE INSTRUMENTAL DE VINHOS CATARINENSES: ÊNFASE EM ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO (<sup>1</sup>H-RMN) E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE). .....</b>	<b>67</b>
3 Introdução.....	68
3.1 Ressonância Magnética Nuclear – RMN .....	69
3.1.1 Material & Métodos.....	72
3.1.2 Resultados e Discussão .....	73
3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE.....	75
3.2.1 Material & Métodos.....	77
3.2.2 Resultados e Discussão .....	78
3.3 Conclusões .....	80
3.4 Referências Bibliográficas .....	81
Perspectivas .....	3

## Índice de Tabelas

Tabela 1 Área plantada de videiras ( <i>Vitis spp</i> ) no Brasil (ha) para as safras de 2001 e 2002.....	8
Tabela 2 Produção de uvas no Brasil, em toneladas, ao longo do período 1998/2002. ....	9
Tabela 3 Volume das importações de vinhos de mesa (em 1000 litros) relativo ao volume de vinhos de castas viníferas comercializados no Brasil, ao longo do período 1993– 2000.....	11
Tabela 4 Volume (litros) comercializado de vinhos, mosto e suco de uva no Rio Grande do Sul, segundo o tipo de uva, ao longo do período 1997 - 2001.....	12
Tabela 5 Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	35
Tabela 6 Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC. ....	36
Tabela 7 Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	37
Tabela 8 Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	37
Tabela 9 Média diária de temperatura (°C), precipitação (mm), insolação (h) e umidade relativa do ar ( %), durante o período de crescimento e maturação da uva (novembro a janeiro), no município de Videira – Vale do Rio do Peixe, SC.....	40
Tabela 10 Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	41
Tabela 11 Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC. ....	42
Tabela 12 Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	43
Tabela 13 Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	43
Tabela 14 Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	45
Tabela 15 Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	46

Tabela 16 Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC. ....	47
Tabela 17 Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	47
Tabela 18 Concentração de <i>t</i> -resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC .....	50
Tabela 19 Concentração de <i>t</i> -resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC. ....	50
Tabela 20 Concentração de <i>t</i> -resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	51
Tabela 21 Concentração de <i>t</i> -resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, SC.....	52
Tabela 22 Detecção de compostos de interesse por <sup>1</sup> H-RMN em amostras de vinhos Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe, SC. ....	73
Tabela 23 Concentração (mg/L) de compostos fenólicos de interesse em amostras de vinhos catarinenses, determinada por CLAE. ....	78

## Índice de Figura

Figura 1 Via do ácido chiquímico, principal rota metabólica de síntese de compostos fenólicos, onde PAL – fenilalanina amônia liase e CS-chalcona sintase. ....	20
Figura 2 Detalhes da estrutura química dos principais ácidos fenólicos encontrados nos vinhos, onde o grupo hidroxila (OH) é responsável pelas características antioxidantes dos compostos.....	22

## CAPÍTULO I – VITIVINICULTURA

### **Resumo**

A vitivinicultura brasileira evoluiu de maneira extraordinária nas duas últimas décadas, e o Brasil produz hoje vinhos de boa qualidade. O atual panorama vinícola brasileiro é animador e, complementando esse salto qualitativo, a partir de setembro de 1995 o Brasil passou a ser membro da OIV (Organização Internacional do Vinho), organismo que regula as normas internacionais de produção do vinho, cujo cumprimento resulta, obrigatoriamente, na elevação do padrão de nossos vinhos. No ano de 2002, a área ocupada pela cultura no País abrangia 65.381 ha, havendo maior concentração nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, com 61,38 % da área plantada no País. Estes dois Estados respondem por cerca de 95 % da produção nacional de vinhos, um mercado que se encontra em franca expansão. Em função do exposto, observa-se que a produção de vinhos e derivados de uva no Estado SC é de grande importância sócio-econômica. Além disto, um consumo crescente de vinhos tem sido observado. Tal fato sugere uma forte expansão deste mercado, o qual deverá oferecer produtos de qualidade superior.

**Palavras-chave:** vitivinicultura, *Vitis labrusca*, vinhos

### **Abstract**

The Brazilian viniculture has experienced a meaningful development in the last two decades, producing wines of great quality. As of September, 1995 Brazil joined to OIV (International Wine Organization), organism that regulates the international norms for production of wine, whose fulfillment results, obligatorily, in increasing of the quality standard of our wines. In 2002, the grapevine cultivated area in Brazil enclosed 65,381 ha, mostly in Rio Grande do Sul and Santa Catarina States, with 61.38% of cultivated area. Those two States comprise for about 95 % of the national production of wines, a market in continuous expansion. According to the above describe one can realize that production of wines and derivatives of grape in Santa Catarina State is of social and economic importance. Moreover, an increasing consumption of wines has been observed over the last years. Such fact suggests a strong expansion of the wine market, which should have to offer products of superior quality.

**Key words:** vitiviniculture, *Vitis labrusca*, wines

## 1 Introdução

A videira é uma das espécies frutíferas mais conhecidas desde a Antigüidade. Pertence à família *Vitaceae*, sendo que as principais cultivares comerciais são do gênero *Vitis*. Estudos indicam que a videira já crescia de modo espontâneo há 13.000 anos, sendo originária da Ásia. A videira tem acompanhando o homem desde os primórdios das civilizações, havendo registros de cultivos de vinhedos com 150 anos de idade devido ao abandono da vida nômade pelas comunidades da época (MAURO, 2001). Sua difusão no mundo ocorreu em duas direções principais: uma américo-asiática e a outra euro-asiática, originando respectivamente as variedades de uvas chamadas americanas (*Vitis labrusca*) e européias (*Vitis vinifera*) (EPAGRI, 1998).

A respeito do vinho, não se pode apontar precisamente quando e onde esta bebida foi elaborada pela primeira vez. Segundo Mauro (2001), a descoberta do vinho foi uma casualidade onde o homem, ao esquecer o suco de uva numa vasilha, observou que este sofreu uma fermentação, mudando seu sabor, odor, coloração e, sobretudo, proporcionando efeitos prazerosos e inebriantes a quem o bebia. Por este motivo, era freqüente na antigüidade que se usasse o resultante da fermentação do suco da uva em cerimônias religiosas, pois acreditavam que este efeito provocado pelo álcool fosse mágico e ligado a deuses.

Foi com os romanos e a expansão de seu império que o vinho se torna conhecido pelo mundo. O comércio se desenvolve e assim são iniciados os estudos sobre a viticultura. Os franceses inventam o barril de madeira que, em verdade, revolucionaria o mundo enológico, bem como desenvolvem uma variedade de uva mais resistente ao frio, dando origem aos vinhedos da Borgogna (MAURO, 2001).

Por volta do século IX, o consumo de vinho cresce de forma expressiva já na sociedade feudal. As classes mais pobres o consumiam "para esquecer" e os abastados o elegem como um vício refinado. A viticultura e a enologia evoluem e as técnicas de cultura e de vinificação se tornam mais sofisticadas (MAURO, 2001).

## 1.1 Mercado Vitivinícola

O mercado do vinho tem acompanhado o progressivo processo de internacionalização/globalização da economia, à semelhança de outras produções agrícolas. Uma precisão impõe-se, contudo, quando se fala da globalização do setor do vinho, sendo este um fato que requer de todos os participantes esforços adicionais para garantir uma posição competitiva. Com efeito, o vinho não é uma mercadoria qualquer, não pode ser produzido em qualquer lugar e deve obedecer a regras bem mais complexas do que a simples minimização dos custos de produção. A localização das vinhas, à semelhança de qualquer outra unidade de produção, está submetida à regra das vantagens comparativas; cada região tem as suas e são bem mais importantes e determinantes da sua imagem e posição no mercado que unicamente os custos de produção (AGUIAR, 2002).

A redução do consumo de vinho nos países produtores europeus e o crescimento progressivo do consumo de países não produtores, tanto europeus como nos outros continentes, com algum destaque para a Ásia, tem constituído um dos fatores determinantes do aumento de trocas internacionais. Acresce a este fato o aumento da capacidade produtiva dos chamados países do novo mundo vitícola, maiormente do hemisfério sul, *i.e.*, Chile, África do Sul e Austrália, os quais com os EUA têm marcado a produção mundial com volumes importantes destinados aos mercados importadores (AGUIAR, 2002).

Este alargamento do mercado tem permitido compensar nos últimos anos a quebra de consumo dos mercados tradicionais, resultante quer da alteração dos hábitos de vida, quer fruto das pressões das campanhas contra a ingestão de álcool (AGUIAR, 2002).

No período 1981/85, o mercado mundial do vinho cifrava-se em 49,5 milhões de hectolitros - valor que corresponde à soma dos volumes de exportação. Após uma ligeira retração no período 1986/90, constatou-se um aumento constante desse valor até 1998 (65,5 milhões de hectolitros), seguido de uma redução para 62,2 milhões de hectolitros em 1999 (AGUIAR, 2002).

### 1.1.1 Vitivinicultura Brasileira

No Brasil, a exploração vitícola é uma atividade bastante antiga, conforme demonstram os registros de cultivo de uva pelos jesuítas no Estado do Rio Grande do Sul, no século XVII (ROSIER & LOSSO, 1997).

Entre 1830 e 1840 foram trazidas para o Brasil as primeiras videiras americanas, de maior resistência às moléstias e com características de adaptação ao ambiente brasileiro, onde prosperaram e, desde então, se expandiram (MARTINS, 2002).

A produção de uvas e vinhos no Brasil está localizada nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, sendo uma atividade consolidada e com significativa importância sócio-econômica. Aproximadamente 50% da produção nacional de uvas destinam-se à elaboração de vinhos, sucos e outros derivados. Neste contexto, os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina respondem por 90% (ca. 300 milhões de litros) e 5% (ca. 15 milhões de litros) da produção nacional de vinho, respectivamente, destacando-se como os maiores produtores. Desta produção, cerca de 20% tem por base uvas viníferas e 80% americanas e híbridas (MELLO, 2000).

No Brasil, a área cultivada em 2002, segundo Mello (2002), foi de 65.381 ha (Tabela 1). O Rio Grande do Sul figura como o principal produtor com área de 36.668 ha, ou seja, 56,08% da área total do país, seguido pelo estado de São Paulo com 12.152 ha e Santa Catarina, onde se encontram 3.514 ha de área cultivada de uva.

**Tabela 1. Área plantada de videiras (*Vitis* spp) no Brasil (ha) para as safras de 2001 e 2002.**

<b>Estado/Ano</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>
<b>Pernambuco</b>	3.702	3.365
<b>Bahia</b>	2.768	2.732
<b>Minas Gerais</b>	840	950
<b>São Paulo</b>	11.128	12.152
<b>Paraná</b>	6.168	6.000
<b>Santa Catarina</b>	3.487	3.514
<b>Rio Grande do Sul</b>	34.682	36.668
<b>Outros</b>	513	-
<b>Brasil</b>	63.288	65.381

Fonte: Mello (2002).

No ano de 2002, a produção de uva no Brasil foi de 1.120.574 t, sendo 45,23% da produção nacional de uva destinada à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados (Tabela 2).

**Tabela 2. Produção de uvas no Brasil, em toneladas, ao longo do período 1998/2002.**

<b>Discriminação/ Ano</b>	<b>1998</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>
<b>Uva para Vinho</b>	348.523	469.870	549.306	469.098	506.799
<b>Uva de Mesa</b>	387.947	398.479	429.271	596.719	613.775
<b>Total</b>	736.470	868.349	978.577	1.062.817	1.120.574

Fonte: Mello (2002).

O principal estado produtor no país é o Rio Grande do Sul, assumindo historicamente a liderança da produção e abastecimento da demanda do mercado interno brasileiro. Mais recentemente, começaram a ocorrer investimentos com a implantação e/ou modernização das vinícolas (setor industrial), motivados por um mercado interno com potencial para produtos de melhor qualidade (vinhos finos) e de maior preço. No mesmo período, a agroindústria de suco conseguiu se destacar pela qualidade e singularidade do produto elaborado, vindo a conquistar mercados internacionais exigentes. A partir de então, verificou-se um intenso processo de implantação e/ou modernização tecnológica das vinícolas e processadoras de suco. Porém, o setor de produção vitícola não participou desta mudança com a velocidade e objetividade necessárias. Como consequência deste quadro, a qualidade da matéria-prima nacional (uvas para processamento) ainda apresenta potencial enológico inferior ao dos principais concorrentes, i.e., Chile, Argentina, Itália, França e Portugal, por exemplo, o que afeta a capacidade competitiva do setor no segmento de vinhos finos, o qual ressurte-se, principalmente no atual contexto de mercado globalizado (PROTAS *et al.*, 2002).

Deve ser ressaltado, no entanto, que a vitivinicultura brasileira somente adquiriu importância econômica com o advento da imigração italiana, que se estabeleceu nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo, no final do século passado. O imigrante italiano, tradicionalmente ligado à cultura da videira, chegando ao Brasil para trabalhar na agricultura, logo verificou que a variedade Isabel produzia safras abundantes, a partir das quais era possível elaborar-se vinhos, ainda que com características bastante distintas em relação a aquelas da terra natal. Dessa forma, algumas colônias de imigrantes italianos deram início à implantação definitiva da cultura da videira no Brasil (MARTINS, 2002).

Nas duas últimas décadas, a vitivinicultura brasileira evoluiu de maneira extraordinária e o Brasil produz hoje vinhos de boa qualidade. O atual panorama vinícola brasileiro é animador e, complementando esse salto qualitativo, a partir de setembro de

1995, o Brasil passou a ser membro da *OIV (Office International de la Vigne e du Vin)*, organismo que regula as normas internacionais de produção do vinho, cujo cumprimento resulta, obrigatoriamente, em elevação do padrão de nossos vinhos. Uma das normas que em breve, será implantada é criação a implementação das *Denominações de Origem Controlada*, como as existentes nos países europeus (MARTINS, 2002).

Em 1994, o Plano Real abriu as portas para o mercado externo e os efeitos da globalização começaram a se fazer sentir em nosso país. Os vinhos estrangeiros passaram a ocupar a maior parte das prateleiras dos supermercados e das casas especializadas, além de marcar forte presença nos cardápios dos restaurantes. O brasileiro praticamente desconhecia a produção vinícola do seu país. Para que o vinho nacional voltasse a atrair a sua atenção, seria preciso uma reação forte por parte dos produtores brasileiros (RIVOIRO, 2002).

É preciso, no entanto, que o consumidor brasileiro evite comparar os nossos vinhos com os estrangeiros. Sem dúvida, os melhores vinhos do mundo se originam da França, Itália, Espanha, Portugal, e Chile. Entretanto, a rigor não se deve comparar vinhos de regiões diferentes, uvas diferentes e tipos de vinificação diferentes, que lhes conferem estilos diferentes. Do mesmo modo, o vinho brasileiro de qualidade tem o seu estilo. Os brancos são adequados ao nosso clima - frutados, refrescantes, para serem consumidos jovens - e já alcançaram um grau de qualidade que ultrapassa muitos vinhos brancos de países de tradição vinícola. Os tintos, por sua vez, já atingiram a qualidade de muitos vinhos europeus jovens. Alguns vinhos elaborados na safra de 1991, a melhor da história da vitivinicultura brasileira, até o momento, atingiram um surpreendente grau de qualidade e estão melhorando com o envelhecimento na garrafa por mais de sete anos, um tempo antes inimaginável para os vinhos nacionais (ACADEMIA DO VINHO, 2003).

Existem, todavia, dois problemas cruciais que dificultam um maior desenvolvimento da vitivinicultura brasileira. O primeiro é sem dúvida o pequeno consumo (cerca de apenas 2 litros *per capita* por ano), resultante da falta de tradição vinícola e do baixo poder aquisitivo do brasileiro. O segundo é o preço do vinho nacional que é relativamente alto, em consequência da alta taxa de impostos e de encargos sociais, um fato que dificulta a concorrência com os baixos preços de muitos vinhos importados (ACADEMIA DO VINHO, 2003).

Infelizmente, a maior parte dos consumidores brasileiros não tem conhecimento desses fatos e continua tomando vinhos importados de qualidade inferior, escolhidos pelo

pomposo nome, ou pelo questionável charme da cor da garrafa. A estrutura produtiva e mercadológica do setor vinícola brasileiro, concentrado no sul do país, apresenta uma característica atípica, relativamente aos países tradicionais produtores de vinhos e derivados da uva. Enquanto naqueles são admitidos apenas produtos originários de variedades de uvas finas (*Vitis vinifera*), no Brasil, além das variedades viníferas, existem produtos originários de variedades americanas e híbridas (*V. labrusca* e *V. bourquina*), que representam mais de 80% do volume total desta cadeia produtiva, evidenciando a existência de uma dualidade estrutural no setor. O segmento de vinhos finos, com o processo de abertura da economia brasileira ao exterior, tem enfrentado uma forte concorrência, registrando-se taxas significativas de crescimento das importações de vinhos de mesa. Na Tabela 3 pode-se observar que no período de 1993–2000 a participação dos vinhos importados no mercado brasileiro de vinhos finos passou de 19,4% para 46%. Este quadro se revela ainda mais preocupante quando confrontado com as estatísticas referentes à comercialização do vinho fino nacional (Tabela 4) no período 1997-2000, que evidenciam uma queda no volume absoluto comercializado de 8,2% (PROTAS *et al.*, 2002).

**Tabela 3. Volume das importações de vinhos de mesa (em 1000 litros), relativo ao volume de vinhos de castas viníferas comercializados no Brasil, ao longo do período 1993 – 2000.**

Vinhos de viníferas	1993	1994	1995	1994	1996	1997	1998	1999	2000
Nacionais	49.916	46.542	40.195	46.542	40.696	40.442	32.456	37.096	34.196
Importados	11.979	21.457	28.102	21.457	22.632	24.018	22.765	26.415	29.288
Total	61.895	67.999	68.297	67.999	63.328	64.460	55.221	63.511	63.484
Participação importações /total (%)	19,35	31,55	41,15	31,55	35,74	37,26	41,23	41,59	46,1

Fonte: PROTAS *et al.*, (2002).

**Tabela 4. Volume (litros) comercializado de vinhos, mosto e suco de uva no Rio Grande do Sul, segundo o tipo de uva, ao longo do período 1997 - 2001.**

<b>PRODUTOS/ANOS</b>	<b>1997</b>	<b>1998</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>
VINHO COMUM	174.768.638	181.576.649	200.578.746	221.023.603	221.518.224
<b>Tinto</b>	127.693.158	133.479.291	150.857.434	172.183.792	176.793.696
<b>Rosado</b>	13.550.872	12.980.172	13.221.934	9.150.927	7.283.912
<b>Branco</b>	33.524.608	35.117.186	36.499.378	39.688.884	37.440.616
VINHO ESPECIAL	790.617	194.075	234.696	249.345	492.272
<b>Tinto</b>	136.027	50.870	56.589	177.872	281.260
<b>Rosado</b>	145.144	2.074	112.392		12.833
<b>Branco</b>	509.446	141.131	65.715	71.473	198.179
VINHO DE VINIFERAS	46.442.209	32.456.318	37.096.571	34.195.829	28.701.658
<b>Tinto</b>	18.303.579	11.925.188	14.706.398	15.119.076	12.112.495
<b>Rosado</b>	1.997.373	1.585.687	1.479.987	1.021.310	790.176
<b>Branco</b>	26.141.257	18.945.443	20.910.186	18.055.443	15.798.987
ESPUMANTES	3.035.402	3.223.462	5.555.866	4.136.072	4.019.853
<b>Espumantes Moscatel</b>	19.222	29.712	50.670	194.723	474.162
<b>Filtrado Doce</b>	11.400.130	11.506.197	14.457.195	11.065.803	10.253.296
<b>Frizantes</b>	221.733	15.370	12.861	2.583	
<b>Licorosos</b>	756.557	1655907	1.013.137	1.110.159	957.388
<b>Compostos</b>	847.456	1.137.668	1.199.898	1.084.344	276.791
<b>Mistelas</b>	420.127	108.555	27.060	-	6.619
<b>Jeropiga</b>	78.504	49.339	71.800	66.197	66.824
<b>Suco de Uvas</b>	4.996.959	9.025.797	7.778.310	6.847.466	11.498.893
<b>Suco de Uva Concentrado</b>	16.724.519	13.944.137	16.261.806	15.315.971	14.704.091
<b>Mosto Sulfitado</b>	-	-	88.000	180.900	369.070
<b>Mosto Concentrado</b>	124.870	-	-	-	-
<b>Cooler</b>	4.571.501	5.764.233	9.424.282	10.847.415	10.994.658
<b>Sangria</b>	-	-	-	-	99.260
<b>TOTAL</b>	265.198.444	260.687.419	293.850.898	306.320.410	304.433.059

Fonte: PROTAS *et al.*, (2002).

Quanto aos vinhos elaborados a partir das variedades de uvas comuns, verifica-se que seu consumo corrente tem apresentando um crescimento equilibrado, com taxas positivas que somam 26,4 %, ao longo do período 1997 a 2001. Este comportamento do mercado consumidor de vinhos comuns está relacionado, em alguma extensão, com o poder aquisitivo da população, uma vez que este tipo de vinho é comercializado a preços bastante acessíveis. Outros aspectos tais como a preferência pelas características de gosto e aroma foxado, típico das variedades de *V. labrusca*, a simpatia destes consumidores por produtos tipo colonial e a facilidade de se encontrar os produtos mesmo nos locais mais

remotos do país também corroboram para explicar a estabilidade verificada neste mercado (PROTAS *et al.*, 2002).

