

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO BACHARELADO EM QUÍMICA

MARIANA EMIKO LIMAS

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS MAJORITÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM VINHOS TINTOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA
2016

MARIANA EMIKO LIMAS

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS MAJORITÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM VINHOS TINTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de TCC 2, do Curso Superior de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk

CURITIBA
2016

MARIANA EMIKO LIMAS

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS MAJORITÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM VINHOS TINTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – PROF^a. DR^a. DANIELLE CAROLINE SCNITZLER
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Membro 2 – PROF. DR. LUIZ MARCOS DE LIRA FARIA
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientador – PROF. DR. CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK
Departamento Acadêmico de Química e Biologia, (UTFPR)

Coordenadora de Curso – PROF^a. DR^a. DANIELLE CAROLINE SCNITZLER

Curitiba, 16 de junho de 2016.

*Aos meus pais Luis Renato e Marli, à minha irmã Letícia
e a minha tia Nair pelo amor, carinho,
paciência e apoio incondicional em todos os
momentos de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus pais Luis Renato e Marli, por terem me colocado no mundo e terem me ensinado da melhor forma possível como agir frente aos desafios da vida. Agradeço pelo amor incondicional, por toda paciência e por acreditarem sempre no meu potencial. Agradeço por terem me educado, aconselhado e quererem sempre o melhor para mim.

À minha irmã Letícia, que esteve presente ao meu lado na maior parte do tempo em que estive na faculdade, tendo tido paciência e conseguido me arrancar risos, ainda que inocentemente, quando tudo parecia dar errado.

Aos amigos que fiz na faculdade; Bia, Mari, Fran, Nathália, Camila Gama, Andressa, Morgana e Luiz e Cleyton, que estiveram ao meu lado nas semanas complicadas de prova, mas que ao mesmo tempo compartilharam comigo risos e histórias.

À Marcela, Shirley e Thaianna por fecharem, por um bom tempo, com chave de ouro meus domingos, me ouvirem e aconselharem, mesmo quando não havia muito o que ser dito; por torcerem pelo meu sucesso, mesmo de longe.

Aos meus eternos e queridos flatmates, Renata e Gregori, por me fazerem sentir saudades diariamente e terem feito de Budapeste minha segunda casa; terem sido/ainda serem minhas referências, toda paciência, ajuda e parceria no desbravar do mundo exterior e interior.

À Juliana, por todo carinho; por ter feito parte da melhor época do meu intercâmbio.

Às Alines, Sarah, Julia, Hellen, Dani e Saullo, pelas risadas e histórias ímpares que para sempre ficarão marcadas.

À Aryadne, por todo o apoio, companheirismo, dedicação e paciência neste último ano.

À Débora, pela minha primeira oportunidade de estágio, pelos incentivos e conselhos.

Aos professores do DAQBI, em especial ao Charles, por ter aceitado me orientar e confiado no meu potencial, mesmo sabendo das minhas limitações de tempo. À Dani, por ter sido minha primeira orientadora de iniciação científica e por ter me incentivado sempre a buscar o conhecimento.

E a todos que de alguma forma colaboraram com este trabalho.

*“Por mais raro que seja, ou mais antigo,
Só um vinho é deveras excelente:
Aquele que tu bebes docemente
Com o teu mais velho e silencioso amigo...”
(Mário Quintana, 1906-1994)*

RESUMO

LIMAS, Mariana E. Determinação de compostos bioativos majoritários e atividade antioxidante em vinhos tintos. 2016. Resumo de TCC – Bacharelado em Química Tecnológica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2016.

Nas últimas décadas, ocorreu a crescente popularização do chamado “paradoxo francês”. Este paradoxo pode ser atribuído em parte ao alto consumo de vinho, rico em compostos bioativos, o que motiva pesquisas nessa área. O objetivo deste estudo foi avaliar vinhos tintos de mesa (suave e seco) de produção local de Curitiba e da Região Metropolitana em função da presença de compostos fenólicos totais (CFT), flavonóides (TFC), antocianinas monoméricas (AMT) e capacidade antioxidante. A análise de correlação de Pearson foi realizada entre todos os resultados obtidos e os mesmos foram submetidos também à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey, com um nível de significância de 5%. O conteúdo CFT apresentou correlação direta com o teor de TFC (0,9421, com p-valor de 0,00000465) e capacidade antioxidante através do método DPPH (0,6267, com p-valor de 0,0292); AMT se apresentou inversamente correlacionada à CFT e TFC; já o ensaio antioxidante ABTS não apresentou uma boa correlação com o CFT, indicando que há baixa associação entre eles. De maneira geral, as amostras de Tinto Seco apresentaram maiores concentrações de compostos bioativos nas análises, o que pode ser explicado pelas condições que envolvem a produção deste tipo de vinho influenciando na quantificação dos parâmetros no produto final. Alguns compostos fenólicos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com arranjo de diodos (CLAE), sendo a catequina o composto mais abundante em todas as amostras. Os ácidos siríngico e vanílico apresentaram concentrações dentro das esperadas pela literatura. Da mesma maneira, tanto para Tinto Suave quanto para Tinto Seco, o resveratrol apresentou valores correlatos. Fatores como pressão de prensagem, tempo de maceração, espécie ou fatores climáticos podem influenciar nos resultados obtidos neste estudo.

Palavras chave: Vinho tinto de mesa. Compostos fenólicos totais. Antioxidantes.