No caso dos vinhos de consumo corrente e do suco de uva, que apresentam uma situação de mercado estável, também há a necessidade de melhoria na qualidade da matéria prima e de investimentos em tecnologia para processamento. As iniciativas quanto à produção de uvas e elaboração de sucos nas regiões tropicais deverão, num futuro próximo, provocar alterações na estrutura de oferta e, conseqüentemente, do mercado interno deste produto. O eventual aumento da competição entre regiões brasileiras neste mercado poderá desencadear um processo de reconversão tecnológica (práticas culturais e diversificação da matriz produtiva, por exemplo), com base no conhecimento técnico científico disponível, capaz de mudar o perfil da viticultura na região tradicional do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (PROTAS *et al.*, 2002).

#### 1.1.2 Vitivinicultura Catarinense

Em 1864, a vitivinicultura foi introduzida em Santa Catarina, sendo que o início do cultivo na principal região produtora no Estado, o Vale do Rio do Peixe, data do ano de 1913, ocorrendo uma intensificação a partir de 1930, notadamente pelos colonizadores de origem italiana que imigraram do Rio Grande do Sul (ROSIER & LOSSO, 1997).

Em Santa Catarina, a vitivinicultura apresenta expressão econômica principalmente na Região do Vale do Rio do Peixe (latitude 27°S, longitude 51°W e altitudes de 600 a 800m). Esta região apresenta como indicadores climáticos médios anuais: precipitação de 1800mm/ano, temperatura média de 17,1°C e umidade relativa do ar de 80%. (PROTAS *et al.*, 2002).

De acordo com o relatório elaborado pelo Centro Nacional de Pesquisas em Uva e Vinho da Embrapa, aproximadamente 50% da uva produzida em Santa Catarina destina-se à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados (ICEPA/SC, 2001).

Em 1995, Santa Catarina ocupava a segunda posição no cenário nacional de produção de vinhos, participando com 4,6% da produção nacional, com um volume de 16.138.863 de litros de vinho e mosto, sendo que a principal região produtora do Estado, o Vale do Rio do Peixe, é responsável por 90 % da produção (ROSIER & LOSSO, 1997), com destaque para os municípios de Videira (27,73%), Pinheiro Preto (14,32%) e Tangará (12,60% - CVE, 2002).

Com relação ao desempenho da vitivinicultura catarinense, cabe assinalar que na safra 2001, para uma área colhida de 3.479 ha, a produção obtida foi de 43.379 toneladas, alcançando um rendimento de 12.468 kg/ha (ICEPA/SC, 2001; MELLO, 2001), sendo que a produção de vinhos no Estado totalizou 16.434.917 litros. Dentre estes, 69,66% (11.448.749 litros) foram de vinhos elaborados a partir de variedades tintas, 30,27% (4.974.168 litros) de variedades brancas e 0,07% (12.000 litros) de variedade rosada (ICEPA/SC, 2001).

Segundo dados do Cadastro Vitícola do Vale do Rio do Peixe, o município de Videira apresentou uma produção de 6,2 milhões de quilos de uva na safra 2001, aproximadamente 530 toneladas a mais que o município de Tangará, que apresentou maior área plantada daquela frutífera. A uva Isabel é a principal variedade plantada em toda a região, gerando uma produção anual de 2,3 milhões de quilos de uva somente no município de Videira (BRASIL, 2001).

Além da variedade Isabel, predomina em SC o cultivo de espécies híbridas e outras variedades americanas, com destaque para a Niágara Branca e Rosada e a Bordô, sendo que aproximadamente 75% de sua produção destina-se à elaboração de vinhos de consumo corrente (BRASIL, 2001).

A variedade Isabel, ou Isabella, é uma híbrida espontânea da variedade Bailey, ou seja, uma *V. labrusca* x *V. vinifera* (SOUZA, 1996). É provavelmente originária da Carolina do Sul (Sudeste do Estados Unidos), onde foi multiplicada e difundida em 1816 pela princesa Isabella Gibbs, donde provém o seu nome. Sua introdução na Europa se deu em 1825, tendo sido observada uma grande difusão de seu cultivo durante o decênio 1850-1860 (CANGUSSÚ *et al.*, 1981). Esta variedade foi intensamente difundida no período da colonização italiana no sul do Brasil, devido às suas características agrônômicas, tais como resistência às moléstias e elevado vigor e produtividade. Outra razão para seu cultivo expressivo tem sido a grande procura no mercado estadual e nacional por sucos de uvas (CVE, 2002).

Uma segunda variedade labruscana com uso na elaboração de vinhos tintos é a Bordô, ou Ives. Esta variedade, originária dos EUA, foi trazida para o Brasil em 1872, onde foi cultivada pela primeira vez em São Paulo, sendo posteriormente introduzida em MG e RS. A Ives é originária da variedade de *Vitis labrusca* L., considerada um *seedling* acidental da variedade *Alexander*, com a qual muito se assemelha (SOUZA, 1996). É

produtora de vinho tinto e de suco, sendo também utilizada para o consumo *in natura* e, devido à natureza tintória de seu mosto, para cortes com outros vinhos.

A terceira, e a principal variedade americana para a elaboração de vinhos brancos produzidos em Santa Catarina, é a Niágara Branca. Esta variedade é resultante do cruzamento entre *Concord x Cassady*, labruscanas puras, realizado em 1868 por Hoag e Clark. Originária do Alabama (EUA), foi introduzida na viticultura paulistana em 1894, sendo que somente em 1910 esta variedade passou a ser reconhecida comercialmente (SOUZA, 1996).

Das variedades híbridas, destaca-se a Seyve Villard, também denominada Seyval. Resultante do cruzamento entre Seibel 5073 e Seibel 6905 (LESCEPAGES, 2002), esta cultivar é uma híbrida complexa altamente produtiva e que apresenta alto potencial de açúcar, normalmente atingindo mais de 20°Brix (NYAES, 2002).

Para o Estado, a viticultura é uma importante fonte de renda para agricultura familiar, na medida em que cerca de 1500 famílias de pequenos produtores rurais (propriedades com área média de até 15 hectares) têm na uva sua principal atividade, havendo cerca de 43 cantinas envolvidas no processamento da matéria-prima, produzindo vinhos comuns e finos, sucos e derivados. A vitivinicultura caracteriza-se por ser uma atividade de uso intensivo de mão-de-obra e que proporciona aos produtores e suas famílias uma qualidade de vida acima da média observada para outras atividades agrícolas. Esta atividade desempenha um papel fundamental na região, pois, além de se constituir numa fonte de renda importante para o produtor, emprega predominantemente mão-de-obra familiar, colaborando, assim, para a fixação do homem ao campo (LAPOLLI *et al*, 1995; ROSSIER & LOSSO, 1997).

A produção estadual é constituída principalmente de uvas de origem americana e híbrida, as quais são importantes fontes de renda, principalmente dentro de um sistema de diversificação de culturas nas pequenas propriedades. A utilização desses tipos de uvas é, em sua maior parte, para a elaboração de vinhos comuns, para consumo como uva de mesa e para elaboração de suco de uva (EPAGRI, 1998).

## 1.2 Referências Bibliográficas

ACADEMIA DO VINHO. Regiões vinícolas do Brasil. Disponível em: [www.academiadovinho.com.br/brasil/br\\_classvin.htm](http://www.academiadovinho.com.br/brasil/br_classvin.htm) . Acessado em set. 2003.

AGUIAR, FB. A Internacionalização do Mercado Vitivinícola. *In: Anais do IX Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia*, 1999.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Delegacia Federal da Agricultura do Estado de Santa Catarina. *Cadastro Vitivinícola do Alto Vale do Rio do Peixe*. Florianópolis, SC: DAS/EPAGRI, 2001. 31p.

CANGUSSÚ *et al.* *Cultivares de uva em Santa Catarina*. Boletim Técnico nº 12. EMPASC. Florianópolis, 1981.

EPAGRI. *Normas técnicas para o cultivo da videira em Santa Catarina*. Florianópolis: Epagri, 1998 50p.

ICEPA/SC - INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. *Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina. 2000-20001*. Florianópolis-SC. 248p. 2001.

CVE – Escola Agrotécnica Federal Presidente Juscelino Kubitschek. Disponível em: [www.tche.br/agrotecnica/](http://www.tche.br/agrotecnica/). Acessado em fev. 2002.

LAPOLLI, JN *et al.*. *A competitividade da vitivinicultura brasileira - análise setorial e programa de ação para o Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: BANRISUL-EMBRAPA-CNPUV/SEBRAE/RS, 1995. 200p.

LESCEPAGES. *Le Villard Noir*. Disponível em: <http://lescepages.free.fr/villardnoir.html>. Acessado em fev. 2002.

MARTINS, F. P. *Aspectos da viticultura brasileira*. Disponível em: <http://www.pism.ufjf.br/>. Acessado em out. 2002.

MAURO, J. *Vinho*. Disponível em: [www.viadelvino.com.br](http://www.viadelvino.com.br). Acessado em mar. 2001.

MELLO, LMR. Mercado brasileiro de uvas e vinhos. Embrapa/CNPUV, Bento Gonçalves, *Instrução Técnica* 001, julho 3p. 2000.

MELLO, LMR. Produção e Comercialização de Uvas e Vinhos - Panorama 2002. Artigos técnicos EMBRAPA. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/>. Acessado em: mar. 2002.

NYAES, 2002. *French-American and Other Interspecific Varieties*. Disponível em: <http://www.nysaes.cornell.edu/>. Acessado em fev. 2002.

PROTAS, JF, *et al.* *A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas*. Disponível em: [www.cnpuv.embrapa.br/vitivini.html](http://www.cnpuv.embrapa.br/vitivini.html). Acessado em abr. de 2002.

RIVOIRO, C. *Brinde à expansão: Produtores de vinho investem em novas variedades para estimular o consumo da bebida*. Disponível em: <http://www.revistadistribuicao.com.br/>. Acessado em nov. 2002.

ROSIER, JP & LOSSO, M. Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: Vitivinicultura. *EPAGRI, Boletim Técnico*, nº 83, Florianópolis/SC, 41p. 1997.

SOUZA, JI. *Uvas para o Brasil*. Piracicaba: FEALQ, 791p. 1996.

## CAPITULO II - METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VEGETAIS: ÊNFASE EM COMPOSTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS, TANINOS E *t*-RESVERATROL

### Resumo

Os polifenóis são os compostos antioxidantes de maior ocorrência em nossa dieta. As principais classes de polifenóis são os ácidos fenólicos simples (*i.e.* ácido caféico e gálico), taninos, estilbenos (*i.e.* *t*-resveratrol) e flavonóides (*i.e.* antocianinas). O vinho contém quantidades apreciáveis destes compostos, os quais apresentam efeitos benéficos a saúde humana. Neste estudo foi determinada, em vinhos Bordô, Isabel, Seyve Villard e Niágara Branca produzidos em Santa Catarina, a concentração destes compostos via espectrofotometria de UV-visível. As concentrações de fenóis totais nos vinhos catarinenses variaram de 243,2 a 21,69 mg/mL para as variedades Seyve Villard e Niágara Branca respectivamente. Para antocianinas, as concentrações variaram de 92,2 mg/L (Seyve Villard) a 1,37 mg/L (Niágara Branca). As concentrações de taninos condensados nos vinhos catarinenses variaram de 6,03 a 0,30 g/L para as variedades Bordô e Niágara Branca respectivamente. Para o estilbeno *t*-resveratrol, as concentrações variaram de 4,11 a 1,03 mg/L para as variedades Bordô e Niágara Branca respectivamente, sendo considerados satisfatórios e em alguns casos superiores aos valores encontrados na literatura para vinhos finos importados.

**Palavras-chave:** *Vitis labrusca*, vinhos, fenóis, antocianinas, taninos condensados, *trans*-resveratrol

### Abstract

Polyphenols are the most abundant antioxidants in our diets. The main classes of polyphenols are phenolic acids (mainly caffeic acid and gallic), anthocyanins, *t*-resveratrol and flavonoids (*i.e.* anthocyanins). Wine is known by the great concentration of these compounds which have shown beneficial effect for human health. This study determined the total phenol, anthocyanin, tannin and *t*-resveratrol contents in samples of wines Bordô, Isabel, Seyve Villard and Niágara Branca produced in Santa Catarina State by UV-visible spectrophotometry. The concentrations of phenols ranged from 243,2 mg/mL (Seyve Villard) to 21,69 mg/mL (Niágara Branca), as for anthocyanin the concentration ranged from 92,2 to 1,37 mg/L, for Seyve Villard and Niágara Branca, respectively. The concentrations of tannins ranged from 6,03 g/L (Bordô) to 0,30 g/L (Niágara Branca), as for *t*-resveratrol, the concentration ranged from 4,11 to 1,03 mg/L, for Bordô and Niágara respectively. These results were satisfactory and in some cases the concentrations found were superior as compared to some imported wines.

**Key words:** *Vitis labrusca*, wine, total phenol, anthocyanins, condensed tannins, *trans*-resveratrol

## 2.1 Introdução

Uma importante característica das plantas é sua capacidade de sintetizar uma grande diversidade de compostos com baixo peso molecular, denominados metabólitos secundários, dependendo se estes apresentam um papel essencial ou não no metabolismo vegetal (WINK, 1999; WALTON & BROWN, 1999; DE LUCA & ST PIERRE, 2000).

Aproximadamente 20 a 30% dos vegetais superiores têm sido investigados quanto aos seus constituintes do metabolismo secundário, permitindo a elucidação estrutural química de cerca de 50.000 compostos (DE LUCA & ST PIERRE, 2000), via espectrometria de massa ou ressonância magnética nuclear (DNP, 1996).

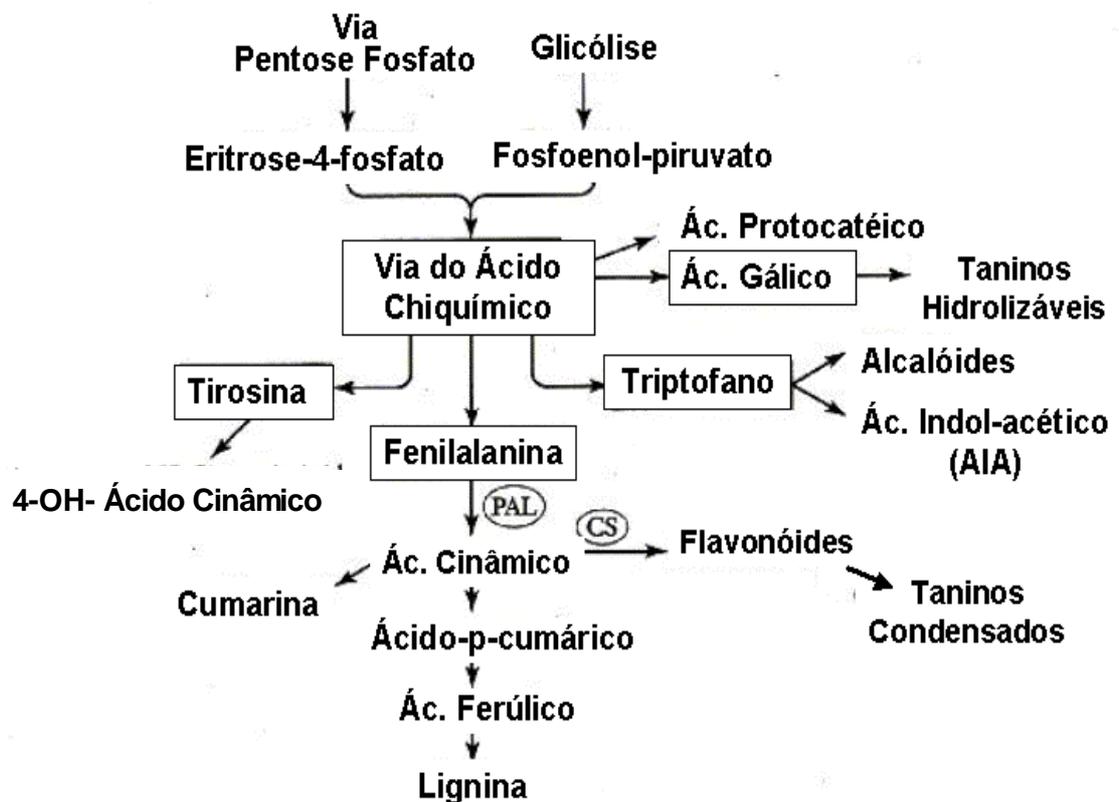
Os compostos do metabolismo secundário são substâncias que geralmente não fazem parte do metabolismo básico da planta e possuem características químicas muito variadas e, às vezes, bastante complexas (TAIZ & ZEIGER, 1998). Durante muito tempo, acreditou-se que os metabólitos secundários fossem produzidos sem uma função específica, simplesmente como produtos finais das reações e/ou erros do metabolismo. Essa visão tem mudado substancialmente, na medida em que descobertas sobre a função destes compostos, notadamente em relação aos processos de desenvolvimento vegetal, e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos têm sido alcançadas (ESABIO, 2002).

Recentemente, foi sugerido que os metabólitos secundários vegetais exercem importantes funções ecológicas e, dentre elas, a principal seria a proteção contra a herbivoria e a infecção por microrganismos patogênicos. Estes compostos também parecem servir como atrativo para polinizadores e animais dispersores de sementes (TAIZ & ZEIGER, 1998).

Através do metabolismo da glucose, são formados a maioria dos metabólitos primários e secundários. Este monossacarídeo é convertido a ácido pirúvico através da via glicolítica, podendo adentrar a duas vias subseqüentemente. No primeiro caso (glicólise), moléculas de piruvato são convertidas a ácido chiquímico (Figura 1), um intermediário na formação de diversos compostos secundários com núcleo(s) aromático(s), *i.e.*, alcalóides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, ligninas e lignanas, cumarinas e taninos hidrossolúveis.

De outra forma, numa segunda via, o piruvato é oxidado até a formação de acetil-coenzima A (acetil-CoA), a qual poderá adentrar ao ciclo dos ácidos tricarboxílicos, à via

do mevalonato, ou à via de condensação do acetato, formando os chamados derivados do acetato (poliacetatos). Através do ciclo dos ácidos tricarbóxicos serão formados os alcalóides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos, enquanto a via do mevalonato origina os terpenóides e os esteróis. Por sua vez, da condensação do acetato resulta a formação das acetogeninas. A combinação de uma unidade do ácido chiquímico e uma ou mais unidades do acetato ou derivados destes poderá resultar na produção de antraquinonas, flavonóides e dos taninos condensados, conforme demonstrado na figura 1 (VICKERY & VICKERY, 1981).



**Figura 1. Via do ácido chiquímico, principal rota metabólica de síntese de compostos fenólicos, onde PAL – fenilalanina amônia liase e CS-chalcona sintase. Adaptado de Vickery & Vickery (1981).**

Os compostos secundários vegetais são geralmente classificados de acordo com sua origem biossintética (HORBORNE, 1999), havendo três principais classes de metabólitos com base neste contexto, a saber: os compostos fenólicos, os terpenos e esteróides, e os alcalóides. Como exemplo de uma classe bastante estudada, temos os compostos fenólicos.

Estas moléculas estão envolvidas na síntese de lignina e são comuns a todos os vegetais superiores (BOURGAUD *et al.*, 2001), como por exemplo, a videira (*Vitis* sp).

Na videira, os compostos fenólicos encontram-se em maior concentração na película e mosto da uva, estando estes presentes nos derivados desta fruta, *e.g.* suco e vinho. O vinho contém mais de 500 compostos, alguns provenientes da uva e outros resultantes da ação das leveduras durante o processo de fermentação do mosto. A maioria destes compostos ocorre em baixas concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ), sendo menos freqüente observarem-se concentrações acima de 100mg/l (WIEL *et al.*, 2001).

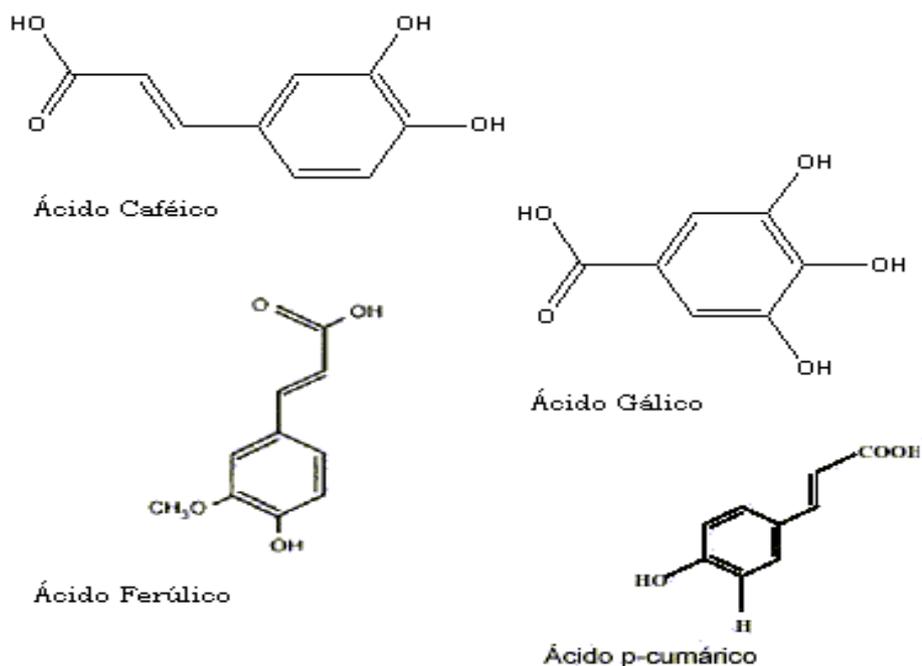
Muitos dos compostos presentes na uva e no vinho são resultantes das vias do metabolismo secundário da videira, sendo os compostos fenólicos (ácidos fenólicos simples), antocianinas, taninos e os estilbenos (*trans*-resveratrol, *e.g.*) aqueles que maior interesse farmacológico tem despertado (WIEL *et al.*, 2001).

A fim de proporcionar maior entendimento a respeito da presença e concentração de determinados metabólitos secundários em vinhos, este trabalho utilizou métodos analíticos qualitativos e quantitativos na determinação de metabólitos secundários, sendo eles os compostos fenólicos, antocianinas, taninos e *t*-resveratrol. Como matrizes orgânicas objeto de análise foram estudados os vinhos catarinenses elaborados a partir das variedades de uvas Bordô, Isabel, Niágara Branca e Seyve Villard.

### 2.1.1 Compostos Fenólicos (ácidos polifenólicos simples)

Uma série de compostos químicos vêm sendo estudados no que se refere aos efeitos sobre a qualidade do vinho, sendo os principais os compostos fenólicos. Tais compostos constituem, provavelmente, o maior grupo de metabólitos secundários das plantas (BRUNETON, 1993).

Sob a denominação de ácidos fenólicos (Figura 2), são englobadas diversas substâncias com características estruturais químicas heterogêneas (POLENTA, 1996), apresentando como característica em comum a existência de anel (éis) aromático(s) com um ou mais grupos hidroxilas (OH), podendo estes apresentarem substituições por grupamentos metil ou glu(i)cosil (WALTON & BROWN, 1999). Estes compostos podem ser divididos em grupos de acordo com o número de átomos de carbono constituintes (GOODWIN & MERCER, 1990).



**Figura 2. Detalhes da estrutura química dos principais ácidos fenólicos encontrados nos vinhos, onde o grupo hidroxila (OH) é responsável pelas características antioxidantes dos compostos.**

Os ácidos fenólicos encontram-se em maior concentração nos tecidos da polpa da uva (80-85%), sendo que a concentração destes compostos diminuem com o amadurecimento do fruto, havendo variações consideráveis entre a proporção desses compostos entre cultivares (LEE & JAWORSKI, 1989).

No vinho, encontramos teores consideráveis de compostos fenólicos por estes serem liberados com o esmagamento dos grãos da uva durante o processo de vinificação (MACHEIX *et al.*, 1991; JACKSON, 1994; FERNANDEZ, 2002), e a concentração destes compostos é influenciada pela condição de crescimento da planta, como clima, manejo e genética da videira (FERNANDEZ, 2002).

Este grupo de compostos naturais, presentes em quantidades significativas na dieta humana, os quais apresentam atividades antioxidantes e pró-oxidantes, sendo os principais representantes desta classe os derivados dos ácidos benzóico e cinâmico (GOUPY *et al.*, 1991). Tais compostos estão envolvidos em várias reações metabólicas e são naturalmente encontradas em diversos produtos alimentares derivados de plantas (BRENES-BALBUENA *et al.*, 1992).

Na uva, a concentração dos compostos fenólicos é influenciada pela condição de crescimento destas, como clima, manejo e genética da planta (FERNANDEZ, 2002). Estes compostos encontram-se em maior concentração nos tecidos da polpa da uva (80-85%), sendo liberados com o esmagamento dos grãos durante o processo de vinificação (FERNANDEZ, 2002).

As condições climáticas durante o período de crescimento e maturação dos frutos, além do fator casta (JORDÃO, 1997; GOLDBERG *et al.*, 1998), são de importância no que concerne à biossíntese de compostos fenólicos nas videiras (ROGGERO *et al.*, 1986; VENENCIE *et al.*, 1997). Em função disto, altos índices de precipitação pluviométrica e alta umidade relativa do ar, acompanhados por baixa insolação, são condições positivas para a ocorrência de doenças fúngicas, atuando como estímulo na síntese de compostos fenólicos.

Outro fator abiótico de interesse é a incidência de luz ultravioleta sobre os tecidos de frutos, a qual estimula a produção destes metabólitos devido à ativação dos genes responsáveis pela sua rota de síntese, ou seja, genes que ativam a via dos fenilpropanóides (SCHULTZ, 2002).

Do ponto de vista enológico, ao longo do processo de envelhecimento dos vinhos, ocorrem modificações na quantidade total destes compostos. Estes compostos são os principais substratos do oxigênio nesta bebida, sendo o conteúdo total destas substâncias uma medida da captação de oxigênio e da habilidade do vinho em resistir à oxidação (POLENTA, 1996).

Outro aspecto dos compostos fenólicos é que estes são de grande importância nas ciências aplicadas. De fato, são amplamente utilizados como aditivos antioxidantes em alimentos (SILVA *et al.*, 2001) e, mais recentemente, têm despertado a atenção de pesquisadores na área médica, pois alguns destes compostos apresentam atividades anti-inflamatórias e efeitos anti-mutagênicos, e até mesmo atividade anti-tumoral em diferentes linhagens de células cancerígenas (GAO *et al.*, 2000; INOUE *et al.*, 2000; ROY *et al.*, 2000). Além disso, diversos ésteres fenólicos (*e.g.* ésteres do ácido tartárico) estão sendo usados como medicamentos na prevenção de doenças cardiovasculares (ESTERBAUER *et al.*, 1992).

Atualmente, encontramos na literatura inúmeros estudos relacionados aos antioxidantes alimentares, tais como vitamina C e E, contudo um menor volume de estudos a respeito dos compostos fenólicos derivados de plantas com atividades antioxidantes,

como os flavonóides e ácidos fenólicos, é observado (BAKALBASSIS *et al.*, 2001; RAJAN *et al.*, 2001).

Nos vinhos, os principais compostos fenólicos são os ácidos cafeico e gálico, a catequina, a epicatequina, a cianidina, a malvidina-3-glicosídeo, a rutina, a mircetina, a quercetina e o resveratrol (FRANKEL *et al.*, 1995; SIMONETTI *et al.*, 1997; GHISELLI *et al.*, 1998).

Estes compostos, tanto na uva como em outros vegetais, apresentam atividade antimicrobiana, desempenhando papel essencial na proteção e/ou resposta a infecções causados por patógenos (WALKER, 1994). De fato, estudos sobre a atividade antimicrobiana dos ácidos cafeico, clorogênico, ferúlico e *p*-cumárico revelam efeitos que variam da inibição do crescimento à atividade germicida em vegetais superiores (BARBER *et al.*, 2000; RAUHA *et al.*, 2000).

A relação entre as estruturas dos ácidos fenólicos e sua atividade antioxidante já está estabelecida. A capacidade antioxidante dos ácidos fenólicos e dos seus ésteres depende do número de grupos hidroxila presentes na molécula. Descobriu-se que derivados do ácido cinâmico são mais ativos como antioxidantes comparativamente aos derivados do ácido benzóico e isto se deve ao fato de que o primeiro composto apresenta maior quantidade de grupos hidroxilas (OH) em relação ao segundo. A introdução de um segundo grupo hidroxila na posição *orto* ou *para* também aumenta a atividade antioxidante destes compostos (CURVELIER *et al.*, 1992; BARROS, 2002).

Para a vitivinicultura, estas moléculas apresentam importante função em algumas propriedades sensoriais de uvas e vinhos, como adstringência e coloração (REVILLA & RYAN, 2000). Estas substâncias possuem uma grande importância na enologia, proporcionando aos vinhos a sua cor e em grande parte seu sabor, sendo também marcadores químicos da evolução da bebida. Uma das principais características que estes compostos proporcionam está na diferença de sabor entre o vinho tinto e o vinho branco (PEYNAUD, 1984).

### 2.1.2 Antocianinas

Os flavonóides existem naturalmente em vários alimentos de origem vegetal, sendo constituintes da dieta humana (HERTOG *et al.*, 1993). Esta classe de compostos apresenta,

em diversos casos, a função de proteger a planta contra os danos causados por agentes abióticos como os raios ultra-violeta (TAIZ & ZEIGER, 1998).

Dentre os pigmentos flavonoídicos vegetais, as antocianinas têm despertado o maior interesse. Estes compostos conferem cor vermelha, rosa, púrpura e azul a diversos tecidos de plantas, sendo que sua ocorrência em tecidos de flores e frutos é de significativa importância ecológica, porque atrai animais polinizadores e que realizam também a dispersão de sementes (TAIZ & ZEIGER, 1998). Além disto, as antocianinas desempenham importante papel no que se refere ao sabor e à coloração dos alimentos, sendo que sua utilização como corantes alimentares naturais se deve à estabilidade destes compostos, especialmente sob as condições de pH de algumas bebidas (MADHAVI, *et al.*, 1996).

As antocianinas são compostos resultantes das vias do ácido chiquímico e do malonato (Figura 1), as quais têm como precursores a fenilalanina e três unidades de acetato, respectivamente. Nos diversos tecidos vegetais, as antocianinas podem ocorrer sob a forma de antocianinas simples ou oligômeros, com níveis de polimerização e de peso molecular variáveis (TAIZ & ZEIGER, 1998).

Antocianidinas e antocianinas são os pigmentos responsáveis pela coloração vermelha nos vinhos tintos jovens, onde seu conteúdo varia de 200 a 500mg/l e cuja diversidade química é função da(s) variedade(s) de uva utilizada(s). Assim, o monoglicosídeo de malvidol é o principal pigmento em *Vitis vinifera*, enquanto o diglicosídeo de malvidol é específico de certas variedades americanas e híbridas. Adicionalmente, o perfil de constituintes antociânicos nos frutos da videira apresenta variações durante sua fase de maturação, as quais são, predominantemente determinadas pelas condições ambientais, *i.e.*, intensidade luminosa e temperatura (ROGGERO *et al.*, 1986)

Os teores de antocianinas presentes nos vinhos tintos diferem daqueles presentes nas uvas, pois o vinho tinto contém uma quantidade relativa de malvidina-3-*O*-glicosídeo superior às uvas. Todavia, a quantidade relativa de outras antocianinas em vinhos é usualmente menor do que nas uvas. (REVILLA *et al.*, 2001). Os vinhos jovens possuem quantidades elevadas de compostos antociânicos, havendo redução dos teores destes compostos com o passar do tempo. De fato, tem sido comprovado que no transcurso do envelhecimento dos vinhos, as antocianinas são deglicosiladas, de modo que a

concentração de antocianidinas tende a aumentar durante aquele processo (PEYNAUD, 1984; VIVAR-QUINTANA *et al.*, 2002).

Num contexto farmacológico, as antocianinas são de significativa importância como agentes antioxidantes, captadores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da peroxidação de lipídios. Estudos epidemiológicos mostraram um decréscimo da mortalidade devido a doenças coronárias em diversas populações humanas que consomem em sua dieta alimentos contendo flavonóides, tais como o vinho tinto, a cebola, o chá preto e a maçã vermelha. Isto é explicado, em parte, pela inibição da oxidação da fração LDL do colesterol e pela redução da agregação plaquetária determinada pela ação dos flavonóides (COOK & SAMMAN, 1996).

A cor do vinho é fortemente influenciada pela composição da uva e pelas práticas enológicas, tais como técnicas de preparação do vinho, temperatura e tempo de armazenamento (DALLAS & LAUREANO, 1994; GOMEZ-PLAZA *et al.*, 2000) e o contato com oxigênio (PONTALLIER & RIBEREAU-GAYON, 1983). Durante a conservação e o envelhecimento de vinhos tintos, a concentração de antocianinas presentes naquela bebida diminui, em função da ocorrência de reações com outros compostos fenólicos, particularmente os flavonóis (JURD, 1969; SOMERS & VERETTE, 1988). Este fenômeno é responsável pela mudança da cor vermelho-vivo em vinhos novos para a cor vermelho-atijolado em vinhos envelhecidos, assim como na diminuição da adstringência do vinho observada durante o envelhecimento (HASLAM, 1980). Em valores de pH do vinho, as antocianinas encontram-se de duas formas, ambas em equilíbrio, a saber, o cátion flavilium ( $A^+$ ), conferindo cor vermelha àquela bebida, e a forma hemicetal hidroxilada (AOH) que não apresenta cromóforo e é predominante (BROUILLARD *et al.*, 1982).

Gaulejac *et al.* (1999a, b), em pesquisas realizadas com o intuito de comprovar a atividade antioxidante das antocianinas presentes nos vinhos, mostraram que estes compostos na forma livre apresentaram-se como a fração mais potente dos polifenóis encontrados naquela bebida, no que se refere à sua capacidade de combater os radicais livres. No entanto, os autores não descartaram o fato de que estas moléculas apresentam interações com outros polifenóis encontrados no vinho, resultando na potencialização do efeito benéfico de combate aos radicais livres. Estes trabalhos demonstram a importância das antocianinas em vinhos tintos para as propriedades terapêuticas e profiláticas atribuídas aos vinhos e correlacionadas ao “Paradoxo Francês”, contradição que se refere à alimentação rica em colesterol e à baixa incidência de doenças coronárias nos franceses,

sendo esta conferida aos atributos profiláticos dos vinhos, os quais são consumidos regularmente por este povo.

### 2.1.3 Taninos Condensados

Os taninos compreendem um grupo de substâncias que são amplamente distribuídas no reino vegetal (ZUCKER, 1983; ROBBERS *et al.*, 1996).

Segundo Mole & Waterman (1987), os taninos são compostos fenólicos de ocorrência natural, solúveis em água, e que podem precipitar proteínas em uma solução aquosa. Estes polímeros fenólicos, similarmente à lignina, possuem propriedades de defesa dos tecidos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 1998), podendo formar complexos estáveis com proteínas e outras macromoléculas, tornando-se indigestíveis (FERREIRA, 1994).

As propriedades de defesa que os taninos conferem às plantas são geralmente atribuídas à sua habilidade de ligarem-se às proteínas, atuando como repelentes de herbívoros, inativando as enzimas digestivas e criando um complexo agregado de taninos e proteínas vegetais de difícil digestão. Nos humanos, os taninos causam uma sensação de adstringência no epitélio bucal, como resultado da ligação dos taninos com as proteínas da saliva (TAIZ & ZEIGER, 1998), diminuem a lubrificação do trato digestivo e conseqüentemente a ingestão voluntária (FENNEMA, 1993), diminuem a permeabilidade da parede intestinal e inibem a proliferação de microrganismos digestivos (FERREIRA, 1994).

A um certo grau, muitos organismos são sensíveis ao efeito inibitório dos taninos, mas alguns podem tolerar altas concentrações e, até mesmo, utilizar o carbono dos taninos para o seu crescimento. O grau de inibição dependerá dos tipos de taninos e microrganismos envolvidos, sendo que os taninos condensados têm maior efeito inibitório sobre a atividade das enzimas e microrganismos do que os hidrolizáveis e fenóis de baixo peso molecular (McLEOD, 1974).

Os taninos apresentam peso molecular entre 500 a 3000 e contêm um grande número de grupos fenóis, com hidroxilas capazes de formar ligações cruzadas com proteínas e outras moléculas. São normalmente divididos em duas classes, a saber: taninos condensados ou proantocianidinas e hidrolizáveis (HAHN *et al.*, 1984), sendo o grau de polimerização que irá determinar a adstringência destes compostos (FERREIRA, 1994).

Os taninos condensados localizam-se nas sementes e no engaço dos frutos, tendo como precursores as leucoantocianinas, e são extraídos durante o processo de vinificação (PRIEUR *et al.*, 1994; SOUQUET *et al.*, 1996). Na película, os taninos condensados encontrados são procianidinas e prodelfinidinas e nas sementes as procianidinas. As unidades monoméricas são ligadas através de C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> ou via C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> e esterificadas, às vezes, pelo ácido gálico em C<sub>3</sub> (CHEYNIER *et al.*, 1998). Em média, a concentração de taninos condensados encontrados nos vinhos tintos varia entre 1 e 3 g/L e praticamente estão ausentes nos vinhos brancos (GUTIERREZ, 2003).

Os taninos hidrolizáveis, por sua vez, não ocorrem nos tecidos dos frutos, sendo então adicionados ao vinho ou provenientes da madeira dos tonéis de armazenamento. Os taninos hidrolizáveis apresentam menor efeito negativo sobre a digestão das proteínas do que os condensados, uma vez que podem ser hidrolizados pelo suco gástrico, liberando a cadeia peptídica (FERREIRA, 1994).

Para o vitivicultor, a adsorção do tanino à proteína assume uma grande importância, pois é através desta reação que a adstringência e o sabor do vinho são percebidos, de modo que as dosagens de taninos nos vinhos fornecem uma idéia mais consistente da adstringência daquela bebida (WATERMAN, 2002).

Durante o envelhecimento do vinho, as reações bioquímicas (processos enzimáticos), físicas e químicas, levam a uma modificação no conteúdo dos compostos, na coloração do vinho, da adstringência e da estabilidade. Diversos mecanismos descrevem as reações da condensação antocianina-taninos produzindo compostos polifenólicos complexos novos (JURD, 1969; LIAO *et al.*, 1992; SOMERS & VERETTE, 1988; TIMBERLAKE & BRINDLE, 1976). Este comportamento coloidal dos taninos é de grande importância para a enologia e necessita de maiores estudos, pois poderá elucidar algumas propriedades dos taninos observadas durante a clarificação, estabilização e envelhecimento do vinho como, por exemplo, a capacidade dos taninos de formar precipitados e sua interação com as proteínas (CHEYNIER *et al.*, 1998)

A relevância da presença destes compostos na uva e posteriormente no vinho baseia-se no fato de que estes afetam as características gustativas dos vinhos, assim como a cor e o sabor destes, devido à sua associação com as antocianinas (PRIEUR *et al.* 1994; DE FREITAS, 1995; DALLAS *et al.*, 1996 a, b). Além destas relevantes questões, Haslam (1989) observa o efeito que a concentração e a estrutura dos taninos causam sobre o sabor e a percepção visual dos vinhos.

No que se refere as propriedades farmacológicas, os taninos apresentam atividade antioxidante (HASLAM, 1989), anti-tumoral (DUARTE, 1999) e reduzem a incidência de doenças coronárias (CARANDO & TEISSEDRE, 1999).

Os métodos de quantificação de taninos em vinhos têm sido pouco explorados, sendo usualmente trabalhosos e de alto custo condição esta, limitante à análise destes compostos de forma rotineira pelas vinícolas.

Em função do exposto, este trabalho analisa a concentração de compostos tânicos em amostras de vinhos utilizando um método mais simples e menos oneroso para a quantificação destes compostos. Esta abordagem experimental poderá viabilizar análises rotineiras nas vinícolas, agregando tecnologia e contribuindo para o aumento da qualidade do produto final.

#### 2.1.4 *trans*-Resveratrol

Os estilbenos derivam do metabolismo de fenilpropanóides, tendo no isômero *trans* do resveratrol (3, 4', 5-trihidroxiestilbeno) um composto de importância ecológica e farmacológica significativa. O resveratrol é um polifenol encontrado em maiores concentrações em uvas tintas, vinho tinto, amendoins e pinus (LANGCAKE & PRYCE, 1976; ROGGERO & GARCIA-PARRILLA, 1995; ECTOR *et al.*, 1996; MILLER & RICE-EVANS, 1998).

Este polifenol pertence à família das viniferinas, as quais têm a habilidade de inibir o progresso de ataques fúngicos (WIEL *et al.*, 2001). De fato, *trans*-resveratrol é um composto presente em tecidos vegetais com a função de proteger a planta contra ataque de patógenos, por exemplo, sendo considerado, portanto, uma fitoalexina. As fitoalexinas formam um grupo de metabólitos secundários não constitutivos, caracterizados por sua atividade antimicrobiana, estrutura química variável, sendo sintetizados rapidamente após o ataque microbiano e, usualmente, acumulando-se na região onde ocorre a colonização/infecção patogênica (HAIN *et al.*, 1990; CHUNG *et al.*, 1992; SOLEAS *et al.*, 1997; TAIZ & ZEIGER, 1998).

Este composto sintetizado pela videira tem sua maior concentração na película da uva sendo liberado durante o processo de maceração e fermentação (GOLDBERG, 1995), e cuja amplitude de concentração nos vinhos é significativa podendo variar de 0,2 a 32 mg/l (FRÉMONT, 2000; SGAMBATO *et al.* 2001).

O *t*-resveratrol em vinhos confere um efeito antioxidante àquela bebida, corroborando para a prevenção de problemas cardiovasculares (REANUD & DE LORGERIL, 1992; GAZIANO *et al*, 1993). De fato, este estilbeno tornou-se um composto de interesse devido ao seu efeito modulador do metabolismo dos lipídios e por inibir a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a agregação das plaquetas, fenômenos estes diretamente relacionados com a formação das placas de ateroma. Como fitoestrógeno, o resveratrol apresenta proteção ao sistema cardiovascular, ação anti-inflamatória e anti-cancerígena (FRANKEL *et al*, 1993; PACE-ASCIAC *et al*, 1995; BERTELLI *et al*, 1995; FRÉMONT, 2000).

Enquanto os mecanismos subjacentes dos efeitos cardioprotetores devido ao consumo de vinho tinto permanecem não esclarecidos, recentemente um grande número de estudos vêm atribuindo ao vinho efeitos preventivos relacionados às doenças coronárias, devido à presença de compostos antioxidantes, que são encontrados em quantidades mais elevadas no vinho tinto em comparação à cerveja, ou ao vinho branco (FRANKEL *et al*, 1993; HAYEK *et al*, 1997; RAY *et al*, 1999; VINSON *et al.*, 2001). Esta importância se deve ao fato de que este composto fenólico apresenta uma maior potencialidade em suas propriedades antioxidantes se comparado ao tocoferol (MURCIA & MARTINEZ-TOME, 2001). Além disto, este estilbeno é um potente inibidor da ação de indutores tumorais (YANG *et al*, 2000; NIELSEN *et al.*, 2000) e também se mostrou eficaz na inibição do crescimento das células tronco (SCHNEIDER *et al*, 2000), de células leucêmicas (DORRIE *et al*, 2001; GAUTAM *et al*, 2000) e células cancerosas de próstata e mama (MGBONYEBI *et al.*, 1998; LU & SERRERO 1999; MITCHELL *et al.*, 1999; HSIEH & WU, 1999; KAMPA *et al*, 2000).