LISTA DE SIGLAS

A	Bordô Adegas Mariano
ABTS	2,2'-azino-bis(ácido-3-etilbenzotiazolone-6-sulfônico)
Am	Mistura de uvas Adegas Mariano
AMT	Antocianinas monoméricas totais
AOAC	Association of official Analytical Chemists
B	Tannat Zanlorenzi
Bz	Mistura de uvas Zanlorenzi
C	Cabernet Sauvignon Dall'armi
Cd	Mistura de uvas Dall'armi
CE	Catequina equivalente
CF	Compostos fenólicos
CFT	Compostos fenólicos totais
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a arranjo de diodos
D	Tannat Santa Felicidade
DAD	Arranjo de diodos
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
Ds	Mistura de uvas Santa Felicidade
E	Merlot Durigan
Ed	Mistura de uvas Durigan
ESR	Ressonância de spin do elétron
ET	Transferência de um único elétron
F	Merlot Araucária
Fa	Mistura de uvas Araucária
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
HAT	Transferência de átomo de hidrogênio
ORAC	Capacidade de absorção do radical oxigênio
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SET	Transferência de elétron
TE	Trolox equivalente
TFC	Flavonoides totais

Sumário

1. INTRODUÇÃO..	10
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVOS	13
3.1. Objetivo Geral	13
3.2. Objetivos Específicos	13
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
4.1. O vinho e sua história.....	14
4.2. O processo de fabricação	15
4.2.1. Variedades de uva.....	15
4.2.2. Etapas da produção	17
4.2.3. Tipos de vinho	20
4.3. Antioxidantes.....	21
4.4. Compostos bioativos	24
4.4.1. Compostos fenólicos.....	24
4.4.1.1. Ácidos fenólicos	27
4.4.1.2. Flavonóides.....	28
4.4.1.3. Estilbenos	30
4.5. Métodos analíticos	30
4.5.1. Compostos fenólicos totais	31
4.5.2. Antocianinas monoméricas totais	32
4.5.3. Antioxidantes	33
4.5.4. Cromatografia líquida de alta eficiência	34
5. METODOLOGIA	36
5.1. Amostras.....	36
5.2. Limpeza de materiais	37
5.3. Análise dos CFT.....	37
5.4. Análise dos flavonóides totais (TFC).....	38
5.5. Análise das antocianinas monoméricas totais (AMT).....	38
5.6. Determinação da atividade antioxidante in vitro.....	39
5.6.1. ABTS•+ (2,2'-azino-bis(ácido-3-etilbenzotiazoline-6-sulfônico).....	39
5.6.2. DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	40
5.7. Análise dos compostos fenólicos por CLAE-DAD	40
5.8. Análises estatísticas.....	41
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
7. CONCLUSÃO	57
8. REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

O enfoque dado às propriedades benéficas e o aumento de adeptos em relação ao consumo de derivados de uva tem sido bastante difundido entre os que visam uma melhora na qualidade de vida/longevidade. O interesse maior está nas substâncias denominadas compostos fenólicos (CF), que são encontrados em diversos alimentos, especialmente na uva e seus derivados (KIM, 2003).

Segundo dados da União Brasileira de Vitivinicultura – Uvibra e do Instituto Brasileiro do Vinho – Ibravin, no ano de 2015, a produção de vinhos, sucos e derivados no Rio Grande do Sul (o estado pode ser usado como referência para o país, devida elevada representatividade na produção de suco de uvas e vinhos) foi 15,38% superior à verificada em 2014. Majoritariamente, a produção de vinho tinto representa um aumento de 7,63% e a comercialização deste teve aumento de 1,81% (Uvibra; Ibravin).

Nas últimas décadas, os efeitos do consumo saudável de vinho têm sido objetos de muitos estudos. Este consumo pode reduzir o risco de doenças crônicas, como as cardiovasculares e o câncer. Os vinhos tintos são considerados os que possuem maior efeito preventivo se comparados com os brancos e rosés, devido ao alto conteúdo de espécies antioxidantes liberado das sementes e cascas das uvas. Suas quantidades dependem, em parte, do tempo de contato entre as cascas e o mosto, mas também do tipo da uva, das condições de vinificação e das práticas enológicas (DEFRAIGNE, 2014).

Esta eficiência antioxidativa é atribuída aos compostos bioativos, especialmente os CF. Estes constituem um dos mais importantes parâmetros para medição da qualidade do vinho, uma vez que contribuem para características como sabor, aparência, fragrância, adstringência e propriedades antimicrobianas (GONZÁLES-SANJOSÉ, 2008).

São conhecidos mais de 8000 CF, variando de moléculas simples a estruturas poliméricas com elevado peso molecular, ocorrendo mais abundantemente nos vinhos tintos (1000 - 4000 mg L⁻¹). Os CF englobam uma série ampla de compostos subdivididos em diversos grupos de acordo com a sua estrutura química, mas basicamente possuem uma ou mais hidroxila

ligadas ao anel benzênico. Esta estrutura permite aos CF a ação antioxidante, buscando e neutralizando os radicais livres (LU, M. et al.,2011).

Estudos como os de Rivero-Pérez et al. (2008) sugerem que dentre os CF as antocianinas podem ser um dos mais importantes responsáveis pela capacidade antioxidante do vinho tinto, uma vez que são muito reativas e possuem implicações biológicas nos processos oxidativos das biomoléculas.