A produção de *trans*-resveratrol por uvas está correlacionada com a resistência das videiras às doenças criptogâmicas (LAGNGCAKE, 1981; BARLASS *et al.*, 1987; DERCKES & CREASY, 1989; JEANDET *et al.*, 1992; KORHAMMER *et al.*, 1995), sendo este polifenol considerado um marcador bioquímico para a resistência a *Botrytis cinerea* (JEANDET *et al.*, 1992).

Outro estudo que demonstra a biossíntese de resveratrol em resposta ao ataque fúngico (*Botrytis cinerea*) discute que esta infestação não deve ultrapassar a 10%, pois condições severas de infestação fazem com que este estilbeno seja degradado pelo metabolismo fúngico, principalmente por via enzimática, *i.e.*, lacase (SBAGHI *et al.*, 1996).

Entretanto, os vinhos feitos a partir de uvas com algum grau de infestação por *B. cinerea*, usualmente possuem concentrações superiores de resveratrol (JEANDET *et al.*, 1991). Contudo, sua biossíntese pode ser induzida nos tecidos vegetais por fatores abióticos de natureza química, ou seja, aplicação de herbicidas e fungicidas como ratifica Macheix *et al.* (1990) e também por fatores físicos, como a exposição à radiação ultravioleta (POOL *et al.*, 1981; BLAICH *et al.*, 1982; JEANDET *et al.*, 1991).

## 2.2 Material & Métodos

*Região de coleta de amostras:* Com o intuito de restringir a origem da matéria-prima (uva) utilizada na elaboração dos vinhos ao Estado de Santa Catarina, as amostras deste produto foram coletadas diretamente nos sistemas produtivos da região tradicionalmente produtora, a saber: Vale do Rio do Peixe (Videira, Tangará e Pinheiro Preto - SC). Por solicitação dos fornecedores das amostras, os nomes dos produtos comerciais foram mantidos em sigilo, sendo que a manipulação destes materiais foi feita através de sua codificação.

*Variedades e safras:* Os estudos consideraram a análise dos compostos de interesse a partir de amostras de vinhos de variedades americanas (*Isabel*, *Bordô* e *Niágara Branca*) e híbrida (*Seyve Villard*) das safras 2000, 2001 e 2002. A safra utilizada como referência para todas as variedades foi a de 2002, por esta ser considerada pelos enólogos àquela que apresentou as melhores características organolépticas.

*Dosagem de compostos fenólicos totais:* A determinação do conteúdo de fenóis totais nas amostras em estudo foi realizada utilizando-se o reativo de Folin-Ciocalteu. A saber, a 1mL de amostra de vinho foram adicionados 5mL de etanol a 95%. Desta solução, retirou-se 1mL e adicionou-se 1mL de etanol a 95%, 5mL de água destilada e 0,5mL do reativo Folin-Ciocalteu. A solução foi homogeneizada em agitador (Vortex) e permaneceu em repouso por 5 minutos. Subseqüentemente, adicionou-se 1mL de carbonato de sódio (5 %, p/v), seguido de nova agitação e repouso por 60 minutos. A absorbância da solução foi lida em espectrofotômetro Shimadzu UV 1203, no comprimento de onda 725nm. A curva de calibração foi preparada utilizando-se ácido gálico (0 a 100ug/0,1mL).

*Extração e isolamento das antocianinas:* A 300 mL de cada amostra foi adicionado igual volume de acetato de etila (EtOAc), incubando-se a mistura por 24h no escuro em temperatura ambiente. A fase orgânica foi coletada em funil de separação e o EtOAc removido por evaporação sob vácuo (55-60°C). O resíduo foi dissolvido em metanol/clorofórmio 1:1 (10 mL), centrifugado (2.8 Krpm/10 min) e *flash*-cromatografado em suporte de sílica gel (20 mL), como previamente descrito (MARASCHIN *et al.*, 2001). A fração (60 mL) eluída com metanol acidificado (MeOH-HCl 1%) foi coletada e concentrada (3mL) para posterior análise dos compostos de interesse.

*Análise quantitativa dos compostos antociânicos:* As frações MeOH-HCl 1% de cada amostra, purificadas por meio de *flash*-cromatografia, foram filtradas em funil de vidro sinterizado e submetidos à análise quantitativa dos compostos antociânicos. O conteúdo de antocianinas foi determinado a partir da leitura da absorbância das soluções amostrais a 525 nm, conforme descrito por Madhavi *et al.*, (1996). A concentração de antocianinas foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de  $3,01 \times 10^4$ , sugerido por Callebaut & Hendricks (1990).

*Análise quantitativa de taninos condensados (proantocianidinas):* A dosagem de proantocianidinas utilizou o método descrito por Valdés *et al.* (2000). O método utilizado consta de duas etapas, sendo a primeira relativa à quantificação de compostos fenólicos totais e a segunda etapa a de quantificação dos compostos fenólicos residuais, após a adsorção dos taninos pela gelatina. Este processo de extração foi baseado nas propriedades dos taninos de precipitarem proteínas como no caso da gelatina aqui utilizada. Para efeitos de obtenção da curva-padrão, foi utilizado o ácido tânico (4 – 16mg/L), sendo as etapas constituintes do método descritas em detalhe a seguir:

- *Etapa A:* para amostra A, foram utilizados 2mL de extrato sendo estes diluídos em 10,5 mL de água destilada. Desta solução diluída foram retirados 2,5mL e acrescidos 2mL de água destilada. Nesta solução, foi adicionado 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Logo após, adicionou-se 0,5 mL de carbonato de sódio (20%), agitou-se o meio de reação, completando-se o volume com água destilada até a medida de 125mL, seguido de homogeneização. Para a amostra em branco, foram utilizados 2,5 mL de água destilada-deionizada, acrescida de 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Logo após, foi adicionado 0,5 mL de carbonato de sódio (20%), agitando-se o meio de reação, completou-se o volume com água destilada-deionizada até a medida de 125mL, seguido de homogeneização.

- *Etapa B:* foram coletados 10 mL de amostra de vinho a qual se adicionaram 40 mL de água destilada-deionizada. Nesta solução, 25 mL de solução de gelatina a 25% foram adicionadas. Após a diluição da gelatina, 50 mL de solução saturada de cloreto de sódio acidificado (1%) e 5g de caolin foram adicionados. A solução foi tapada e agitada por 30 minutos (2500 rpm) e, após este período, foi filtrada a solução. Do filtrado foram retirados 5 mL e acrescentados 20 mL de água destilada-deionizada. Da diluição, foram retirados 2,5mL, seguido da adição de 2 mL de água destilada-deionizada. Nesta solução,

foi adicionado 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, agitando-se o meio de reação e deixado repousar por 5 minutos. Logo após, foi adicionado 0,5 mL de carbonato de sódio (20%), seguido de agitação e da adição de água destilada-deionizada até a medida de 125mL, seguido de homogeneização. Para a amostra em branco, foram utilizados 50mL de água destilada-deionizada, adicionados de 25 mL de solução de gelatina (25%), 50 mL de solução saturada de cloreto de sódio acidificado (1%) e 5g de caolin. Posteriormente, o meio de reação foi centrifugado (30 minutos, 2500 rpm) e, após este período, filtrou-se a solução e coletou-se 5 mL do filtrado, ao qual foram acrescentados 20 mL de água destilada. Ao término do processo da etapa A e etapa B, foi lido a absorbância destas soluções a 700 nm, depois de transcorridos 2 minutos.

*Extração e isolamento dos compostos fenólicos:* A 300 mL de cada amostra foi adicionado igual volume de acetato de etila (EtOAc), incubando-se a mistura por 24h no escuro em temperatura ambiente. A fase orgânica foi coletada em funil de separação e o EtOAc removido por evaporação sob vácuo (55-60°C). O resíduo foi dissolvido em metanol/clorofórmio 1:1 (10 mL), centrifugado (2.8 Krpm/10 min) e *flash*-cromatografado em suporte de sílica gel (20 mL), como previamente descrito (MARASCHIN *et al.*, 2001). Da fração eluída com EtOAc (60 mL), foram retirados 3mL para posterior determinação da concentração deste polifenol em espectrofotômetro UV-Visível.

*Dosagem de trans-resveratrol por espectrofotometria de UV-visível:* A concentração de *t*-resveratrol das amostras foi obtida a partir da medida de absorbância a 306 nm das frações EtOAc *flash*-cromatografadas, em espectrofotômetro Shimadzu UV 1203. A concentração deste estilbeno foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de  $2,68 \times 10^4 \text{ M} \cdot \text{cm}^{-1}$  (MARASCHIN *et al.*, 2001).

*Análise estatística dos resultados:* Para efeitos estatísticos, três garrafas de cada safra por variedade foram utilizadas em um sistema de leitura seqüencial, sendo a concentração final do composto de interesse o valor médio obtido para cada amostra. A análise comparativa das médias dos valores de concentração foi realizada com o auxílio de programa de análise estatística (*Statgraf, versão 5.0*) realizando-se o teste LSD com significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 2.3 Resultados & Discussão

### 2.3.1 Compostos Fenólicos

A ocorrência de compostos fenólicos em vinhos é de grande importância porque tais metabólitos apresentam atividade antioxidante, um aspecto de interesse à saúde humana. Os principais compostos que apresentam esta propriedade são os ácidos fenólicos simples, tais como os ácidos cinâmico e gálico, os estilbenos e os flavonóides (LEIGHTON *et al.*, 1997).

Enologicamente, o perfil de composição fenólica da uva constitui-se em fator determinante de características qualitativas de vinhos, podendo ser utilizado como um parâmetro de monitoramento de processo de produção, ou ainda em estudos de controle de qualidade daquela bebida (RIBEREAU-GAYON & PEINAD, 1971).

#### Variedade BORDÔ

A análise dos dados de conteúdo destes compostos secundários para as safras 2000, 2001 e 2002 para a variedade Bordô apresentou um valor médio de 171,82 mg/mL em equivalentes de ácido gálico, com uma amplitude de distribuição dos valores de 116,87 mg/mL (safra 2000) a 214,72 mg/mL (safra 2002), como mostra a Tabela 5.

**Tabela 5. Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

Variedade/Safra	Concentração (mg/mL)
Bordô 2000	116,86 c
Bordô 2001	183,86 b
Bordô 2002	214,72 a
<i>Média Geral</i>	171,82
<i>Desvio Padrão</i>	50,03
<i>Coefficiente de Variação</i>	29,12

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra, sendo que as safras 2002 e 2001 apresentaram-se superiores em 1.25 e 1.07 ordem de magnitude em relação à média geral, respectivamente. Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos antociânicos, as amostras de vinho Bordô, safra 2002, foi superior em 1.17 ordem de magnitude em relação à safra 2001 e 1.84 ordem de magnitude em relação à safra 2000.

## Variedade ISABEL

Para a variedade Isabel, a análise dos dados de fenóis totais para as safras 2000, 2001 e 2002 apresentou um valor médio de 219,27 mg/mL, com uma distribuição dos valores de amplitude que variou de 196,28 mg/mL (safra 2000) a 233,13 mg/mL (safra 2002), como mostra a Tabela 6.

**Tabela 6. Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/mL)</b>
Isabel 2000	196,28 c
Isabel 2001	228,41 b
Isabel 2002	233,13 a
<i>Média Geral</i>	219,27
<i>Desvio Padrão</i>	20,00
<i>Coefficiente de Variação</i>	9,12

A análise estatística, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para as safras em estudo, se comparado à média 219,27 mg/mL, sendo que a safra 2002 apresentou um valor médio superior em 1.06 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente à safra 2002, as amostras de 2000 e 2001 apresentaram valores inferiores em 1.19 e 1.02 ordem de magnitude, respectivamente.

## Variedade híbrida SEYVE VILLARD

A análise dos dados do conteúdo de compostos fenólicos totais para as safras analisadas da variedade híbrida Seyve Villard apresentou um valor médio de 176,10 mg/mL em equivalentes de ácido gálico.

A análise estatística utilizando o teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para as safras 2000 e 2001, relativamente à média geral (176,10 mg/mL), conforme demonstrado na Tabela 7.

**Tabela 7. Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/mL)</b>
Seyve Villard 2000	109,00 b
Seyve Villard 2001	243,20 a
<i>Média Geral</i>	176,10
<i>Desvio Padrão</i>	94,84
<i>Coefficiente de Variação</i>	53,89

A análise estatística, via teste LSD, demonstrou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para as safras em estudo, se comparado à média geral 176,10 mg/mL, sendo que a safra 2001 apresentou um valor médio superior em 1.38 ordem de magnitude em relação à média. Comparativamente, a safra 2001 apresentou-se superior em 2.23 ordens de magnitude em relação à safra 2000.

#### Variedade NIÁGARA BRANCA

A análise dos dados de conteúdo destes compostos secundários para as safras 2001 e 2002 para a variedade Niágara Branca apresentou um valor médio de 23,91 mg/mL em equivalentes de ácido gálico e uma amplitude entre 21,69 mg/mL (safra 2002) e 26,12 mg/mL (safra 2001), como mostra a Tabela 8.

**Tabela 8. Concentração de compostos fenólicos totais (mg/mL) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/mL)</b>
Niágara Branca 2001	21,69 b
Niágara Branca 2002	26,12 a
<i>Média Geral</i>	23,91
<i>Desvio Padrão</i>	3,13
<i>Coefficiente de Variação</i>	13,10

A análise estatística, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para as safras em estudo, se comparado à média geral (23,91 mg/mL), sendo que a safra 2002 mostrou-se superior em 1.09 ordem de magnitude em relação à média.

Comparativamente, a safra 2002 apresentou um valor médio superior em 1.20 ordem de magnitude em relação à safra 2001.

Os dados de concentração total de fenóis dos vinhos catarinenses em estudo, como expostos anteriormente, revelaram que, composicionalmente, a variedade Isabel apresentou os maiores teores de fenóis, com média de 219,27 mg/mL em equivalentes de ácido gálico, seguido pela variedade híbrida Seyve Villard, com média de 176,10 mg/mL, sendo estes valores considerados satisfatórios, ou seja, os valores aqui obtidos encontram-se dentro da variação de concentração de compostos fenólicos relatados na literatura, como mostra um estudo realizado por Frankel (1995), onde concentração de fenóis totais em vinhos finos importados variou 180 e 406 mg/mL em equivalentes em ácido gálico, com uma média 257 mg/mL para vinho tinto e de 24 mg/mL, para vinhos brancos.

Estudos conduzidos no Laboratório de Morfogênese de Bioquímica Vegetal (CCA-UFSC), com o intuito de avaliar a concentração de fenóis totais em vinhos tintos nacionais, obtiveram valores de 133,85 mg/mL para variedade Merlot, produzida no Estado do Rio Grande do Sul, e 197 mg/mL para variedade americana Bordô, safra 2002, produzido em Santa Catarina (GONÇALVES, 2003).

Lopez *et al.* (2001), em estudo similar, avaliaram o teor destes compostos fenólicos utilizando o método Folin-Ciocalteu em vinhos Merlot, Cabernet Sauvignon, Syrah e Chardonnay, provenientes da Espanha, as quais apresentaram concentrações de 200 mg/mL, 260 mg/mL, 227 mg/mL e 24 mg/mL, respectivamente, mostrando que os vinhos comuns produzidos em Santa Catarina apresentam uma concentração satisfatória destes compostos, quando comparados aos vinhos elaborados com variedades européias. Neste contexto, especial atenção pode ser conferida à safra 2002, onde os valores de concentração para as variedades Bordô e Isabel (214,13 mg/mL e 233,13 mg/mL respectivamente) apresentaram-se superiores em relação aos vinhos Merlot (133,85 mg/mL) e Bordô (197 mg/mL) de Santa Catarina, analisados no Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal da UFSC (GONÇALVES, 2003).

O conteúdo total de compostos fenólicos em vinhos é influenciado de forma direta por fatores bióticos e abióticos, durante as fases de pré- e pós-colheita das uvas (*e.g.* solo, manejo e clima) e também pelas condições de vinificação, de envelhecimento e de armazenamento. Os fatores que modificam a qualidade e a quantidade dos polifenóis do vinho afetam também sua capacidade antioxidante. A contribuição de cada componente

depende de sua capacidade como antioxidante, concentração e interação destes com o ambiente (LEIGHTON *et al.*, 1997).

Como exposto anteriormente, os compostos fenólicos podem sofrer variações por efeito de fatores como o clima e o solo da região produtora, material vegetal (espécie e variedade), sistema de condução e manejo utilizados no parreiral, as técnicas de manejo e as práticas utilizadas durante o processo de vinificação. No entanto, como podemos observar anteriormente, a variedade é um fator preponderante no que se refere à concentração de compostos fenólicos. Isto se deve ao fato de que cada variedade apresenta uma determinada reação frente à ação de fatores de estresse, tanto de natureza biótica quanto abiótica. Estudos avaliando o teor de fenóis em vinhos das variedades de *Vitis vinifera* Chardonnay e Cabernet Sauvignon, utilizando o método Folin-Ciocalteu, apresentaram valores de 20 mg/mL e 260 mg/mL, respectivamente (TEISSEDRE & LANDRAULT, 2000; LOPEZ *et al.*, 2001; FERNANDEZ, 2002). Esta diferença de concentração dos compostos fenólicos se deve principalmente aos fatores genéticos, onde cada variedade difere-se notadamente na capacidade de acumulação destes metabólitos secundários, e dentro de cada variedade, a heterogeneidade intravarietal também influencia na taxa de biossíntese destes compostos.

O fator clima também apresenta influência na biossíntese de compostos fenólicos, sendo que, segundo Pirie (1977), uvas produzidas em regiões mais quentes tendem a produzir mais compostos fenólicos, tendo como temperatura ótima para síntese destes compostos valores entre 17-26 °C. Todavia, além de ótimos de temperaturas, outros fatores climáticos de interesse para a biossíntese de compostos fenólicos devem ser considerados tais como a radiação solar e a baixa disponibilidade de água durante a fase de maturação da uva. Tal assertiva corrobora com os dados obtidos nas análises dos vinhos catarinenses para as variedades Isabel e Bordo, safra 2002, a qual apresentou a maior concentração de compostos fenólicos totais, seguida pela safra 2001. Ao longo do período de maturação dos frutos destas safras, valores superiores de temperaturas médias diárias, de umidade relativa do ar e de precipitação foram observados, comparativamente aos dados da safra 2000.

Os vinhos analisados neste estudo mostraram valores de conteúdo de compostos fenólicos satisfatórios para as variedades em questão. A região produtora, o Alto Vale do Rio do Peixe, apresentou para as safras em estudo, temperaturas favoráveis à biossíntese destes compostos durante o período de maturação dos frutos, conforme demonstrado na Tabela 9.

Todavia, é preciso considerar que os dados climáticos expostos na tabela 9 são unicamente do município de Videira-SC, o qual apresenta em algumas situações um microclima diferenciado em relação aos demais municípios cujos vinhos foram analisados, a saber: Tangará e Pinheiro Preto. Assim, apesar do fator clima exercer influência sobre a síntese e armazenamento de metabólitos secundários na videira, não deve ser considerado como único para efeitos de conclusões relativas à variação dos compostos encontrados neste estudo, pois não houve um monitoramento específico do clima dos municípios produtores de uva. Além disso, outros fatores devem ser levados em conta no que se refere à influência da síntese e acúmulo de compostos secundários como o manejo do parreiral (adubação, sistema de condução e poda, por exemplo) e as práticas enológicas (maceração, uso de leveduras específicas, controle de temperatura durante a fermentação, entre outras).

**Tabela 9. Média diária de temperatura (°C), precipitação (mm), insolação (h) e umidade relativa do ar (%), durante o período de crescimento e maturação da uva (novembro a janeiro), no município de Videira – Vale do Rio do Peixe, SC.**

Período	Temperatura Média	Precipitação Média (mm)	Insolação (horas)	Umidade Relativa Ar ( %)
Novembro 1999- Janeiro 2000	20,85	4,79	6,75	65,96
Novembro 2000- Janeiro 2001	21,81	6,99	5,93	73,75
Novembro 2001- Janeiro 2002	20,88	6,04	7,55	70,58

Fonte: CLIMERTH/EPAGRI (2003).

Outro fator de relevância é que nas safras 2000 e 2001, um volume significativo de uva utilizada na vinificação, principalmente no que concerne à variedade Bordô, foi proveniente do Estado do Rio Grande do Sul, o qual apresenta um clima algo diferenciado dos municípios catarinenses em estudo.

No que se refere ao efeito das práticas enológicas sobre a composição química dos vinhos em estudo, a busca de informações e o detalhamento destas a respeito do processo de vinificação junto às empresas envolvidas neste trabalho faz-se necessária para as próximas safras. Tal aspecto decorre do fato de que ao longo das safras analisadas (2000, 2001 e 2002), a presença de enólogos nas empresas não foi constante, sendo, portanto, um fator de variação de relevância sobre a qualidade dos vinhos.

Este ponto é considerado determinante para discutir melhor o efeito das fontes de variação dos compostos fenólicos entre as safras em estudo, pois as práticas realizadas desde o manejo do parreiral até a obtenção do produto final, o vinho, são essenciais para o entendimento correto das variações quantitativa dos metabólitos secundários sintetizados e armazenados pela planta e que corroboram para a composição do perfil químico dos vinhos. Tal assertiva baseia-se no fato de que, a cada ano, a uva apresenta características de composição química distintas, relacionadas não apenas ao manejo empregado no parreiral, mas também às condições climáticas e fitossanitárias observadas, notadamente durante o período de crescimento e maturação dos frutos.