Devido ao fato de não haver um procedimento padrão, um grande número de métodos analíticos para detecção da capacidade antioxidante de alimentos e bebidas tem sido aplicado. Metodologias simples e rápidas como ABTS (2,2'-azino-bis(ácido-3-etilbenzotiazoline-6-sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ORAC (Capacidade de absorção do radical oxigênio) são comumente utilizadas para quantificação de antioxidantes em amostras de vinhos. Outros métodos incluem FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro), eletroquímica e ESR (ressonância de spin do elétron). O conteúdo de fenólicos total é geralmente feito através do método de Folin-Ciocalteu e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido utilizada para análises mais detalhadas de componentes fenólicos em diversas matrizes, para análises quantitativas e/ou qualitativas.

2. JUSTIFICATIVA

A motivação para que a determinação de compostos bioativos majoritários e atividade antioxidante em vinhos tintos fosse feita é proveniente da crescente popularização do chamado “paradoxo francês”, nas últimas décadas, o que incentiva pesquisas nessa área. Na maioria dos países, a elevada ingestão de gordura saturada está relacionada com a alta mortalidade por doença cardíaca coronária. No entanto, a situação na França é paradoxal: há alto consumo de gordura saturada, porém baixa taxa de mortalidade por doença coronária. Este paradoxo pode ser atribuído em parte ao alto consumo de vinho (LORGERIL, M.; RENAUD, S., 1992).

Os CF encontrados nele encontrados agem como antioxidantes diminuindo as reações de peroxidação lipídica, desempenhando um papel benéfico na proteção cardiovascular (BATLOUNI, 2006). Os flavonóides têm ação anti-inflamatória, antialérgica e anticancerígena, inibem a síntese do colesterol endógeno, diminuem a agregação plaquetária e reduzem os problemas trombóticos (NÚÑEZ-SELLÉS, 2005). Além disso, o consumo moderado do vinho tinto pode diminuir os índices de doenças coronárias em até 60% (RIBEIRO; MAFROI, 2010); o resveratrol bloqueia o efeito danoso dos radicais livres e apresenta atividade antiagregante plaquetário (SOARES FILHO; CASTRO; STAHLSCMIDT, 2011).

É uma das mais nobres bebidas alcoólicas e, entre os países com maior produção e consumo são mencionados Vaticano, França, Itália, Espanha e Argentina. Comparativamente, no Vaticano o consumo per capita (2014) foi de 54,26 litros; no Brasil, este consumo foi de 1,7 litros (Wine Institute). Aqui, a Serra Gaúcha é responsável por 90% da produção nacional da bebida (GÓES, 2005).

Em Curitiba e Região Metropolitana, a forte colonização italiana favorece a existência das pequenas vinícolas. Estas apresentam boas estruturas, sendo bem frequentadas graças à existência de roteiros turísticos. O vinho nelas produzido possui baixo valor agregado e a facilidade na aquisição de amostras contribuiu para escolha das matrizes a serem analisadas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Determinar os compostos bioativos majoritários e a atividade antioxidante em amostras de vinhos tintos de mesa comercializados em Curitiba e Região Metropolitana;

3.2. Objetivos Específicos

- Quantificar os compostos fenólicos totais, flavonóides e antocianinas monoméricas em vinhos tintos de mesa através de técnicas colorimétricas;
- Avaliar a atividade antioxidante dos vinhos tintos através dos métodos de captura de radicais (ABTS, DPPH);
- Quantificar os compostos fenólicos majoritários através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD);

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1. O vinho e sua história

Segundo definição constante na legislação vitivinícola do Mercosul (a qual o Brasil é signatário), vinho é exclusivamente a bebida que resulta da fermentação alcoólica completa ou parcial da uva fresca, esmagada ou não, ou do mosto simples ou virgem, com um conteúdo de álcool adquirido mínimo de 7% (v/v a 20°C) (EMBRAPA, 2009).

Não há dúvida que a cadeia produtiva do vinho é uma das mais complexas do agronegócio, não somente pelos inúmeros aspectos qualitativos e pelas influências do ambiente e da tecnologia de produção, mas também, de forma marcante, pela versatilidade da matéria-prima na elaboração de um expressivo elenco de produtos derivados (HOFFMANN, 2008).

A história do vinho se confunde com a história da própria civilização e não se sabe quando, exatamente, ele foi criado. O homem, como nós o conhecemos hoje, aparece em reproduções e artefatos antigos segurando uma jarra de vinho. Pinturas egípcias do século XV a.C. já representavam a pisa da uva sob uma parreira (BURIN, 2003).

O vinho faz parte de várias culturas, como por exemplo, a grega, a qual cultua o Baco, deus do vinho. Com as conquistas gregas e a expansão do domínio territorial o vinho chega à França e à Itália. Supõe-se que há 2000 anos, os italianos bebiam um vinho muito semelhante aos atuais: seco ou forte (BURIN, 2003).

Já no Brasil, o vinho tem sua presença registrada na história desde a época em que a esquadra portuguesa, que partiu de Lisboa, em 1500, liderada por Pedro Álvares Cabral, o incluiu em seu estoque de mantimentos. A presença a bordo dessa bebida se fazia necessária não somente para seu consumo nas refeições, mas, também, por razões religiosas e culturais, pois o vinho era vital para que os frades realizassem os ritos religiosos. Além disso, por suas qualidades antissépticas, era, também, utilizado como um elemento curativo (MELLO, 2007).

Em 1530, Brás Cubas, viticultor experiente, cultivou vinhas e fundou a cidade de Santos, porém o clima litorâneo paulista não favoreceu a viticultura.

Em 1875 os imigrantes italianos chegam ao Brasil e colonizam as terras do Rio Grande do Sul. A indústria vitivinícola nacional tem no Rio Grande do Sul sua grande referência, pois ali se produz 90% do vinho brasileiro e residem 80% das famílias ligadas à vitivinicultura no Brasil (ORTEGA; JEZIORNY, 2011).

No Paraná, em 1872, chegam os primeiros italianos em Paranaguá, os quais subiram a serra chegando em Curitiba. Em 1878 inicia-se a colônia Santa Felicidade (DURIGAN, 2015).

A viticultura é uma atividade recente no Brasil, principalmente no seu segmento de vinhos finos. A expansão do vinho no país, nas últimas décadas, leva os produtores nacionais a buscarem qualidade nos seus vinhos, para atender o desejo de um número crescente de consumidores, o que implica novos e maiores desafios a serem vencidos em face do maior rigor do controle de qualidade dos produtos oferecidos (LARENTIS, 2014).

4.2. Processo de fabricação

Os elementos, principalmente, temperatura, umidade e radiação solar, exercem grande influência sobre o desenvolvimento, produção e qualidade da uva destinada à elaboração de vinhos. Essa influência se dá em todos os estágios da videira: desde o repouso vegetativo (inverno), a brotação, a floração, a frutificação, crescimento das bagas (primavera), a maturação (verão) até a queda das folhas (outono). Cada estágio fenológico necessita de quantidade adequada de luz, água e calor para que a videira possa se desenvolver e produzir uvas de qualidade (EMBRAPA, 2009).

Após a produção das uvas, é necessária a vinificação, que é o conjunto de procedimentos e processos empregados para a transformação da uva madura em vinho. Engloba as fases de fermentação e estabilização (EMBRAPA, 2009).

4.2.1. Variedades de uva

No mundo, há milhares de variedades de uva. A maioria delas pertence à espécie *Vitis vinifera*, originária da região do Cáucaso. Foi na costa

mediterrânea que, ao longo de séculos de cultivo, foram selecionadas variedades de *Vitis vinífera* destinadas à elaboração de vinhos. Elas consagram-se pela ampla capacidade de adaptação e pelas características dos vinhos que originam. Algumas, de adaptação mais restrita, permaneceram em suas regiões de origem, proporcionando a elaboração de produtos típicos e exclusivos (EMBRAPA, 2009).

O Brasil, juntamente com Chile, Argentina, Estados Unidos, África do Sul, Austrália e outros, pertence ao novo mundo vitivinícola, cuja base de produção são variedades importadas dos tradicionais países produtores da região mediterrânea. Em geral, são variedades cujos vinhos gozam de renome internacional como varietais. Existem também variedades cuja adaptação e qualidade dos vinhos a que dão origem se destacaram em determinadas condições específicas dos novos países vitivinícolas (EMBRAPA, 2009).

A vitivinicultura brasileira nasceu e cresceu baseada nas chamadas uvas comuns, variedades das espécies *Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*, americanas, usadas para a elaboração de vinhos de mesa. Entretanto, a partir de meados do século XX começaram a ser elaborados vinhos finos, com uvas de variedades de *Vitis vinifera*, também conhecidas como uvas finas. As principais variedades deste grupo cultivadas no Brasil são apresentadas a seguir (EMBRAPA, 2009).

Cabernet Franc é uma variedade francesa da região de Bordeaux. Foi introduzida no Rio Grande do Sul, por volta de 1900. Nas décadas de 1970 e 1980, tornou-se a base dos vinhos finos tintos brasileiros. A partir daí, foi superada pelas cultivares 'Cabernet Sauvignon' e 'Merlot' nos novos plantios de uvas tintas finas (EMBRAPA, 2009).

A variedade 'Cabernet Franc' adapta-se bem às condições da Serra Gaúcha, é medianamente vigorosa e bastante produtiva, proporcionando colheita de uvas de boa qualidade. Em anos menos chuvosos, durante o período de maturação, o vinho produzido é mais encorpado e tem coloração mais intensa, evoluindo qualitativamente após envelhecimento (EMBRAPA, 2009).

Cabernet Sauvignon é de uma antiga variedade da região de Bordeaux, França. Hoje, é plantada com sucesso em muitos países vitícolas. A

partir do final da década de 1980, com o incremento da produção de vinhos varietais, esta variedade começou a se destacar (EMBRAPA, 2009).

Atualmente, é a vinífera tinta mais importante do Rio Grande do Sul e vem sendo ampliado seu cultivo no Vale do São Francisco e em novos pólos, como o de São Joaquim, em Santa Catarina, que apostam nesta variedade. É uma planta muito vigorosa e medianamente produtiva. O vinho de 'Cabernet Sauvignon' é mundialmente conhecido pelo seu caráter varietal, com intensa coloração, riqueza em taninos e complexidade de aroma (EMBRAPA, 2009).

Merlot pode ser considerada como uma variedade originária do Médoc, França, onde já era cultivada em 1850. Expandiu-se para outras regiões da França e para muitos outros países vitícolas, tornando-se uma variedade cosmopolita. Esta variedade foi uma das cultivares básicas para a Companhia Vinícola Riograndense firmar o conceito dos seus vinhos finos varietais (EMBRAPA, 2009).