### 2.3.2 Antocianinas

A concentração de compostos antociânicos encontrados nas amostras de vinhos provenientes de variedades labruscanas produzidos no Estado de Santa Catarina, apresentou variação entre safras e variedades como podemos observar a seguir.

#### Variedade BORDÔ

Para as amostras de vinho da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, a análise dos dados de conteúdo de compostos antociânicos, calculados em equivalente de malvidina, apresentou um valor médio de 86,07 mg/L e uma distribuição de valores entre 87,44 mg/L (safra 2002) a 91,04 mg/L (safra 2000) , como exposto na Tabela 10.

**Tabela 10. Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Bordô 2002	87,44 c
Bordô 2001	89,99 b
Bordô 2000	91,04 a
<i>Média Geral</i>	89,49
<i>Desvio Padrão</i>	2,28
<i>Coefficiente de Variação</i>	2,55

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra, sendo que as safras 2000 e 2001 apresentaram-se superiores em 1.02 e 1.0 ordem de magnitude em relação à média geral (89,49 mg/L), respectivamente. Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos

antociânicos, as amostras de vinho Bordô, safra 2000, apresentou-se superior em 1.01 ordem de magnitude em relação à safra 2001 e 1.04 ordem de magnitude em relação à safra 2002.

#### Variedade ISABEL

Para os vinhos da variedade Isabel, a análise dos dados de conteúdo de compostos antociânicos calculados em equivalente de malvidina apresentou um valor médio de 66,89 mg/L, com uma amplitude de 60,29 mg/L (safra 2001) a 74,11 mg/L (safra 2002), como mostra a Tabela 11.

**Tabela 11. Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Isabel 2001	60,29 c
Isabel 2000	66,27 b
Isabel 2002	74,11 a
<i>Média Geral</i>	66,89
<i>Desvio Padrão</i>	6,93
<i>Coefficiente de Variação</i>	10,36

A análise de comparação de médias, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra, em relação à média geral (66, 89 mg/L), sendo que à safra 2002 apresentou-se superior em 1.11 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos antociânicos, o vinho Bordô, safra 2002, apresentou-se superior em 1.12 e 1,23 ordem de magnitude em relação às safras 2000 e 2001, respectivamente.

#### Variedade híbrida SEYVE VILLARD

Para o vinho da variedade híbrida Seyve Villard, safras 2000 e 2001, a análise dos dados de conteúdo de compostos antociânicos calculados em equivalente de malvidina, apresentou um valor médio de 90,7 mg/L e uma distribuição de valores com uma amplitude de 89,14 mg/L (safra 2000) a 92,23 mg/L (safra 2001).

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para as safras 2000 e 2001, se comparado à média geral (90,7 mg/L - Tabela 12).

**Tabela 12. Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Seyve Villard 2000	89,20 b
Seyve Villard 2001	92,20 a
<i>Média Geral</i>	90,70
<i>Desvio Padrão</i>	2,12
<i>Coefficiente de Variação</i>	2,34

A análise estatística, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra da variedade Seyve Villard, em relação à média geral (90,70 mg/L), sendo que a safra 2001 apresentou-se superior em 1.02 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos antociânicos, as amostras de vinho Seyve Villard, safra 2001, foi superior em 1.02 ordem de magnitude em relação à safra 2000.

#### Variedade NIÁGARA BRANCA

Para o vinho branco Niágara, safras 2001 e 2002, a análise dos dados de conteúdo de compostos antociânicos calculados em equivalentes de malvidina, apresentou um valor médio de concentração de 2,25 mg/L e uma distribuição de valores com uma amplitude de 1,37 mg/L (safra 2002) a 3,13 mg/L (safra 2001), como mostrado na Tabela 13.

**Tabela 13. Concentração de compostos antociânicos (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Niágara Branca 2002	1,37 b
Niágara Branca 2001	3,12 a
<i>Média Geral</i>	2,25
<i>Desvio Padrão</i>	1,24
<i>Coefficiente de Variação</i>	55,31

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios para cada safra, em relação à média geral, *i.e.*, 2,25 mg/L, sendo que a safra 2001 foi superior em 1.38 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente ao teor médio de concentração de compostos antociânicos, as amostras de vinho Bordô safra 2001, apresentou-se superior em 2.27 ordens de magnitude em relação à safra 2002.

As antocianinas, no contexto farmacológico, são de grande valia devido às suas propriedades antioxidantes, enquanto para a enologia estes compostos são de importância uma vez que conferem coloração aos vinhos tintos. As antocianinas extraídas dos tecidos das uvas parecem ser os principais compostos determinantes da cor vermelho-púrpura dos vinhos jovens e estão progressivamente envolvidos em mecanismos que levam à formação de moléculas de pigmentos mais estáveis. Estas alterações da estrutura química das antocianinas contribuem para a alteração da coloração dos vinhos com maior tempo de envelhecimento, os quais apresentam uma coloração vermelha intensa típica (VIVAR-QUINTANA, 2002).

Os dados de concentração total de compostos antociânicos expostos anteriormente revelaram que, entre as variedades em análise, a variedade Seyve Villard apresentou a maior concentração de compostos antociânicos neste estudo, seguido pela variedade Bordô.

Estudo realizado por Cabrita *et al.* (2003), com vinhos finos (*e.g.* Merlot, Cabernet, Syrah), mostrou que os teores totais de antocianinas monoméricas variaram entre 190 a 551 mg/L. Outros estudos conduzidos no Laboratório de Morfogênese de Bioquímica Vegetal (CCA-UFSC) e relatados por Maraschin (2003), obtiveram valores médios de 41,12 mg/L para variedade européia Cabernet Sauvignon, produzida no Estado do Rio Grande do Sul, ao longo das safras 1986 a 2000.

A concentração de antocianinas em uvas tintas varia de acordo com a cultivar da uva (fatores genéticos), maturidade e condições sazonais (VAN BUREN *et al.*, 1970; NOZAKI & YOKOTSUKA, 1985). Outros fatores que podem afetar a concentração destes compostos no vinho são observados durante a fermentação (FLORA, 1976; 1978) e o envelhecimento do vinho, tais como a temperatura e a concentração de dióxido de enxofre e de etanol, por exemplo (SIMS & MORRIS, 1985; BAKKER, PRESTON & TIMBERLAKE, 1986; ELLIS & KOK, 1987).

Segundo Yokotsuka & Nishino (1990), a concentração de antocianinas aumenta de acordo com o aumento da temperatura e insolação durante a maturação da uva. Os dados obtidos neste trabalho apresentaram valores de concentração diferenciados entre as variedades de uma mesma safra, isto se deve ao fato de que os dados meteorológicos expostos na Tabela 9 pertencem ao município de Videira-SC e os vinhos analisados são provenientes de municípios vizinhos e do Estado do Rio Grande do Sul (parte da variedade

Bordô), apresentando microclimas diferenciados, fato este que interfere na correlação entre a concentração de compostos antociânicos nos vinhos e as variações climáticas.

Os dados obtidos para esta classe de compostos também podem ser analisados quanto ao seu papel em mecanismos de resistência de plantas ao ataque de patógenos (NICHOLSON *et al.*, 1995). As variedades labruscanas cultivadas em Santa Catarina, Isabel, Bordô, e a híbrida Seyve Villard, apresentam concentração de compostos antociânicos dentro da variação de concentração encontrados na literatura, podendo ser este um dos motivos que concorre para que estas variedades apresentem uma maior resistência ao ataque de fungos patogênicos, quando comparadas às variedades viníferas.

A análise comparativa do teor de antocianinas para as variedades em estudo revela que o vinho produzido a partir da variedade híbrida Seyve Villard apresentou uma quantidade superior aos demais (90,70 mg/mL), seguido pela variedade Bordô (86,07 mg/mL), principalmente se considerarmos os aspectos e seus efeitos sobre a saúde humana.

Esta abordagem poderá ser utilizada, do ponto de vista mercadológico, como uma estratégia para agregar valor ao vinho produzido em Santa Catarina e incrementar seu consumo.

### 2.3.3 Taninos Condensados

Similarmente aos valores de concentração obtidos através das análises anteriores, fenóis totais e antocianinas, os teores de taninos condensados apresentaram variações entre as variedades e entre as safras em estudo (2000, 2001 e 2002).

#### Variedade BORDÔ

Os valores de concentração de taninos para a variedade Bordô demonstraram uma amplitude de distribuição de valores entre 4,60 g/L (safra 2002) e 6,03 g/L (safra 2001), com média geral de 5,14 g/L (Tabela 14).

**Tabela 14. Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Bordô 2000	4,60 c
Bordô 2002	4,80 b
Bordô 2001	6,03 a
<i>Média Geral</i>	5,14
<i>Desvio Padrão</i>	0,70
<i>Coefficiente de Variação</i>	13,61

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra em relação à média geral (5,14 g/L), sendo que a safra 2001 apresentou-se superior em 1.17 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente ao teor médio de concentração de taninos, as amostras de vinho Bordô safra 2001, foi superior em 1.25 ordem de magnitude em relação à safra 2002 e 1.31 ordem de magnitude em relação à safra 2000.

#### Variedade ISABEL

A análise estatística dos valores de concentração destes metabólitos secundários para a variedade Isabel demonstrou uma amplitude de distribuição de valores entre 3,10 g/L (safra2000) e 5,13 g/L (safra2001), obtendo uma média geral de 3,97 g/L (Tabela 15).

**Tabela 15. Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Isabel 2000	3,10 c
Isabel 2002	3,70 b
Isabel 2001	5,13 a
<i>Média Geral</i>	3,97
<i>Desvio Padrão</i>	1,08
<i>Coefficiente de Variação</i>	27,16

A análise estatística, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra, se comparando à média geral (3,97 g/L), onde a safra 2001 apresentou-se superior em 1.29 ordem de magnitude em relação à média geral. Comparativamente à safra 2002, a amostra de 2001 apresentou maior concentração de taninos condensados em 1,38 ordem de magnitude, enquanto a safra 2000 apresentou menor concentração em relação à safra 2002 em 1.65 ordem de magnitude.

#### Variedade híbrida SEYVE VILLARD

A análise estatística dos valores de concentração destes metabólitos secundários para a variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, revelou um teor médio de 1,95 g/L (Tabela 16).

**Tabela 16. Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Seyve Villard 2001	1,89 b
Seyve Villard 2000	2,01 a
<i>Média Geral</i>	1,95
<i>Desvio Padrão</i>	0,08
<i>Coefficiente de Variação</i>	4,35

O teste LSD revelou a existência de diferença significativa entre os valores médios encontrados para as safras em estudo, se comparado à média geral (1,95 g/L), onde à safra 2000 apresentou-se superior em 1.03 ordem de magnitude em relação à média. Comparativamente ao teor médio de concentração de taninos, as amostras de vinho Seyve Villard, safra 2000, foi superior em 1.06 ordem de magnitude, comparativamente à safra 2001.

#### Variedade NIÁGARA BRANCA

Estatisticamente, os valores de concentração de taninos para a variedade Niágara Branca, demonstraram uma média geral de 0,43 g/L, sendo que a safra 2001 foi superior em 1.29 ordem de magnitude em relação à média geral e 1.90 ordem de magnitude em relação à safra 2002. Os valores para desvio padrão e coeficiente de variação foram de 0,19 e 43,89 respectivamente (Tabela 17).

**Tabela 17. Concentração de taninos (g/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Niágara Branca 2002	0,30 b
Niágara Branca 2001	0,57 a
<i>Média Geral</i>	0,44
<i>Desvio Padrão</i>	0,19
<i>Coefficiente de Variação</i>	43,89

Esta diferença na concentração de taninos entre os vinhos tintos e o branco, deve-se ao fato de que durante o processo de vinificação, os vinhos brancos permanecem menos tempo em contato com as sementes e a película da uva onde encontram-se as maiores concentrações destes compostos (KANTZ & SINGLETON, 1991; JEANDET *et al*, 1991; SOUQUET *et al*, 1996; ADRIAN *et al*, 2000). De fato, as sementes e películas apresentam

uma grande quantidade de taninos condensados, sendo estes extraídos com maior facilidade durante o processo de vinificação (AMRANI JOUTEL. & GLORIES, 1995).

A variação da concentração de taninos observada entre as safras de uma mesma variedade pode também estar ligada a fatores climáticos que influenciam na biossíntese e armazenamento de compostos tânicos.

Em estudo realizado por Gonçalves (2003), analisando amostras oriundas de uma microvinificação com uvas da variedade Bordô, a concentração de taninos durante aquele processo, aumentou conforme o tempo de contato do mosto com o vinho. No primeiro dia de vinificação, a concentração total de compostos tânicos foi de 2,39 g/L, enquanto no quinto dia de vinificação este valor subiu para 7,58 g/L de compostos tânicos. De forma similar, nas amostras de vinho em estudo os teores de proantocianidinas foram igualmente altos, como demonstrado anteriormente, sendo que resultados podem ser interpretados como decorrentes de uma provável maior exposição do vinho às partes sólidas (película, sementes e engaço) durante o processo de vinificação. Além disto, é preciso considerar que as condições de vinificação também influenciam a cinética de extração dos taninos (*e.g.* temperatura durante a fermentação), podendo alterar a concentração de taninos condensados e conseqüentemente alterar a qualidade do vinho (PRIEUR *et al.*, 1994).

Segundo Gonçalves (2003), os teores médios de concentração de compostos tânicos em amostras de vinhos Bordô, oriundas do Vale do Rio do Peixe-SC, mostraram-se superiores em 8,09 ordens de magnitude em relação ao observado para vinhos da variedade Cabernet Sauvignon, cultivada na serra gaúcha. Esta diferença pode ser atribuída, em alguma extensão, ao fato de que as regiões geográficas são diferentes e que, portanto, apresentam fatores (a)bióticos cuja intensidade de ação é algo distinta, influenciando na síntese destes compostos, assim como a constituição do solo, adubação (MORRIS *et al.*, 1983), o clima (ROGGERO *et al.*, 1986; VENENCIE *et al.*, 1997), as variedades (JORDÃO, 1997; GOLBERG *et al.*, 1998), as práticas de manejo do pomar e enológicas adotadas (RIBÉREAU-GAYON, 1990; CARBONNEAU, 1991), além dos processos pós-fermentativos, também exercem papel fundamental na concentração final dos compostos.

Outra causa para a variação encontrada na concentração de proantocianidinas nas amostras de vinhos analisadas deve-se ao fato de que estes compostos estão relacionados ao amadurecimento da uva, pois quanto menos madura, maior é a concentração destes compostos nos tecidos dos frutos. Isso pode ser influenciado pelo clima, ou seja, períodos de chuvas durante a maturação do fruto podem ser decisivos para a composição química

final da uva, atingindo uma menor concentração de açúcares necessárias para a vinificação, conservando uma quantidade razoável de taninos e dando a sensação de adstringência no vinho.

De acordo com o exposto anteriormente, na safra 2001 os valores de precipitação foram maiores comparativamente às demais safras, concorrendo para uma concentração superior de compostos tânicos em relação aos demais vinhos analisados (Tabela 9).

Além disso, sabe-se que em vinhos mais jovens os compostos tânicos são encontrados principalmente na forma de dímeros e trímeros, porém, durante o envelhecimento do vinho, as proantocianidinas e as antocianinas reagem formando polímeros (AMERINE *et al.*, 1980; SANTOS-BUELGA & SCALBERT, 2000). Estes polímeros caracterizam-se por sua maior complexidade em relação aos polímeros de taninos condensados e que são encontrados naturalmente nos tecidos das uvas (engajo, gavinhas, sementes e película), sendo menos reativos com proteínas e também menos adstringentes em relação aos polímeros de taninos com mesmo peso molecular presentes nos vinhos jovens.

#### 2.3.4 *t*-Resveratrol

Concentrações de resveratrol consideradas elevadas (~ 10mg/L) são geralmente encontradas nos vinhos que, durante o processo fermentativo, tiveram um maior contato do mosto com a película (RODRÍGUEZ-DELGADO *et al.*, 2002).

A concentração de *t*-resveratrol em vinhos finos importados da Califórnia, segundo Frankel (1995), varia entre 1,80 e 4,06 mg/L equivalentes em ácido gálico, com uma média 2,57 mg/L para vinhos tintos e de 0,24 mg/L, para vinhos brancos.

A concentração deste estilbeno nos vinhos produzidos em Santa Catarina com as variedades labruscanas apresentou-se variável durante as safras em estudo, com valores diferenciados para cada variedade.

#### Variedade BORDÔ

A análise dos dados de conteúdo deste estilbeno (*t*-resveratrol) para a variedade Bordô nas safras 2000, 2001 e 2002 apresentou um valor médio de 4,15 mg/L e uma distribuição dos valores com uma amplitude de 4,06 mg/L (safra 2000) a 4,30 mg/L (safra 2001), como mostrado na Tabela 18.

**Tabela 18. Concentração de *t*-resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Bordô 2000	4,06 c
Bordô 2002	4,11 b
Bordô 2001	4,30 a
<i>Média Geral</i>	4,15
<i>Desvio Padrão</i>	0,10
<i>Coefficiente de Variação</i>	2,49

O teste LSD revelou a existência de diferenças significativas entre os valores médios encontrados para cada safra, se comparando à média geral (4,15mg/L), sendo que a safra 2001 foi superior em 1.04 ordem de magnitude em relação à média geral. Similarmente, o teor médio de *t*-resveratrol nas amostras de vinho Bordô safra 2001, foi superior em 1.05 e 1.06 ordem de magnitude em relação às safras 2002 e 2000, respectivamente.

#### Variedade ISABEL

O teor médio de *t*-resveratrol para a variedade Isabel nas safras 2000, 2001 e 2002 foi de 3,50 mg/L, com uma distribuição de valores de concentração entre 3,05 mg/L (safra 2000) e 4,10 mg/L (safra 2002).

A análise estatística, via teste LSD, revelou a existência de diferenças significativas entre os valores de resveratrol para cada safra, quando comparados à média geral (3,50 mg/L) como mostra a Tabela 19, sendo que a safra 2002 apresentou-se superior em 1.17 ordem de magnitude em relação à média.

**Tabela 19. Concentração de *t*-resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Isabel, safras 2000, 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Isabel 2000	3,05 c
Isabel 2001	3,29 b
Isabel 2002	4,10 a
<i>Média Geral</i>	3,50
<i>Desvio Padrão</i>	0,45
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,30

Comparativamente à safra 2002 (referencia composição química), as amostras de 2000 e 2001 apresentaram menor conteúdo deste estilbeno, com valores inferiores em 1.25 e 1.34 ordem de magnitude, respectivamente.

#### Variedade SEYVE VILLARD

A análise dos dados de conteúdo deste estilbeno para a variedade híbrida Seyve Villard, safras 2000 e 2001, apresentou um valor médio de 2,78 mg/L e uma amplitude de distribuição de valores de 2,17 mg/L (safra 2000) a 3,39 mg/L (safra 2001).

O teste LSD revelou a existência de diferença significativa entre os valores médios encontrados para cada safra, se comparando à média geral, tendo a safra 2001 superioridade de 1.22 ordem de magnitude em relação à média (Tabela 20).

**Tabela 20. Concentração de *t*-resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Seyve Villard, safras 2000 e 2001, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Seyve Villard 2000	2,17 b
Seyve Villard 2001	3,39 a
<i>Média Geral</i>	2,78
<i>Desvio Padrão</i>	0,86
<i>Coefficiente de Variação</i>	31,03

Comparativamente, a safra 2001 apresentou maior teor de *t*-resveratrol em relação à safra 2000 em 1.56 ordem de magnitude.

#### Variedade NIÁGARA BRANCA

A análise dos dados de conteúdo de *t*-resveratrol para a variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, determinou um valor médio de concentração de 1,53 mg/L, com uma amplitude de distribuição de valores de 1,03 mg/L (safra 2002) a 2,02 mg/L (safra 2001).

O teste LSD revelou a existência de diferença significativa entre os valores médios encontrados para as safras em estudo, quando comparado à média geral, sendo a safra 2001 superior em 1.32 ordem de magnitude em relação à média. Os valores de desvio padrão e coeficiente de variação obtido das análises das amostras dos vinhos Niágara Branca foram de 0,7 e 45,90 respectivamente, como mostra a Tabela 21.

**Tabela 21. Concentração de *t*-resveratrol (mg/L) em amostras de vinhos da variedade Niágara Branca, safras 2001 e 2002, oriundos do Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

<b>Variedade/Safra</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Niágara Branca 2002	1,03 b
Niágara Branca 2001	2,02 a
<i>Média Geral</i>	1,53
<i>Desvio Padrão</i>	0,70
<i>Coefficiente de Variação</i>	45,90

Comparativamente, a safra 2001 apresentou-se superior em 1.96 ordem de magnitude em relação à safra 2002.

Estudos realizados por Lamuela-Raventos *et al* (1995) e Romero-Perez *et al.* (1996), mostraram a diferença de concentração de *t*-resveratrol em vinhos tintos, rosados e brancos, sendo estes valores de 7,55 mg/L, 2,15 mg/L e 0,48 mg/L, respectivamente. Esta variação na concentração do estilbeno pode ser explicada pelo tempo de contato da película com o vinho durante o processo de vinificação. É sabido que para a obtenção de vinhos rosados, o contato da película com o vinho é reduzido e nos vinhos brancos é praticamente ausente, podendo ser então este o motivo pela diferença de concentração de resveratrol entre os vinhos, ao contrario do processo do vinho tinto, o qual necessita da película para sua elaboração e, conseqüentemente, deverá apresentar maior concentração daquele composto.

O conjunto de resultados obtidos neste estudo demonstra que os teores de *t*-resveratrol são de interesse, quando comparados aqueles encontrados na literatura para vinhos tintos europeus e norte-americanos, os quais apresentam uma amplitude de 0,1 a 15 mg/L, segundo Frémont (2000).

Devido ao fato de ser o *t*-resveratrol uma fitoalexina, a concentração deste em vinhos dá-se em decorrência de estresses ambientais que a planta sofreu durante seu ciclo produtivo. Estes estresses podem ser causados por fatores abióticos como a radiação ultravioleta, extremos de temperatura, e a exposição a metais pesados, por exemplo, bem como pela ação de fatores bióticos tais como infecções fúngicas, especialmente a ação do fungo *Botrytis cinerea* (JEANDET, 1995; TROPF, 1995; HAMMERSCHMIDT, 1999).

Pode-se observar uma variação na concentração deste composto quando comparamos as safras e as marcas comerciais. Do ponto de vista ecológico, tal fato pode estar relacionado às condições climáticas comumente encontradas nas regiões catarinenses produtoras de uva, as quais se caracterizam por apresentar ocorrência de chuvas durante as

fases de crescimento e maturação dos frutos, bem como de temperaturas elevadas (Tabela 9), condições essas favoráveis para ocorrência de moléstias fúngicas criptogâmicas. De fato, a ocorrência destas condições climáticas atua como fator determinante para o acúmulo deste metabólito na uva, pois o excesso de umidade favorece a incidência de doenças fúngicas nos tecidos vegetais da videira, fazendo com que a planta aumente a síntese de fitoalexinas, tais como o *t*-resveratrol, como mecanismo de resposta bioquímica a aquele estresse biótico. Esta abordagem tem sido utilizada em diversos estudos que demonstram a existência de incrementos na taxa de síntese de *t*-resveratrol, quando a planta encontra-se exposta a perturbações de natureza abiótica ou biótica (HAIN *et al.*, 1990; HAMMERSCHMIDT, 1999; GONÇALVES, 2003).

No caso dos vinhos produzidos em Santa Catarina, podemos observar que a variação dos teores de *t*-resveratrol para uma mesma variedade evidenciou uma relação direta com a temperatura e a umidade relativa do ar. Assim, as safras de 2001 e 2002, onde foram observados os maiores valores de temperatura e umidade relativa do ar, apresentaram os maiores valores de concentração daquele estilbeno. Tal assertiva encontra exceção, todavia, para os resultados observados para os vinhos da variedade Isabel, a qual apresentou maior concentração na safra 2002, seguido pela safra 2001. Os possíveis motivos determinantes deste comportamento podem estar relacionados ao sistemas de manejo e adubação empregados nos vinhedos desta cultivar. Contudo, as propriedades agrícolas produtoras das uvas utilizadas na elaboração dos vinhos em estudo não apresentam registros que permitam comprovar de modo absoluto aquela hipótese. Adicionalmente, uma outra possível explicação para as variações de concentração de *t*-resveratrol observadas entre as safras e variedades pode estar relacionada às práticas culturais diferenciadas para cada vinhedo e também a forma de processamento da uva nas cantinas, corroborando para a existência de valores distintos entre as amostras, bem como para as amplitudes de concentração detectadas entre as amostras. De fato, uma concentração elevada de *t*-resveratrol nos vinhos requer, além dos fatores anteriormente mencionados, relativamente uma extensa maceração das películas para uma extração eficiente deste composto (JEANDET, *et al.*, 1995, LAMUELA-RAVENTOS, 1995).

Por último, as variações de concentrações detectadas também dependem de outras técnicas enológicas empregadas como, por exemplo, as cepas de leveduras utilizadas (VRHOVSEK *et al.*, 1997), os agentes filtrantes e o tempo exposto às barricas de carvalho (JEANDET *et al.*, 1995). Entre as cantinas fornecedoras das amostras de vinhos em estudo,

não foi possível detectar uma homogeneidade de técnicas enológicas para as safras analisadas. Além disto, para as amostras em análise, não foram utilizadas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* específicas para o processo fermentativo das variedades de uva de *Vitis labrusca*, um fato que interfere, em alguma extensão na qualidade composicional do produto e nos resultados obtidos, haja vista a não uniformidade de procedimentos ao longo das safras. Adicionalmente, a forma de armazenamento destes vinhos não ocorre em barris de carvalho, como é o caso dos vinhos finos, sendo este outro motivo que concorre para explicar os valores de concentração do estilbeno observados.

## 2.4 Conclusões

Os valores de concentração de compostos fenólicos e antociânicos obtidos nas análises dos vinhos catarinenses oriundos do Alto Vale do Rio do Peixe mostraram-se satisfatórios e até mesmo superiores em alguns casos, se comparados aos dados encontrados na literatura.

A variedade Isabel apresentou uma média geral de fenóis superior a maior parte dos relatos encontrados na literatura para vinhos das variedades viníferas, sendo que as variedades Bordô e Seyve Villard apresentaram valores de concentrações dentro da faixa de variação encontrada na literatura para vinhos finos.

As safras 2002 e 2001 apresentaram concentrações superiores de compostos fenólicos em relação à média geral para as variedades Bordô e Isabel. Para os compostos antociânicos os teores variaram entre as safras, sendo que para a variedade Bordô as safras 2000 e 2001 apresentaram concentrações superiores em relação à média geral, enquanto tal comportamento foi observado para a variedade Isabel na safra 2002.

A variedade Niágara Branca parece ser uma interessante opção de vinho branco pois a concentração de compostos fenólicos nesta variedade mostrou-se superior em relação à maioria dos valores encontrados na literatura para vinhos brancos finos.

Entre as amostras de vinhos em estudo, a variedade híbrida Seyve Villard apresentou concentrações superiores às demais variedades, tanto para compostos antociânicos quanto fenólicos, mostrando que o fator genético é crucial para a biossíntese de metabólitos secundários e, conseqüentemente, para a qualidade composicional do vinho.

Os valores de concentração de taninos e *t*-resveratrol obtidos nas análises dos vinhos catarinenses, oriundos do Alto Vale do Rio do Peixe, mostraram-se satisfatórios, ou seja, encontram-se dentro da escala de variação de concentração citada na literatura e, em alguns casos, os valores observados foram superiores.

As variedades Bordô e Isabel apresentaram valores de concentração média de taninos superiores à maior parte dos relatos encontrados na literatura para vinhos das variedades viníferas, enquanto os vinhos das variedades Seyve Villard e Niágara Branca apresentaram valores de concentrações dentro da faixa de variação relatada na literatura para vinhos finos (1 a 3 g/L).

A safra 2001 das variedades Bordô, Isabel e Niágara Branca apresentou concentração superior de compostos tânicos em relação à média geral das amostras analisadas.

No que se refere ao estilbeno *t*-resveratrol, os vinhos analisados apresentaram concentrações superiores aos valores encontrados na maioria dos trabalhos encontrados na literatura.

Entre os vinhos analisados, a variedade Bordô apresentou concentrações superiores de taninos e *t*-resveratrol, mostrando-se de maior interesse farmacológico.

A concentração dos metabólitos secundários de interesse nos vinhos catarinenses mostrou-se influenciada pelas variações climáticas ocorridas no Estado, notadamente ao longo do período de crescimento e maturação dos frutos, corroborando com as informações encontradas na literatura.

## 2.5 Referências Bibliográficas

ADRIAN, M, *et al.* Induction of phytoalexin (resveratrol) synthesis in grapevine leaves treated with aluminum chloride (AlCl<sub>3</sub>). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 1979–1981. 1996.

AMERINE, MA. *et al.* *Technology of wine making*. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1980.

AMRANI JOUTEI, K. & GLORIES, Y. Tanins et anthocyanes: localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Revue Française d'Oenologie* 153:28. 1995.

BAKALBASSIS E, *et al.* *Ab initio*, density functional theory studies for the explanation of the antioxidant activity of certain phenolic acids. *Lipids* 36 (2)-181. 2001

BAKKER, J., *et al.* The determination of anthocyanins in aging red wines: comparison of HPLC and spectral methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 31 (2):121-126. 1986.

BARBER, MS, *et al.* Antimicrobial intermediates of the general phenylpropanoid , lignin specific pathways. *Phytochemistry* 54:53–56. 2000

BARLASS, M; MILLER, RM; DOUGLAS, TJ. Development of methods for screening grapevines for resistance to infection by downy mildew. II. Resveratrol production. *American Journal of Enology and Viticulture*,38:65-68. 1987.

BARROS, CFS. Efeito farmacológico de compostos fenólicos antioxidantes em alimentos. Universidade de Aveiro, Pt. 2002 .

BERTELLI, AAE, *et al.* Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *International Journal of Tissue React.* 17:1-3. 1995.

BLAICH, R; BACHMANN, O; STEIN, U. Causes biochimiques de la resistance de la vigne a *Botrytis cinerea*. *EPPO Bulletins* 12:167-170. 1982.

BOURGAUD, F, *et al.* Production of plant secondary metabolites - a historical perspective *Plant Science* 161:839-851. 2001.

BRENES-BALBUENA, M, *et al.* Phenolic compounds related to the black color formed during the processing of ripe olives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 40:1192. 1992.

BROUILLARD, R; *et al.* Chemistry of anthocyanin pigments:UV-visible spectrophotometric determination of the acidity constants of apigeninidin and three related 3-deoxyflavylium salts. *Journal of America Chemistry Society*, 104(26); 7585-7590. 1982.

BRUNETON, J. Composés Phenóliques. *In: Pharmacognosie. Lavoiser.* New York: p.200-291. 1993.

CABRITA, JM, *et al.* Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. *In: I Seminário Internacional de Vitivinicultura*. Local: Ensenada, México. 24 e 25 de Setembro de 2003

CALLEBAUT, A. & HENDRICKS, G. Anthocyanins in cell cultures of *Ajuga reptans*. *Phytochemistry*, 29: 2153-2158. 1990.

CARANDO, S & TEISSEDE, PL Catechin and procyanidin levels in French wines: contribution to dietary intake. *In: Gross, GG, Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp.725-737. 1999.

CARBONNEAU, A. Conduite du vignoble et qualité du vin: des faux débats sur la densité de plantation à la "lyriculture". *Riv. Viticulture and Enology*, 4: 329-333. 1991.

COOK, NC & SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Journal of Nutrition Biochemistry* 7: 66-69. 1996.

CURVELIER, ME; RICHARD, H; BERST, C. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 56:324-325. 1992

CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M.; SARNI-MANCHADO, P. Les composés phénoliques. *In: Technologie: fondements scientifiques et technologiques*, Lavoisier TEC & DOC, Paris, pp. 123-162. 1998.

CHUNG, MI, *et al.* An antiplatelet principle of *veratrum formosanum*. *Plant Med.* 58: 274-276. 1992.

DALLAS, C & LAUREANO, O. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Journal of Science Food Agriculture* 65: 477. 1994.

DALLAS, C; RICARDO-DA-SILVA, JM; LAUREANO, O. Interactions of oligomeric procyanidins in model wine solutions containing malvidin-3-glucoside and acetaldehyde. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 70: 439-500, 1996a

DALLAS, C; RICARDO-DA-SILVA, JM; LAUREANO, O. Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B2 and acetaldehyde. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 2402-2407, 1996b

DE FREITAS, VA, *et al.* Study of polyphenol composition of Port wine enriched with procyanidins from grape seeds. XII CONGRESSO O.I.V. *Actas*. Lisboa, 1995. Vol. II: 510-514.

De LUCA, V & St PIERRE, B. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. *Trends Plant Science*. 5: 168-173. 2000.

DERCKX, W & CREASY, LL. The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola* grapevine infection. *Physiology Molecular and Plant Pathology* 34:189-202, 1989.

DNP. *Dictionary of Natural products*. CD-ROM Version 5:1, Chapman and Hall, London, UK. 1996.

DORRIE, J, *et al.* Resveratrol induces apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes and activating caspase-9 in acute lymphoblastic leukemia cells. *Cancer Research* 61: 4731–4739. 2001.

ECTOR, BJ, *et al.* Resveratrol concentration in muscadine berries, juice, pomace, purees, seeds and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*,47:57-62. 1996.

ELLIS, LP. & KOK, C. Colour changes in Blanc de noir wines during ageing at different temperatures and its colour preference limits. *Journal of Enology and Viticulture* 8 (1):16-22. 1987.

ESABIO – Instituto Biológico de São Paulo. Disponível em: [www.geocities.com/~esabio/interacao/](http://www.geocities.com/~esabio/interacao/). Acessado em: fev. 2002.

ESTERBAUER H., *et al.* The role of lipid peroxidation, antioxidants in oxidative modification of LDL . *Free Radical Medicine and Biology*. 13: 341. 1992.

FENNEMA, OR. *Química de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Acribia S.A., 1993. 1095p.

FERNANDÉZ, FMT. Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. *ACE Revista de Enología*. Disponível em: [www.rubes.es/ace/ciencia59](http://www.rubes.es/ace/ciencia59). Acessado em: mar. 2002.

FERREIRA, WM. Os componentes das parede celular vegetal na nutrição de não ruminantes. In: *Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia*, 31, Maringá-PR, 85-113. 1994.

FLORA, LF. Influence of heat, cultivar and maturity on the anthocyanin-3, 5-diglucosides of Muscadine grapes. *Journal of Food Science*., 43:1819-1821. 1978.

FLORA, LF. Time-temperature influence on Muscadine grape juice quality. *Journal of Food Science*, 41: 1312-1315. 1976.

FRANKEL, E. Natural and biological antioxidants in foods and biological systems. Their mechanism of action, applications and implications. *Lipid Technology* 7:77-80. 1995.

FRANKEL, E.; WATERHOUSE, A.; TEISSEDRE,P. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 43:890-894. 1995.

FRÉMONT, L. Biological Effects of Resveratrol, *Life Sciences*, 66(8): 663-673. 2000.

GAO, T, *et al.* FTIR investigation of the interaction of tumor cells treated with caffeic acid, chlorogenic acid. *Vibrational Spectroscopy*. 24:225. 2000.

GAULEJAC, N; POVOST, C; VIVAS, N. Comparative study of polyphenols scavenging activities estimated by different methods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 435-443, 1999a.

GAULEJAC, N; POVOST, C; VIVAS, N. Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines. *Food Research International* 32: 327-333, 1999 b.

GAUTAM, SC, *et al.* Resveratrol selectively inhibits leukemia cells: a prospective agent for ex vivo bone marrow purging. *Bone Marrow Transplant.* 25: 639–645. 2000.

GAZIANO, JM, *et al.* Moderate alcohol intake, increase levels of low density lipoprotein and its subfractions and decrease risk of myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 329: 1829. 1993.

GHISELLI, A, *et al.* Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1998.

GOLDBERG, DM, *et al.* A global survey of trans-resveratrol concentrations in commercial wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 159-165. 1995.

GOLDBERG, DM, *et al.* Catechin and epicatechin concentrations of red wines: regional and cultivar-related differences. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49:23-33, 1998.

GOLDBERG, DM, *et al.* Catechin and epicatechin concentrations of red wines: regional and cultivar-related differences. *American Journal of Enology and Viticulture* 49:23-33, 1998.

GOMEZ-PLAZA, E, *et al.* Color and Phenolic Compounds of a Young Red Wine. Influence of wine-making techniques, storage temperature, and length of storage time. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48(3); 736-741, 2000.

GONÇALVES, VZ. *Caracterização química de vinhos e mostos elaborados a partir da variedade americana Bordô, cultivada no Vale do Rio do Peixe-SC.* Monografia B.Sc., Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

GOODWIN, TW E MERCER, EI. *Introduction to Plant Biochemistry.* 2<sup>nd</sup> edition. Brazil, 677p. 1990

GOUPY, P, *et al.* Enzymic browning, oleuropein content, diphenol oxidase activity in olive cultivars (*Olea europaea* L.) *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 39:92. 1991.

GUTIERREZ, LE *et al.* Vinhos. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/lan/biotec3.htm>. Acessado em: abr. 2002.

HAHN, DH; ROONEY, LW; EARP, CF. Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World.* 29(12) : 776-779.1984.

HAIN, R, *et al.* Proceedings of the British Crop protection conference on pests and diseases. *Plant Molecular Biology* 15:325-335. 1990.

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annu. Rev. Phytopathol.* 37:285-306. 1999.

HASLAM, E. In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry* 19 : 2577. 1980.

HASLAM, E. *Plant polyphenols, vegetable tannins revisited*. Cambridge University Press, Cambridge, 1989.

HAYEK, T, *et al.* Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 17: 2744–2752. 1997.

HERTOG, MGL; HOLLMAN, PCH; PUTTE, BJV. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 41:1242-1246. 1993.

HORBORNE, JB. Classes and functions of secondary products. *In: NJ Walton, DE Brown (Eds.) Chemicals from plants, perspectives on secondary plant products*, Imperial College Press. pp.1-25. 1999.

HSIEH, TC & WU, JM. Differential effects on growth, cell cycle arrest, and induction of apoptosis by resveratrol in human prostate cancer cell lines. *Experimental Cell Research*, 249:109–115.1999.

INOUE, M, *et al.* Role of reactive oxygen species in gallic acid-induced apoptosis *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2310:1153. 2000.

JACKSON, RS. *Wine Science: Principles and Applications*. Academic Press, Inc., 525 B Street, Suite 1900, San Deigo, California. 1994.

JEANDET, P, *et al.* Phytoalexins from the *Vitaceae*: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50 : 2731–2741. 1991.

JEANDET, P; SBAGHI, M; BESSIS, R. The production of resveratrol (3,4,5-trihydroxystilbene) by grapevine *in vitro* cultures, and its application to screening for grey mould resistance. *Journal of Wine Research* 3:47-57, 1992.

JEANDET, P. *et al.* Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to Botrytis attack under natural conditions. *J. Phytopath.* 143:135-139. 1995.

JORDÃO, AM. Evolução das antocianinas e proantocianidinas ao longo da maturação de uvas tintas das castas Periquita e Touriga Francesa (*Vitis vinifera*): Incidência da prática da rega. *Relatório de Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Agro-Industrial*, ISA-UTL, 1997.

JURD, L. Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 20: 191–195. 1969.

KAMP, M, *et al.* Wine antioxidant polyphenols inhibit the proliferation of human prostate cancer cell lines. *Nutrition and Cancer*, 37:223–233. 2000.

KANTZ, K.; SINGLETON, VL. - Isolation and determination of polymeric polyphenols in wines using sephadex LH-20. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42:309-316. 1991.

KORHAMMER, R; RENIERO, F; MATTIVI, F. An oligostilbene from *Vitis* roots. *Phytochemistry* 38: 1501-1504. 1995.

LAMUELA-RAMENTOS, RM, *et al.* Direct HPLC analysis of *cis* and *trans*-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 43:316-319. 1995.

LANGCAKE, P & PRYCE, RJ. The Production of Resveratrol by *Vitis vinifera* and Other Members of the Vitaceae as a Response to Infection or Injury. *Physiology Plant Pathology* 9: 77-86. 1976.

LEE, CY. & JAWORSKI, A. Major phenolic compounds in ripening white grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 40 (1) :43-46. 1989.

LEIGHTON, F; URQUIAGA, I; SOLEDAD DIEZ, M. *Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes*. XXII Congreso Mundial de la Vid y del Vino, Buenos Aires, 1997.

LIAO, H; CAI, Y; HASLAM, E. Polyphenol interactions. Anthocyanins: co-pigmentation and colour changes in red wines. *Journal of Science Food Agriculture* 59: 299–305. 1992.

LOPEZ-SERRANO, M & BARCELO, AR. Reversed-phase and size-exclusion chromatography as useful tools in the resolution of peroxidase-mediated (+)-catechin oxidation products. *Journal of Chromatography A*. 919: 267–273. 2001

LU, R & SERRERO, G. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *Journal of Cell Physiology* 170 : 297–304. 1999.

MACHEIX, JJ.; SAPIS, JC.; FLEURIET, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Critical Reviews of Food Science Nutrition* 30 (1): 441-486. 1991.

MACHEIX, JJ; FLEURUET, A; BILLOT, J. *Fruits Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990.

MADHAVI, DL, *et al.* Characterization of anthocyanins from *Ajugapycnidialis* 'Metallica Crispa' cell cultures. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 1170-1176. 1996.

MARASCHIN, M *et al.* (2001). Isolation and *trans*-resveratrol analysis in brazilian red wine by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance. In: *Magnetic resonance in food science – a view to the future*, (Webb, GA *et al.*, Eds), Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 136-141.

MCLEOD, MN. Plant-tannins their role in forage quality. *Nutrition Abstracts Reviews* 11 (44): 804-812. 1974.

MGBONYEBI, OP; RUSSO, J; RUSSO, IH. Antiproliferative effect of synthetic resveratrol on human breast epithelial cells. *International Journal of Oncology* 12 : 865–869. 1998.

MILLER, NJ & RICE-EVANS, CA. Antioxidant activity of resveratrol in red wine. *Clinical Chemistry* 41: 1789. 1998.

MITCHELL, SH; ZHU, W; YOUNG, CY. Resveratrol inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Research* 59: 5892–5895. 1999.

MOLE, S. & WATERMAN, PG. Tannins as antifeedants to mammalian herbivores: still na open question? In: *Waller, G.R. ed. Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*, American Chemical Society, Washington DC, 572–587. 1987.

MORRIS, J. R.; CAWTHON, D. L.; SIMS, C. A. Effects of excessive potassium levels on pH, acidity and color of fresh and stored grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 34: 35-39. 1983.

MURCIA, MA & MARTINEZ-TOME, M. Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives. *Journal Food Protection*, 64 : 379–384. 2001.

NICHOLSON, JK., *et al.* 750 MHz 1H and 1H-13C NMR Spectroscopy of Human Blood Plasma. *Analytical Chemistry*, 67:793-811. 1995.