Nos últimos anos, juntamente com a 'Cabernet Sauvignon' é uma das viníferas tintas mais plantadas no mundo. É uma cultivar muito bem adaptada às condições do sul do Brasil, sendo cultivada também em Santa Catarina. Origina vinho de alta qualidade, consagrado como varietal (EMBRAPA, 2009).

A 'Tannat' é originária da região do sul França, onde está sua maior área de cultivo. É uma variedade de médio vigor, bastante produtiva; apresenta bom potencial glucométrico e comporta-se bem em relação às doenças fúngicas. O vinho de 'Tannat' é rico em cor e em extrato, servindo para corrigir as deficiências, destas características, em outros vinhos de vinífera. Também tem sido comercializado, com sucesso, como vinho varietal. Por ser um vinho bastante adstringente, necessita de envelhecimento (EMBRAPA, 2009).

4.2.2. Etapas de produção

As principais etapas na elaboração de vinhos tintos são: colheita, recepção e análise da uva, desengace e esmagamento, sulfitação do mosto, adição de enzimas pectinolíticas, debourbagem ou desborra, adição de leveduras, correção de açúcar ou chaptalização, fermentação alcoólica, maceração, remontagens, separação das fases, prensagem do bagaço, fermentação malolática, trasfegas, atostos, sulfitação, filtrações, estabilização

em barricas de madeira, cortes, engarrafamento e envelhecimento na garrafa (EMBRAPA, 2009).

As etapas de colheita, recepção e análise da uva são realizadas manualmente e o grau glucométrico é determinado, para fins de cálculo do potencial alcoólico e de eventuais correções (EMBRAPA, 2009).

Durante o desengace e esmagamento, a separação do engaço das bagas é efetuada com a finalidade de limitar a adstringência, o amargor e o gosto desagradável de herbáceo e de secura do vinho. O esmagamento das uvas tem como finalidade liberar o suco contido na polpa e facilitar a dissolução da matéria corante durante a maceração (EMBRAPA, 2009).

O uso de dióxido de enxofre para fim antioxidante e bactericida é uma prática bastante antiga. No mosto ocorre um equilíbrio entre as várias formas químicas do produto, sendo o SO_2 a forma mais eficaz no controle do crescimento de leveduras e bactérias. Durante a vinificação, faz-se novas sulfitações, visando corrigir os teores de SO_2 , uma vez que diminuem por evaporação ou por reações químicas (EMBRAPA, 2009).

A utilização de enzimas pectinolíticas aumenta o rendimento da uva em mosto, facilita a filtração e a clarificação de mostos e vinhos e contribui para a obtenção de vinhos mais límpidos. Os preparados enzimáticos comerciais aumentam a extração dos compostos fenólicos (principalmente antocianinas), pela desagregação da parede das estruturas celulares que as estocam na película da uva (EMBRAPA, 2009).

Na moderna enologia, não se concebe a elaboração de vinho sem o uso de leveduras selecionadas. As leveduras são os microorganismos que transformam o açúcar contido no mosto em álcool etílico. São, portanto, os agentes biológicos da vinificação. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem a capacidade de transformar totalmente os açúcares da uva em álcool etílico e outros compostos (EMBRAPA, 2009).

A correção de açúcar ou chaptalização é empregada em condições nas quais não se permite o acúmulo de teores adequados de açúcar na uva madura (EMBRAPA, 2009).

A fermentação alcoólica é a transformação dos açúcares da uva dissolvidos no mosto (glicose e frutose) em álcool etílico e subprodutos (glicerol, acetaldeído, ácido acético, ácido láctico, etc.). Na vinificação em tinto,

a fermentação alcoólica pode ser dividida em duas fases: tumultuosa e lenta. A fermentação tumultuosa caracteriza-se pela grande atividade leveduriana, Na fase lenta a intensidade da fermentação diminui gradativamente, devido à diminuição do teor de açúcar e aos teores crescentes de álcool, que limitam o desenvolvimento das leveduras (EMBRAPA, 2009).

A fermentação malolática consiste na transformação do ácido málico em ácido láctico, pela ação de bactérias conhecidas como bactérias lácticas.

Trasfegas consistem em transferir o vinho de um recipiente para outro, visando separá-lo dos sólidos insolúveis que sedimentam ao final da fermentação (borras). Podem servir também para a aeração do vinho, reequilibrando seu potencial de oxido-redução (EMBRAPA, 2009).

A operação de atesto consiste em manter completamente cheios os recipientes de estocagem, evitando o contato do vinho com o ar. Esse contato pode ocasionar no vinho oxidação descontrolada e/ou condições para o desenvolvimento de bactérias nocivas à qualidade, principalmente bactérias acéticas (EMBRAPA, 2009).

A etapa de maceração corresponde à principal etapa da vinificação, ocorrendo juntamente com a fermentação alcoólica. É a extração dos compostos contidos nas partes sólidas da uva, principalmente cascas e sementes (EMBRAPA, 2009).

A extração destes compostos deve ser eficiente e seletiva, de modo que sejam extraídas apenas as substâncias químicas naturais da uva que transmitam qualidade ao vinho, sendo descartadas as substâncias indesejáveis. Para isso deve se ter atenção para com as variáveis: tempo de maceração, relação bagaço/mosto, temperatura de fermentação e tipo e frequência das remontagens (GUERRA, 2002).