NIELSEN, M; RUCH, RJ; VANG, O. Resveratrol reverses tumor-promoter-induced inhibition of gap-junctional intercellular communication. *Biochemistry and Biophysics Research Community* 275 : 804–808. 2000.

NOZAKI, K & YOKOTSUKA, K. Paper chromatography of phenolic compounds from seeds and skins of 32 grape varieties. *Journal of Enology and Viticulture* (Yamanashi Univ.) 20:1-15. 1985.

PACE-ASCIAC CR, *et al.* The red wine phenolics *trans*-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin. Chimistry Acta* 235: 207-219. 1995.

PEZET, R; PONT, V; CUENAT, P. Method to determine resveratrol and pterostilbene in grape berries and wines using HPLC and highly sensitive fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A* 663: 191-197. 1994.

PIRIE, AJG. Phenolics accumulation in red wine grapes (*Vitis vinifera* L.). Ph.D. Diss., University of Sydney. 1977.

POLENTA, GA. Evolução dos compostos fenólicos durante a fermentação de mostos provenientes de três regiões do Rio Grande do Sul, submetidos a diferentes tratamentos. *Dissertação de Mestrado*, Santa Maria/RS, 153p. 1996.

PONTALLIER, P & RIBÉREAU-GAYON, P. *Connaissance de la Vigne et du Vin*. 17: 105. 1983

POOL, RM. Resveratrol and the viniferins, their application to screening for diseases resistance in grape breeding programs. *Vitis* 20:136-145. 1981.

PRIEUR, C, *et al.* Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* 36:781–784. 1994.

RAJAN, P, *et al.* Synthesis , evaluation of caffeic acid amides as antioxidants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* . 11: 215. 2001.

RAUHA, JP, *et al.* Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids , other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56: 3–12. 2000.

RAY, PS, *et al.* The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radical Biol Med*, 27: 160–169. 1999.

REANUD, S & DE LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339: 1523–1526. 1992.

REVILLA, E & RYAN, JM. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection without sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 881: 461-469. 2000

REVILLA, E. *et al.* Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography A*, 915:53-60. 2001.

RIBÉREAU-GAYON, F. Observation sur les composés phénoliques dans les vins rouges du Bordelais en 1987. *Revue Française d'Enologie*, 123: 25-33.1990.

RIBÉREAU-GAYON, J & PEINAD, E. Biologie de la vigne. Sols de vignobles (tomo III). *En Sciences et techniques de la vigne* (Ed.) Dunod. Paris. 1971.

ROBBERS, JE; SPEEDIE, MK; TYLER, VE. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. 9<sup>th</sup> ed. Pennsylvania, 1996. 337p.

- RODRÍGUEZ-DELGADO, MA, *et al.* Trans-resveratrol in wines from the Canary Islands (Spain). Analysis by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 76:371–375. 2002
- ROGGERO, J. P.; COEN, S.; RAGONNET, B. High performance liquid chromatography survey on changes in pigment content in ripening grapes of Syrah. An approach to anthocyanin metabolism. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37: 77-83. 1986.
- ROGGERO, JP & GARCIA-PARRILLA, C. Effects of ultraviolet irradiation on resveratrol and changes in resveratrol and various of its derivatives in the skins of ripening grapes. *Science des Aliments* 15: 411-422. 1995.
- ROMERO-PEREZ, AI *et al.* Levels of cis- and trans-resveratrol and piceid isomers in rose and white *Vitis vinifera* wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 2124-2128. 1996.
- ROY, G, *et al.* Mechanistic Aspects of the Induction of Apoptosis by Lauryl Gallate in the Murine B-Cell Lymphoma Line Wehi 231. *Archives Biochemistry and Biophysics*, 383(2):206. 2000.
- SANTOS-BUELGA, C & SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Science Food Agriculture* 80 1095-1117, 2000.
- SBAGHI, M, *et al.* Degradation of stilbene-type phytoalexins in relation to the pathogenicity of *Botrytis cinerea* to grapevines. *Plant Pathology* 45:139-144, 1996.
- SCHNEIDER, Y, *et al.* Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Letters*, 159 :85–91. 2000.
- SCHULTZ, HR. How may climate change affect viticulture in Europe? *ACE Rev. Enol.* Disponivel em: [www.acenologia.com/ciencia59\\_04eng.htm](http://www.acenologia.com/ciencia59_04eng.htm). Acessado em: set. 2002
- SGAMBATO, A. *et al.* Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. *Mutation Research*, 496: 171-180. 2001.
- SILVA, FAM; BORGES, F; FERREIRA, MA. Effects of Phenolic Propyl Esters on the Oxidative Stability of Refined Sunflower Oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49:3936. 2001.
- SIMONETTI, P.; PIETTA, P.; TETOLIN, G. Polyphenol Content and total antioxidant potential of selected italian wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45:1152-1155. 1997.
- SIMS, CA. & MORRIS, JR.. A comparison of the color components and color stability of red wine from Noble and Cabernet Sauvignon at various pH levels. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36 (3) :181-184. 1985.

SOLEAS, GJ; DIAMANDIS, EP; GOLDBERG, DM. Resveratrol: A molecule whose time has come and gone?. *Annals of Clinical Biochemistry*, 39: 91–113.1997.

SOMERS, TC & VERETTE, E. Phenolic Composition of Natural Wine Types In: *Modern Methods of Plant Analysis, Wine Analysis.*, Linskens, H.F., and Jackson, J.F., Eds., Springer-Verlag, Berlin. pp219-257. 1988.

SOUQUET, JM, *et al.* Polymeric proanthocyanidins from grape skin. *Phytochemistry* 43: 509–512. 1996.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Surface protection and secondary defense compounds. *Plant physiology*. New York, 320-345. 1991.

TEISSEDRE, PL. & LANDRAULT, N. Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Research International*, 33:461-467. 2000.

TIMBERLAKE, CF & BRIDLE, P. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27: 97. 1976.

TROPF, S. *et al.* Reaction mechanisms of homodimeric plant polyketide synthases (stilbene and chalcone synthase). *Journal of Biological Chemistry*. 270: 7922-7928. 1995

VALDÉS, H *et al.* Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Revista Cubana Plantas Medicinales*, 5: 17-22. 2000.

VAN BUREN, JP. *et al.* A comparative study of the anthocyanin pigment composition in wines derived from hybrid grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 21:117-130. 1970.

VENENCIE, C; UVEIRA, N; GUIET, S. Maturité polyphénolique du raisin mise en place d'une méthode d'analyse de routine. *Rouge Française d'Oenologie*, 167: 36-41, 1997.

VICKERY, ML. & VICKERY, B. *Secondary Plant Metabolism*. The Macmillan Press Ltd., Hong Kong. 1981

VINSON, JA; TEUFEL, K; WU, N. Red wine, dealcoholized red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis* 156: 67–72. 2001.

VIVAR-QUINTANA, AM.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, JC. Anthocyanin -derived pigments and colour of red wines. *Analytical Chemistry Acta*, 458 (1) 147-155. 2002.

VRHOVSEK, U. Extraction of hydroxycinnamoyltartaric acids from berries of different grape varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46 (10) :4203-4208. 1998.

WALKER, JRL. Antimicrobial compounds in food plants. In: Dillon, V.M., Board, R.G., Editors, 1994. *Natural Antimicrobial Systems, Food Preservation*, CAB International, Wallingford, pp. 181–204. 1994.

WALTON, NJ E BROWN, DE. *Chemicals from Plants – Perspectives on Plant Secondary Products*. London, 425p. 1999.

WATERMAN, PG *The Tannins — An Overview*. Centre for Phytochemistry, Southern Cross University, PO Box 157, Lismore, NSW 2480, Australia. 2002.

WIEL, A; GOLDENBERG, PHM; HART, HCH. *European Journal Internal Medicine*. 12: 484-489. 2001.

WINK, M. Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. *In: Biochemistry of secondary metabolism. Annual Plant Reviews 2: 1-15. 1999.*

YANG, CS, *et al.* Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Reviews of Nutrition*, 21: 381–406. 2001.

YOKOTSUKA, K & NISHINO, N. Extraction of anthocyanins from muscat bailey a grape skins. *Journal Fermentation Bioengineering* 69: 328-334. 1990.

ZUCKER, WV. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *The Am. Naturalist. Lancaster*,121(3):335-365. 1983.

CAPÍTULO III - ANÁLISE INSTRUMENTAL DE VINHOS CATARINENSES:  
ÊNFASE EM ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE  
HIDROGÊNIO ( $^1\text{H}$ -RMN) E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA  
(CLAE).

**Resumo**

Os compostos fenólicos são de grande importância para a vitivinicultura, pois estes conferem, dentre outras propriedades, o efeito antioxidante ao vinho. Neste estudo, a identificação e a quantificação de alguns destes compostos de interesse farmacológico (*i.e.* ácidos gálico, cinâmico, cumárico, caféico, málico e quercetina e *t*-resveratrol), foram realizadas em amostras de vinhos Bordo, Isabel, Seyve Villard e Niágara Branca, oriundos do Alto Vale do Rio do Peixe-SC, através do uso da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência e da ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Os espectros de ressonância magnética nuclear dos vinhos Bordô mostraram a presença de alguns dos compostos fenólicos de interesse e a presença destes variaram entre as safras analisadas (2000, 2001 e 2002). A quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência teve na variedade Bordô, a maior concentração dos polifenóis (28,41 mg/L), seguido pelas variedades Seyve Villard (26,38 mg/L), Isabel (21,33 mg/L) e Niágara Branca (1,85 mg/L). O composto de maior concentração foi o ácido gálico (20,47 mg/L). Estes resultados mostraram-se satisfatórios quando comparados aqueles encontrados na literatura para vinhos importados.

**Palavras-chave:**  $^1\text{H}$  RMN, CLAE, vinhos

**Abstract**

Phenolic compounds have great importance for the viticulture, since, amongst others characteristics, they confer an antioxidant property to wine. In this study, the detection and quantification of those pharmacological interest compounds was performed in samples of Bordô, Isabel, Seyve Villard and Niágara Branca, originated from Alto Vale do Rio do Peixe-SC, through the use of the high performance liquid chromatography and  $^1\text{H}$ -nuclear magnetic resonance. The Bordô's NMR spectra have shown the presence of some phenolic compounds and those ones ranged among the years (2000, 2001 and 2002). The quantification of phenolic compounds through HPLC have shown the higher concentration in Bordô wine (28,41 mg/L), for Seyve Villard, Isabel and Niágara Branca the concentrations were (26,38 mg/L, 21,33 mg/L and 1,85 mg/L respectively). Gallic acid was the most expressive compound with 20,47 mg/L. These results were satisfactory when compared with imported wines in the literature.

**Key words:**  $^1\text{H}$  NMR, HPLC, wines

### 3 Introdução

Nas últimas décadas, a identificação e a quantificação de antocianinas, polifenóis e taninos em produtos derivados de uva têm sido feita por diversas técnicas cromatográficas, com destaque para a cromatografia em camada delgada (ROBERTS *et al.*, 1956; LANGCAKE & PRICE, 1976; SÁRDI *et al.*, 2000) cromatografia líquida de alta performance - CLAE (FINGER *et al.*, 1991; SIEMANN & CREASY, 1992; PEZET *et al.*, 1994; JEANDET *et al.*, 1994, 1997) e a cromatografia gasosa - CG (SBAGHI *et al.*, 1995; REVEL *et al.*, 1996), acopladas ou não à espectrometria de massa – EM.

Além da espectrometria de massa (EM), outros sistemas de detecção tais como a espectrofotometria UV-visível, a fluorimetria e a detecção eletroquímica vêm sendo utilizadas com limites de detecção característicos da ordem de  $\mu\text{g/L}$  (FREMONT, 2000).

Mais recentemente, a análise dos isômeros de resveratrol, por exemplo, em amostras de vinho foi realizada através da eletroforese capilar com bom grau resolução e sem a necessidade de pré-tratamento das amostras. Este método mostrou-se bastante rápido (< 15 min.), porém com pequena sensibilidade -  $300 \mu\text{g/L}$  - (CHU *et al.*, 1998).

Numa estratégia de análise distinta, a separação dos isômeros de resveratrol em amostras de vinho foi realizada através da CLAE e a identificação inequívoca destes por ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H-RMN}$  - FINGER *et al.*, 1991). Os resultados demonstraram que a forma *cis* do resveratrol e alguns de seus derivados glicosilados foram predominantes no início do processo de fermentação do mosto, enquanto ao final deste processo o isômero *trans* (aglicona) ocorreu em maior concentração (MATTIVI *et al.*, 1995).

Ao longo da última década, uma série de estudos vêm sendo conduzidos utilizando-se a RMN, por exemplo, em biomedicina (metabolismo de drogas, processos toxicológicos e doenças metabólicas) e na identificação de produtos naturais (lactose, glucose, cafeína, *trans-resveratrol*), com requerimentos mínimos de quantidade de amostra - da ordem de  $\mu\text{L}$  ou  $\eta\text{L}$  (ARAÚJO *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 2001). Além disto, o tempo necessário para a obtenção de um espectro de  $^1\text{H-RMN}$  de uma amostra é bastante reduzido (da ordem de segundos), de modo que estas características, tomadas em conjunto, evidenciam o alto potencial de uso desta técnica em estudos com material de natureza biológica (LACEY *et al.*, 1999).

A importância da espectroscopia de RMN de alta resolução em estudos de amostras líquidas e sólidas, nas diversas áreas de investigação, tem crescido continuamente devido ao rápido desenvolvimento instrumental e de programas de gerenciamento (*softwares*) nos últimos anos. Seu potencial como técnica analítica tem sido demonstrado em muitos estudos enfocando aplicações clínicas e no metabolismo de células vegetais, através de diferentes abordagens experimentais – COSY, TOCSY, DOSY, MAS e ROESY, por exemplo - em sistemas líquidos e sólidos (OLTRAMARI *et al.*, 2000; OLTRAMARI *et al.*; 2001; VIZZOTO *et al.*, 2001). Como exemplo disto, estudos visando a caracterização fitoquímica de culturas de células de *Tabernaemontana divaricata* e *Catharanthus roseus* por 1D <sup>1</sup>H-RMN no que concerne aos conteúdos de açúcares e aminoácidos mostraram-se viáveis, uma vez os perfis espectrais foram característicos para cada linhagem celular. Neste estudo, os teores intracelulares de açúcares e aminoácidos das amostras foram quantificados com alta precisão, na faixa de concentração de µg. Além disto, foi possível a determinação do estágio de crescimento da cultura celular por este método espectroscópico, porque cada um dos compostos em estudo mostrou uma curva de concentração x tempo específica ao longo do período de cultivo (VERPOORTE & SCHRIPSEMA, 1994).

Diferentes métodos para obtenção de amostras para determinação de compostos polifenólicos são comparados com o objetivo de estabelecer as melhores condições para a análise destes compostos em amostras de vinhos utilizando a cromatografia líquida de alta performance - CLAE (MALAVONÁ, *et al.* 2001). A CLAE permite a separação de várias antocianinas (REVILLA *et al.* 2001) e compostos fenólicos presentes em uvas e vinhos pela injeção direta de amostras, usando-se um gradiente binário de solventes livres de sais e detector de fotodiodo, por exemplo (REVILLA & RYAN, 2000).

### 3.1 Ressonância Magnética Nuclear – RMN

A ressonância magnética nuclear (RMN) é um fenômeno que ocorre quando os núcleos de determinados átomos são imersos em um campo magnético estático, e posteriormente expostos a um campo magnético oscilante (HORNAK, 1997).

Silverstein *et al.* (1994), explicam que, sob condições apropriadas em um campo magnético, uma amostra pode absorver radiação eletromagnética na região de

radiofrequência (**rf**) em uma frequência governada pelas características estruturais da amostra. A absorção se dá em função de determinados núcleos da molécula. Um espectro de RMN é um registro das frequências dos picos de absorção contra suas intensidades. Além disto, a RMN pode ser acoplada à espectroscopia, sendo esta técnica utilizada para estudar as propriedades químicas, físicas e biológicas da matéria. Com isso, a espectroscopia por RMN encontra aplicações em diversas áreas da ciência (HORNAK,1997).

Esta técnica é usada rotineiramente pelos químicos para estudar a estrutura química de compostos, usando técnicas unidimensionais simples, enquanto as técnicas bidimensionais são usadas para determinar a estrutura de moléculas complexas (HORNAK,1997). De fato, a RMN estabeleceu-se como um método eficiente para a determinação da estrutura de moléculas em solução e é única em obtenção de uma grande escala de informações dinâmicas em tempo reduzido (NILGES & SATTLER, 2001).

As aplicações industriais variam da identificação de compostos desconhecidos no processo monitoramento de controle de qualidade, aos estudos de catalises e avaliação do produto final (THE UNIVERSITY OF YORK, s.d.), sendo que uma das vantagens desta técnica é sua característica não-destrutiva das amostras, de modo que toda a amostra possa ser recuperada (ERNST, 1987).

A RMN é capaz de determinar uma maior quantidade de compostos químicos numa amostra comparativamente às demais técnicas de análises químicas, sendo que esta técnica mede simultaneamente diversos compostos em menor tempo. Isto significa que, teoricamente, todos os compostos de uma mistura podem ser determinados, conferindo à técnica uma característica não seletiva (VOGELS *et al*, 1993).

Sabe-se que uma simples amostra pode envolver uma grande quantidade de seqüências de pulsos multidimensionais, gerando uma conectividade tri-dimensional para uma amostra contendo apenas um composto químico (WÜTHRICH, 1986). Entretanto, a RMN é uma técnica cuja sensibilidade para detecção de compostos situa-se na faixa de  $\mu\text{g/mL}$  (300 MHz de frequência de ressonância de hidrogênio), de modo que compostos presentes em concentrações inferiores àquela razão, possivelmente, não são detectados. Além disso, alguns núcleos (isótopos) são mais prontamente detectados do que outros. Por estas razões, o emprego deste artifício é limitado a poucos isótopos, sendo os comumente usados os isótopos do sódio 23 ( $^{23}\text{Na}$ ), do hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e do carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ).

Como o vinho é uma mistura complexa de compostos orgânicos, a RMN é uma técnica de interesse para estudá-los, resultando em espectros cujos perfis são interpretados e comparados com os espectros padrões de compostos de interesse (VOGELS *et al*, 1993).

Para a utilização da RMN na caracterização de vinhos, primeiro é indispensável a identificação das necessidades que podem ser resolvidas com ajuda da RMN, que podem ser por exemplo a identificação e concentração de compostos presentes no vinho que trazem benefícios á saúde (MARTIN *et al*, 1982; LORIMIER, 2000; GERMAN & WALZEM, 2000), a origem e a idade do vinho (AIRES DE SOUSA, 1996), bem como a presença de contaminantes naquela bebida (SAUVAGE *et al.*, 2002), entre outros.

Estudos realizados utilizaram a presença natural de  $^2\text{H}$ -NMR numa determinada amostra de vinho, para marcar a origem e validar vinhos de determinadas regiões com auxílio da RMN. Este método de *fingerprinting* compara os espectro de  $^1\text{H}$ -NMR através de picos de HOD,  $-\text{CHD}-$ , e  $-\text{CH}_2\text{D}$  para a água e o etanol presentes no vinho com uma base de dados de sinais onde são encontradas relações de concentrações dos compostos conhecidos para esta bebida (MARTIN *et al*, 1982; MARTIN, DAY, ZHANG, 1995).

Outra característica que deve ser ressaltada é o pequeno volume da amostra necessária para determinar compostos através da espectrometria de RMN. Considerando-se como estimativa geral da quantidade de um composto necessária para a obtenção de um espectro de  $^1\text{H}$ -RMN - 1D em torno de 0.005 mg (VERPOORTE & SCHRIPEMA, 1994), para um campo magnético de 300 MHz de frequência de ressonância de próton, a utilização desta técnica para determinar a concentração de *t*-resveratrol em amostras oriundas de vinhos tintos e sucos produzidos em Santa Catarina parece não ser um impedimento à utilização desta técnica como instrumento de identificação daquele composto, conforme demonstrado anteriormente (MARASCHIN *et al*, 2001).

Em função do exposto, neste estudo objetivou-se analisar comparativamente o perfil de composição química das amostras de vinhos catarinenses através do emprego da técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Para tal, os sinais de deslocamentos químicos de compostos de interesse (padrões) foram determinados previamente, sendo posteriormente utilizados como referência para as análises comparativas.

### 3.1.1 Material & Métodos

*Região de coleta de amostras:* Com o intuito de restringir a origem da matéria prima (uva) utilizada na elaboração dos vinhos ao Estado de Santa Catarina, as amostras destes produtos foram coletadas diretamente nos sistemas produtivos da região tradicionalmente produtora, a saber: Vale do Rio do Peixe (Videira, Tangará e Pinheiro Preto - SC). Por solicitação dos fornecedores das amostras, os nomes dos produtos comerciais foram mantidos em sigilo, sendo que a manipulação destes materiais foi feita através de sua codificação.

*Variedades e safras:* Foram considerados nestes estudos a análise dos compostos de interesse a partir de amostras de vinhos da variedade americana *Bordô*, safras 2000, 2001 e 2002. Para efeitos comparativos, três marcas comerciais foram analisadas por variedade e em cada região amostral.

*Comprovação da ocorrência dos compostos de interesse (t-resveratrol, quercetina, ácidos gálico, ferúlico e málico):* Para efeitos de obtenção dos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN das amostras, alíquotas (3 mL) das frações EtOAc *flash*-cromatografadas (vide item 2.2-Material e Métodos) foram concentradas sob fluxo de nitrogênio para remoção do solvente orgânico. As amostras foram ressuspensas em 750  $\mu\text{L}$  de acetona- $\delta_6$  e os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em condição padrão, em equipamento Bruker AC 200 - 4,8 Tesla, utilizando ácido trimetil-silil-propiónico (TMS) como padrão interno (MARASCHIN *et al.*, 2001).