O tempo de maceração é variável conforme as características, a sanidade e o estado de maturação da uva, sendo mais prolongado quanto maior for o potencial qualitativo da uva e com o tipo de vinho desejado. A relação bagaço/mosto está ligada à qualidade polifenólica da uva. A temperatura de vinificação deve ser modulada, favorecendo a extração das antocianinas nos primeiros dias de maceração ($\pm 28\text{ }^{\circ}\text{C}$) e uma adequada extração de taninos polimerizados ($\pm 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, até $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ ao final da maceração).

O tipo e a frequência das remontagens são fundamentais para extração seletiva (GUERRA, 2002).

As antocianinas são extraídas principalmente no início da maceração, atingindo um máximo de concentração após alguns dias, diminuindo lentamente após este período. Em estudos realizados com uvas Cabernet Sauvignon, em quatro safras distintas, a maceração pode variar de cinco a dez dias, de acordo com o potencial de qualidade da uva (GUERRA, 2003).

A extratibilidade dos compostos fenólicos durante a maceração é variável em função da variedade, do grau de maturação e do estado sanitário das uvas, sendo influenciada pelas condições naturais da região e da safra. (GUERRA, 2003a). A difusão destes compostos para o mosto também é determinada pela localização destes nas partes sólidas da uva, sendo influenciada pela temperatura, o teor em etanol e SO_2 , o pH e a presença de enzimas (RICARDO-DA-SILVA et al., 2003).

4.2.3. Tipos de vinho

De acordo com a legislação vitivinícola do Mercosul, os vinhos podem ser classificados, quanto à cor, de acordo com a classe e o teor de açúcar (expresso em g L^{-1} de glicose). Quanto à cor, o vinho pode ser tinto, rosé ou branco.

Quanto à classe, um vinho pode ser de mesa, leve, fino, entre outros. O vinho de mesa é aquele que possui conteúdo alcoólico variando de 8,6 a 14% em volume, podendo conter até uma atmosfera de pressão de gás carbônico a 20°C . O leve é aquele com graduação alcoólica de 7 a 8,5% em volume, obtido exclusivamente pela fermentação dos açúcares naturais da uva. Já o vinho fino é aquele com graduação alcoólica de 8,6 a 14,0% em volume, proveniente exclusivamente de variedades *Vitis vinifera*.

Já quanto ao teor de açúcar, o vinho pode ser classificado como:

- Seco: com até 4 g L^{-1} de açúcar;
- Demi-sec ou meio-seco: com teor superior a 4 e até 25 g L^{-1} de açúcar;
- Suave ou doce: com teor superior a 25 e até 80 g L^{-1} de açúcar.

4.3. Antioxidantes

A ingestão de frutas e vegetais, bem como grãos, está fortemente associada à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas como inflamações, doenças cardiovasculares, câncer e distúrbios relacionados com envelhecimento (HUANG *et al.*, 2005). Associado a estas doenças crônicas, o estresse redox pode ser caracterizado pelo desequilíbrio da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A defesa antioxidante do organismo é a então remoção destas espécies por parte dos sistemas químicos e enzimáticos (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Em alimentos que contém gorduras, óleos ou lipídios a auto-oxidação ocorre amplamente, ocasionando deterioração do alimento e concomitante perda de nutrientes, odor desagradável e formação de substâncias tóxicas potenciais (SHAHIDI, HO, 2007).

Produzidos continuamente durante os processos metabólicos, os radicais livres são átomos ou moléculas que atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes ao metabolismo dos sistemas biológicos. Porém, o excesso destas espécies reativas provoca alterações na estrutura e funções celulares, estando assim envolvidos em patologias (DAVID *et al.*, 2010).

Para minimizar a ação dos oxidantes, os antioxidantes contemplam enzimas ou substâncias orgânicas capazes de neutralizar os efeitos danosos da oxidação nos tecidos. Esta habilidade de sequestrar espécies reativas, como os radicais livres pode ser obtida por meio de fontes externas, como os alimentos, que fornecem substâncias que diminuem significativamente o efeito adverso de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio no organismo. Estes produtos provenientes de fontes externas auxiliam os antioxidantes endógenos, reduzindo assim ações degenerativas causadas através do estresse oxidativo (DAVID *et al.*, 2010; HUANG, 2005).

Nem toda espécie com características redutoras é antioxidante. Somente os compostos que são capazes de proteger alvos biológicos através de mecanismos de ação é que possuem esta característica. A inibição da geração e capacidade sequestrante contra espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, capacidade redutora bem como complexação de íons metálicos;

apresentação de atividade semelhante a enzimas com capacidade antioxidante e inibição da enzima oxidativa são alguns dos mecanismos (MAGALHÃES *et al.*, 2008).

A proteção antioxidante de sistemas biológicos contra os danos provenientes da ação de radicais livres é vital para integridade das estruturas celulares e macromoléculas. Com o envelhecimento celular, ocorre um declínio do sistema imune frente a espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Os processos que conduzem à elevação do estresse oxidativo agravam também este decaimento, reduzindo a proteção contra os danos causados pelas espécies de radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^{\cdot}), oxigênio singlete, ânion hipoclorito (OCl^-), ânion peroxinitrito ($ONOO^-$) e radical óxido nítrico (NO^{\cdot}) (MAGALHÃES *et al.*, 2009a; SHAHIDI, HO, 2007).

Diversas são as fontes possíveis de obtenção dos antioxidantes. Recentemente, Oroian e Escriche (2015) publicaram uma revisão contemplando a caracterização, fontes naturais, extração e análises de antioxidantes. A Tabela 1 é adaptada da que consta na revisão e faz a associação das fontes naturais de antioxidantes e seus benefícios para a saúde em trabalhos realizados recentemente.

Tabela 1. Fontes naturais de antioxidantes e seus benefícios para a saúde.

Antioxidante	Fontes	Benefícios para a saúde
Flavonóis	<ul style="list-style-type: none"> • Bagaço de uva <i>Vitis vinifera</i> (Alcalde-Eon <i>et al.</i>, 2014; Liang <i>et al.</i>, 2014); • Chá verde (Bae <i>et al.</i>, 2015) • Vinho (Liang <i>et al.</i>, 2014) • Erva doce (Lu <i>et al.</i>, 2011) 	Estudos têm mostrado que a quercetina, um flavonol, exibe propriedades anticâncer, antiinflamatória, antiviral, e pode também prevenir doenças cardiovasculares em humanos (Caridi <i>et al.</i> , 2007; Santos <i>et al.</i> , 2014)
Antocianinas	<ul style="list-style-type: none"> • Uvas, tomates, romã e cenouras roxa (Can, Arli e Atkosar, 2012) • Grãos de café verde (Cheong <i>et al.</i>, 2013) • Repolho vermelho (Wiczowski, Szawara-Nowak e Topolska, 2015) • Batata doce (Truong <i>et al.</i>, 2012) • Vinho (Can, Arli e Atkosar, 2012; Chen, S. <i>et al.</i>, 2015) 	As antocianinas exibem atividade antioxidante e anticarcinogênica, desempenha um papel vital na prevenção de doenças cardiovasculares, neurais, câncer e diabetes (Tomas-Barberan e Andres-Lacueva, 2012; Santos-Buelga, Mateus e De Freitas, 2014). O potencial antioxidante depende da estrutura química da molécula, estrutura que dá propriedades antioxidantes à fenólicos (Pojer <i>et al.</i> , 2013).
Ácidos fenólicos	<ul style="list-style-type: none"> • Erva doce (Lu <i>et al.</i>, 2011) • Grãos de café verde (Cheong <i>et al.</i>, 2013) • Mostarda (Lu <i>et al.</i>, 2011) • Suco de laranja (Agcam, Akyildiz e Evrendilek, 2014) • Vinho (Mulero, Pardo e Zafrilla, 2010) 	Os ácidos fenólicos são antioxidantes potentes e têm sido relatados por demonstrar atividade antibacteriana, antiviral, anticancerígenas, antiinflamatórios e vasodilatadores (Mudnic <i>et al.</i> , 2010; Lima <i>et al.</i> , 2014)
Estilbenos	<ul style="list-style-type: none"> • Amêndoas (Xie e Bolling, 2014) • Sementes e peles de uvas, vinho tinto (Mulero, Pardo e Zafrilla, 2010) 	Os estilbenos ter: antioxidante e antimicrobiana eficiência prevenir a doença, arteriosclerose e cancro atuação cardiovascular e agir como agentes anti-inflamatórios e anti-virais (Galindo <i>et al.</i> , 2011; Frombaum <i>et al.</i> , 2012).

4.4. Compostos bioativos

Compostos bioativos são aqueles compostos (por exemplo, vitaminas ou polifenóis) que ocorrem na natureza, fazem parte da cadeia alimentar, e podem ter um efeito sobre a saúde humana. São também referidos como nutracêuticos, e proporcionam benefícios à saúde além da nutrição básica fornecida pelos alimentos (BIESALSKI, H. et al., 2009).

Até a relativamente pouco tempo, vitaminas e outros micronutrientes têm sido recomendados apenas para evitar os clássicos sintomas de deficiência. As técnicas modernas em biologia possibilitaram uma visão mais aprofundada das necessidades molecular e celular do organismo. Os compostos estudados mais extensivamente são os antioxidantes: um aumento da ingestão pode alterar o risco de doenças crônicas, incluindo câncer e doenças cardiovasculares (BIESALSKI, H. et al., 2009).

De todos os estudos que têm sido realizados, pode-se afirmar que a suplementação regular da dieta com vinho tinto aumenta a capacidade antioxidante total no plasma. Além disso, reduz o dano oxidativo e a agregação de plaquetas. Estudos a partir de diferentes partes do mundo com diferentes grupos da população sugeriram que o consumo moderado (1-2 copos por dia) de vinho reduz o risco de doenças cardiovasculares (Avellone et al, 2006;. Bertelli & Das, 2009; Leighton et al., 1999; Mezzano et al., 2001; Rimm et al., 1995).

Entre os vinhos, vinho tinto é considerado como tendo uma proteção mais efetiva, devido ao seu maior conteúdo em substâncias antioxidantes provenientes da casca e das sementes (principalmente polifenóis) da uva. Uma garrafa de vinho tinto contém um total de 1,8 g L⁻¹ de polifenóis, enquanto que uma garrafa de vinho branco contém apenas 0,2 - 0,3 g L⁻¹ de polifenóis (Bertelli & Das, 2009).

4.4.1. Compostos fenólicos

Os CF são originários do metabolismo secundário das plantas, formados em condições de estresse como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros. Nos vegetais são essenciais no crescimento e reprodução, além de

atuarem como agentes antipatogênicos e contribuírem na pigmentação. Em alimentos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK, SHAHIDI, 2004). Sendo encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco, as principais fontes são as frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão (NACZK, SHAHIDI, 2004).