### 3.1.2 Resultados e Discussão

As amostras de vinho Bordô produzidos em Santa Catarina foram averiguadas quanto à presença de compostos (poli)fenólicos de interesse por comparação dos valores de deslocamentos químicos de RMN, os quais foram obtidos através de espectros dos compostos de referência, conforme descrito previamente. Este método permitiu detectar a ocorrência de sinais de ressonância típicos de compostos como ácido gálico ( $\delta_H = 1,11$ ; 1,14 e 1,43 ppm), ácido málico ( $\delta_H = 2,76$ ; 2,8; 2,84; 2,88 e 4,67 ppm), *t*-resveratrol ( $\delta_H = 6,88$  e 6,29 ppm), quercetina ( $\delta_H = 6,4$ ; 6,41; 6,67 e 12,32 ppm) e o ácido ferúlico ( $\delta_H = 6,48$ ; 7,27 e 7,48 ppm). Resultados semelhantes foram encontrados em amostras de vinho Cabernet Sauvignon, oriundas da Serra Gaúcha, através desta técnica (GONÇALVES, 2003).

Na Tabela 22 é possível observar a presença e/ou ausência dos compostos de interesse nas amostras de vinhos analisados. Devido à possibilidade de sobreposição de sinais de deslocamentos químicos nos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, os resultados mostrados na Tabela 22 não são definitivos, na medida em que outros compostos presentes na matriz química em análise podem ocorrer, porém sem terem sido detectados pela técnica espectroscópica em tela. De qualquer forma, os resultados obtidos demonstraram a viabilidade de detecção dos compostos de interesse via espectroscopia de  $^1\text{H}$ -RMN.

**Tabela 22. Compostos de interesse detectados por  $^1\text{H}$ -RMN em amostras de vinhos Bordô, safras 2000, 2001 e 2002, produzidos no Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina.**

COMPOSTOS	VARIEDADE/SAFRA		
	Bordô 2000	Bordô 2001	Bordô 2002
<i>t</i> -Resveratrol	presente	não detectado	presente
Ácido gálico	presente	presente	presente
Ácido ferúlico	presente	não detectado	presente
Ácido málico	presente	presente	presente
Quercetina	presente	não detectado	não detectado

A análise dos fatores que concorrem para explicar os resultados observados é dificultada pela diversidade destes e pela possibilidade de ocorrência de efeitos interativos entre os núcleos dos vários constituintes químicos de cada amostra. Contudo, a abordagem metodológica empregada é interessante quando, por exemplo, se busca a análise comparativa de safras e variedades em relação a um dado padrão de qualidade enológica

e/ou química superior, podendo servir como modelo de análise para a definição de valor do produto. Tal fato foi previamente observado em estudos conduzidos pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal, com a variedade Cabernet Sauvignon, oriunda do Rio Grande do Sul (MARASCHIN, 2003). Assim, e tendo em vista ser o vinho uma matriz complexa, mesmo em amostras com resultados negativos quanto à ocorrência de compostos de interesse nas amostras em estudo, poderão haver concentrações satisfatórias destes compostos porém sem uma correspondente detecção positiva, um fato decorrente do fenômeno de interação entre os núcleos dos compostos alvos e de outras moléculas presentes na solução, por exemplo. Por último, a não detecção de alguns compostos de interesse nas amostras em estudo pode ser decorrente da degradação destes, uma vez que alguns destes são foto-instáveis (*t*-resveratrol, por exemplo), podendo então ocorrer uma redução de concentração de determinado composto a níveis que não permitam sua detecção, *i.e.*, a impossibilidade de geração de uma adequada relação sinal/ruído.

### 3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE

Durante os anos 50, a cromatografia foi utilizada com sucesso por Ribereau-Gayon, com o intuito de separar e identificar determinados compostos presentes nas uvas e nos vinhos (HONG & WROLSTRAD, 1990).

No início dos anos 70, foi desenvolvida a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e, desde então, esta técnica tem sofrido constante evolução. Como exemplo disto, novos métodos foram desenvolvidos, incluindo a cromatografia líquida de fase reversa, o que tem permitido uma melhor separação entre compostos muito similares (LODDER, 2003). De fato, uma significativa melhora nessa técnica no que se refere à separação, identificação, purificação e quantificação de compostos tem sido observada através do acoplamento da CLAE a detectores outros que não o tradicional espectrofotômetro UV-visível, tais como os detectores de fluorescência, de condutividade e de massa, por exemplo (VERPOORTE & MARASCHIN, 2001). Além disto, a automação do processo cromatográfico, o desenvolvimento de programas de análise de dados e os avanços na tecnologia de produção de colunas cromatográficas (micro-colunas, colunas de afinidade, *e.g.*) têm viabilizado melhorias dos processos de separação e identificação via CLAE, garantindo maior reprodutibilidade dos resultados e reduzindo os períodos de análise (LODDER, 2003).

Na década de 80, a CLAE surgiu como uma ferramenta extremamente poderosa para a separação e a quantificação de compostos fenólicos e de antocianinas em vinhos (HONG & WROLSTRAD 1990), tornando-se a técnica de escolha para a separação daqueles compostos químicos (FORUMSCI, 2002; LODDER, 2003).

A CLAE utiliza uma fase móvel líquida para separar os compostos de uma mistura. Estes compostos, são primeiramente dissolvidos em um solvente e após injetados na coluna cromatográfica sob alta pressão onde ocorre a separação dos compostos da mistura (FORUMSCI, 2002).

A qualidade da resolução é muito importante e depende da interação entre os componentes do soluto e a fase estacionária. A fase estacionária é o material inerte da coluna. A interação entre a fase móvel e a fase estacionária pode ser manipulada através de diferentes opções tanto de solventes quanto da fase estacionária. Como resultado disso, a CLAE apresenta um grande grau de versatilidade, o qual não é observado em outros

sistemas de cromatografia e tendo ainda, a habilidade de separar facilmente uma ampla variedade de compostos químicos (FORUMSCI, 2002).

Para a identificação dos compostos fenólicos em vinhos a cromatografia líquida de fase reversa tem sido o método preferencial, o qual utiliza uma fase estacionária não-polar e um sistema solvente polar. A fase estacionária é geralmente um polímero C18 (octadecil) ligado a um suporte de sílica (HONG & WROLSTRAD, 1990). A fase móvel, por sua vez, geralmente consiste de uma solução composta por água, um ácido e metanol ou acetonitrila, este último apresenta uma força da viscosidade mais baixa comparativamente ao metanol (SOMERS & VERETTE, 1988). Em alguns casos, os solventes empregados nesta técnica para evitar a ionização dos ácidos fenólicos geralmente são os ácidos fosfórico, perclórico, fórmico e acético (SOMERS & VERETTE, 1988).

A detecção dos compostos fenólicos é realizada em 360 nm, e requer a filtração das amostras de vinho antes da injeção no cromatógrafo, para separar e identificar as frações monoméricas, oligoméricas e poliméricas da amostra (OSZMAIANSKI *et al.* 1988).

Neste trabalho, a utilização da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência teve como objetivo detectar e posteriormente comparar os perfis espectrais das amostras de vinhos Bordô, Isabel, Seyve Villard e Niágara Branca, oriundos do Vale do Rio do Peixe - SC, no que se refere à presença dos ácidos gálico, cafeico, cinâmico, *p*-cumárico e clorogênico, quercetina e *t*-resveratrol.

### 3.2.1 Materiais & Método

*Região de coleta de amostras:* Com o intuito de restringir a origem da matéria-prima (uva) utilizada na elaboração dos vinhos ao Estado de Santa Catarina, as amostras deste produto foram coletadas diretamente nos sistemas produtivos da região tradicionalmente produtora, a saber: Vale do Rio do Peixe (Videira, Tangará e Pinheiro Preto - SC). Por solicitação dos fornecedores das amostras, os nomes dos produtos comerciais foram mantidos em sigilo, sendo que a manipulação destes materiais foi feita através de sua codificação.

*Variedades e safras:* Os estudos consideraram a análise dos compostos de interesse a partir de amostras de vinhos de variedades americanas (*Isabel, Bordô e Niágara Branca*) das safras 2000, 2001 e 2002. Para efeitos comparativos, três marcas comerciais foram analisadas por variedade e em cada região amostra.

*Análise dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE):* As frações EtOAc (vide item 2.3.1- Material e Métodos) foram concentradas sob fluxo de N<sub>2</sub> ao abrigo da luz, ressuspensas em MeOH 70 % (ca. 300 µL) e filtradas (0,22 µm). Alíquotas (10 µL) de cada amostra foram analisadas em cromatógrafo líquido (Shimzadu LC-10A), equipado com coluna C<sub>18</sub> (Shim-Pack CLC-ODS, 25 cm x 4,6 mm Ø) e detector espectrofotométrico UV-visível operando em dupla leitura (Ch<sub>1</sub> = 280nm, Ch<sub>2</sub> = 225nm). A eluição utilizou H<sub>2</sub>O:AcOH:η-BuOH (350:1:10, v/v/v) como fase móvel, com fluxo de 0,8 mL/min e a identificação dos compostos de interesse (*i.e.*, ácidos gálico, ferúlico, cafeico, cinâmico, clorogênico, *p*-cumárico e *t*-resveratrol) foi feita com base nos tempos de retenção obtidos a partir da análise de amostras padrões, sob as mesmas condições experimentais. Para quantificação dos ácidos fenólicos, calculou-se a integral da área dos picos correspondentes, atribuindo-se à área total do cromatograma o valor de 100%.

### 3.2.2 Resultados e Discussão

Os valores de concentração dos compostos fenólicos obtidos via CLAE nas amostras de vinhos em estudo são mostrados na Tabela 23 e evidenciam a ocorrência de perfis diferenciados para cada amostra.

**Tabela 23. Concentração (mg/L) de compostos fenólicos de interesse em amostras de vinhos catarinenses, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).**

Vinhos/Compostos	Ácido Gálico	Ácido Cinâmico	Quercetina	<i>trans</i> - Resveratrol	Ácido Cumárico	Ácido Caféico
<b>Bordô 2002</b>	8,32	5,80	1,44	3,25	2,28	7,32
<b>Isabel 2002</b>	3,45	5,10	4,39	1,17	2,60	4,62
<b>Seyve 2001</b>	8,55	4,34	2,90	4,25	1,14	5,20
<b>Niágara Branca 2002</b>	0,15	0,14	0,76	0,71	0,09	*
<b>TOTAL (mg/L)</b>	<b>20,47</b>	<b>15,38</b>	<b>9,49</b>	<b>9,38</b>	<b>6,11</b>	<b>17,14</b>

Os resultados obtidos indicam que os ácidos gálico, caféico e cinâmico representam os principais constituintes fenólicos destes vinhos, com valores de concentração total de 20,47 mg/L, 17,14 mg/L e 15,29 mg/L, respectivamente, entre as safras. Para o estilbeno *t*-resveratrol, a concentração nos vinhos tintos apresentou uma amplitude de variação de 1,17 mg/L a 4,25 mg/L, sendo que a variedade Seyve Villard apresentou valor superior em 1,0 e 3,08 ordens de magnitude em relação às variedades Bordô e Isabel, respectivamente, mostrando-se uma variedade com potencial exploratório no que se refere às propriedades medicinais deste composto. A amostra de vinho Niágara Branca, por sua vez, apresentou concentrações dos compostos de interesse inferiores às demais amostras, um fato esperado em função de ser esta variedade não-tintória. Estes resultados são semelhantes ao encontrado na literatura, especialmente no que se refere ao estilbeno *t*-resveratrol, cuja concentração foi satisfatória (0,71 mg/L), comparativamente aos valores observados, por exemplo, para variedades viníferas (*i.e.* Chardonnay - 0,48 a 1,24 mg/L), segundo Romero-Perez *et al.* (1996).

Dados de concentração de *t*-resveratrol, determinados por CLAE, em vinhos tintos finos apontam valores de 0,157 mg/L em vinhos japoneses (OKUDA & YOKOTSUKA, 1996) e 2,46 mg/L em vinhos californianos (McMURTREY, 1997). Estudo similar realizado por Souto *et al.* (2001) com vinhos finos brasileiros mostrou uma variação de 0,82 a 5,75 mg/L para vinhos da variedade Cabernet Sauvignon e Sangiovese respectivamente. Assim, e comparativamente às informações encontradas na literatura, os

valores obtidos neste estudo com vinhos catarinenses mostram que as uvas de variedades labruscanas apresentam concentrações satisfatórias de *t*-resveratrol. Assim, é de importância ressaltar que os dados de concentração de *t*-resveratrol em vinhos de consumo corrente produzidos em Santa Catarina são similares aos observados em vinhos finos tintos, a despeito do fato de serem variedades pouco estudadas quanto ao parâmetro em tela, não havendo pesquisas relacionadas à genética, tratos culturais e vinificação destas uvas, com o intuito de potencializar a síntese, concentração e estabilidade de compostos de interesse à saúde humana, i.e., *t*-resveratrol, por exemplo, aumentando assim a qualidade destes produtos.

### 3.3 Conclusões

Os teores de compostos benéficos à saúde humana obtidos nos vinhos catarinenses através da CLAE mostraram-se satisfatórios se comparados a dados encontrados na literatura.

A análise por cromatografia líquida e espectrometria de  $^1\text{H}$ -RMN de amostras de vinhos de *Vitis labrusca*, produzidos em Santa Catarina, pode ser uma estratégia apropriada para efeitos de estudos comparativos do perfil de constituintes químicos destas matrizes complexas.

Os dados obtidos sugerem a possibilidade de valorização do produto como fator de marketing, devido ao grande interesse popular por alimentos e bebidas funcionais, os quais trazem os benefícios da ingestão de compostos com atividades profiláticas/terapêuticas.

### 3.4 Referências Bibliográficas

AIRES DE SOUSA J. Verifying wine origin: a neural network approach. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47 : 410–414. 1996.

ARAÚJO, PS, *et al.* *Anais VIII Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear – I Encontro Luso-Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear*. Mangaratiba/RJ. AUREMN, p. 225-226. 2001.

CHU, Q; O'DWYER, M; ZEECE, MG. Direct analysis of resveratrol in wine by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46(2): 509-513. 1998.

ERNST, RR. Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. Oxford University Press, New York. 1987.

FERREIRA, AG *et al.* *Anais VIII Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear – I Encontro Luso-Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear*. Mangaratiba/RJ. AUREMN, p. 275-276. 2001.

FINGER, A. *et al.* Flavonol glycosides in tea: Kaempferol and quercetin rhamnodiglucosides. *Journal of Science Food Agriculture* 55: 313-322. 1991.

FORUMSCI – Forum Scientific Education (2002) *High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Course*. Disponível em: <http://www.forumsci.co.il/HPLC/program.html>. Acessado em: abr. 2003.

GERMAN JB & WALZEM RL. The health benefits of wine. *Annual Reviews of Nutrition*, 20:469–474. 2000.

GONÇALVES, VZ. *Caracterização química de vinhos e mostos elaborados a partir da variedade americana Bordô, cultivada no Vale do Rio do Peixe-SC*. Monografia B.Sc., Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

HONG, V, & WROLSTRAD, RE. Use of CLAE separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 38:708-715. 1990.

HORNAK, JP. (1997). The Basics of RMN. Disponível em: <http://www.cis.rit.edu/> Acessado em: set. 2002.

JEANDET, P, *et al.* HPLC analysis of grapevine phytoalexins coupling photodiode array detection and fluorometry. *Analytical Chemistry*, 69: 5172–5177. 1997.

JEANDET, P, *et al.* Occurrence of a resveratrol a-D-glucoside in wine: Preliminary studies. *Vitis*, 33: 183-184. 1994.

LACEY, ME, *et al.* High-resolution NMR spectroscopy of sample volumes from 1 nL to 1 µL, *Chemistry Reviews*, 99:3133–3152. 1999.

LANGCAKE, P & PRYCE, RJ. The Production of Resveratrol by *Vitis vinifera* and Other Members of the Vitaceae as a Response to Infection or Injury. *Physiology Plant Pathology*, 9: 77-86. 1976.

LODDER, RA. Analytical spectroscopy research group. *High performance liquid cromatografia (CLAE): A users guide*. Disponível em: <http://www.pharm.uky.edu/default.html> Acessado em: abr. 2003

LORIMIER, AA. Alcohol, wine, and health. *American Journal of Surgical Pathology*, 180: 357-361. 2000.

MALOVANÁ, S, *et al.* Optimisation of sample preparation for the determination of trans-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 428: 245-253. 2001.

MARASCHIN, RP. *Caracterização química de vinhos Cabernet Sauvignon produzidos na região da Serra Gaúcha, RS. (Ênfase em compostos fenólicos)*. Dissertação (Mestrado Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

MARTIN, GJ; DAY, MP; ZHANG, B. Determination of the geographical origin of wine using joint analysis of elemental and isotopic composition. *Journal of Science Food Agriculture* 67 : 113-123. 1995.

MARTIN, GJ, *et al.* Identification of the origin of natural alcohols by natural abundance hydrogen-2 nuclear magnetic resonance. *Analytical Chemistry* 54 : 2380-2382. 1982.

MATTIVI, F; RENIERO, F; KORHMMER, S. Isolation, Characterization, and Evolution in Red Wine Vinification of Resveratrol Monomers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43: 1820-1823. 1995.

MCMURTREY, K.D. *Resveratrol in wine*. Watkins, T.R. ed. Wine-nutritional and therapeutic benefits. American Chemical Society Symposium Series. Washington, American Chemical Society; 44-55p. 1997

NILGES, M & SATTLER, M (2001). EMBO practical course 2001: Structure determination of biological macromolecules by solution NMR. Disponível em: <http://www.embl-heidelberg.de/nmr/> Acessado em: jan. 2003.

OLTRAMARI, AC *et al.* *Anais VIII Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear – I Encontro Luso-Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear*. Mangaratiba/RJ. AUREMN, p. 105-106. 2001

OLTRAMARI, AC, *et al.* *Anais VI Jornada Brasileira de Ressonância Magnética*, Belo Horizonte/MG. AUREM. p.115 -116. 2000.

OKUDA, T; YOSHIDA, T; HATANO, T. Application of centrifugal partition chromatography to tannins and related polyphenols. *Journal of Liquid Chromatography*, 11: 2447-2454. 1988

OSZMAIAN, J.; RAMOS, T; BOURZEIX, M. Fractionation of phenolic compounds in red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39:259-262. 1988.

PEZET, R; PONT, V; CUENAT, P. Method to determine resveratrol and pterostilbene in grape berries and wines using HPLC and highly sensitive fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, 663: 191-197. 1994.

REVILLA, E & RYAN, JM. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection without sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 881: 461-469. 2000

REVILLA, E. *et al.* Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them *Journal of Chromatography A*, 915:53-60. 2001.

ROBERTS, EA *et al.*. The flavonols of tea. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 7: 637-646. 1956

ROMERO-PEREZ, AI *et al.* Levels of cis- and trans-resveratrol and pived isomers in rose and white *Vitis vinifera* wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 2124-2128. 1996.

SÁRDI, É. *et al.* Proc. VII Int. Symp. on Grapevine and Breeding. In: *Acta Horticulturae* 528: 597-603. 2000.

SAUVAGE, L, *et al.* Trace metal studies of selected white wines: an alternative approach. *Analytica Chimica Acta*, 458 :223–230. 2002.

SIEMANN, EH & CREASY, LL. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43: 49-53. 1992.

SILVERSTEIN RM, BASSLER G, MORRILL TC. Spectrometric identification of organic compounds. 5<sup>th</sup> ed. Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro-RJ. 1994. 387p.

SOMERS, TC & VERETTE, E. Phenolic Composition of Natural Wine Types In: *Modern Methods of Plant Analysis, Wine Analysis.*, Linskens, H.F., and Jackson, J.F., Eds., Springer-Verlag, Berlin. pp219-257. 1988.

SOUTO, AA., *et al.* Determination of trans-resveratrol concentration in Brazilian red wines by HPLC. *Journal of Food Composition Analysis*, 4:441-445. 2001.

THE UNIVERSITY OF YORK – Department of Chemistry. *External Analytical Services*. Disponível em: <http://www.york.ac.uk/depts/chem/> Acessado fev. 2003.

VERPOORTE, R & SCHRIPSEMA, J. *The Alkaloids*, 15: 1-22. 1994

VERPOORTE, R & MARASCHIN, M. Aplicações da cromatografia líquida e espectrometria de massa na análise de metabólitos secundários vegetais em biomedicina. *In: Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna* (Yunes, RA & Calixto, JB – Eds), Argos Editora Universitária, pp. 147-193, 2001.

VIZZOTO, L *et al.* *Anais VIII Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear – I Encontro Luso-Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear.* Mangaratiba/RJ. AUREMN, p. 161-162. 2001.

VOGELS, JTWE, *et al.* A new method for classification of wines based on proton and carbon-13 NMR spectroscopy in combination with pattern recognition techniques. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems: Laboratory Information Management*, 21 (1):249-258. 1993.

WÜTHRICH, K. *NMR of proteins and nucleic acids.* Wiley, New York. 1986.

## Perspectivas

Para o aprofundamento deste estudo, faz-se necessário um acompanhamento das práticas de manejo dos vinhedos, bem como das práticas enológicas realizadas durante o processo de vinificação, pois estas, além dos fatores edafoclimáticos, exercem grande influência na qualidade e na composição química final dos vinhos.

Além do exposto anteriormente, observa-se a necessidade de estudos biotecnológicos para o desenvolvimento de leveduras apropriadas para a vinificação de uvas *Vitis labrusca*, podendo assim, ser potencializada a obtenção de alguns compostos de interesse para a vitivinicultura e saúde humana, como por exemplo o *t*-resveratrol.