Do ponto de vista químico, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais; possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. (LEE *et al*, 2005.)

Podem ser classificados de diversas formas: pouco ou largamente distribuídos na natureza, como polímeros, quanto ao modo de ação antioxidante (primários ou secundários) ou como componentes hidrofílicos (ácidos fenólicos, fenilpropanóides, flavonóides e quinonas) e compostos hidrofóbicos (taninos condensados, ligninas e ácidos hidroxinâmicos) (MUNIER, 1969).

Os polifenóis contidos nas uvas e no vinho podem em geral ser classificados em dois grupos principais: a) não flavonóides (ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico e os seus derivados, estilbenos e álcoois fenólicos) e b) flavonóides (antocianinas, flavonóides, flavonóis e dihidroflavonóis) (FONTANA, 2013). A Figura 1 representa por meio de um fluxograma como os fenóis estão divididos.

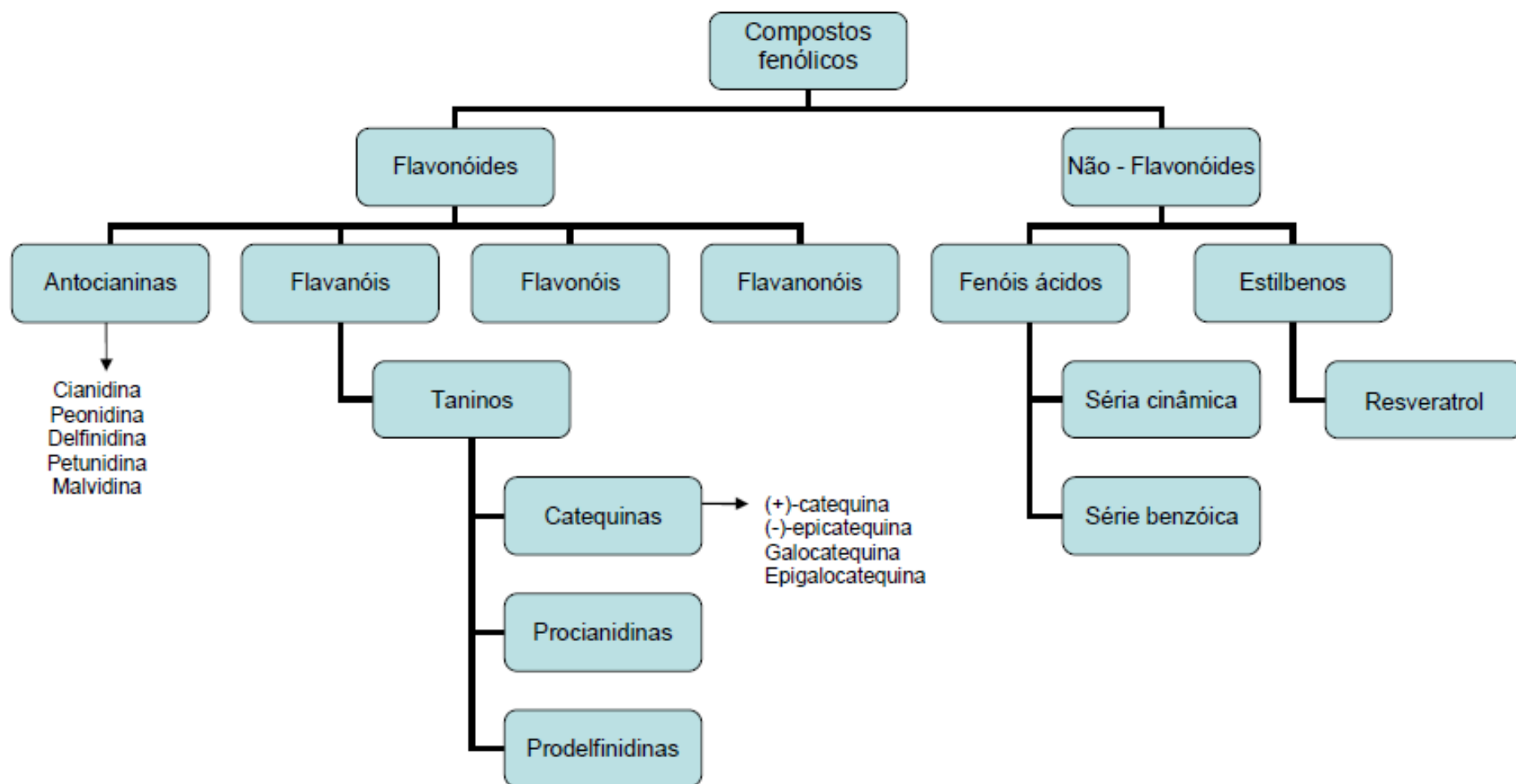


Figura 1. Estrutura de ácidos hidroxicinâmicos.

Fonte: Adaptação de Guerra e Barnabé (2005).

4.4.1.1. Ácidos fenólicos

Duas classes de ácidos fenólicos podem ser distinguidas: derivados do ácido benzóico e derivados de ácido cinâmico. Os ácidos hidroxibenzoicos são componentes de estruturas complexas, tais como taninos hidrolisáveis e seu teor em plantas é muito baixa, com exceção do chá. Compreendem majoritariamente os ácidos gálico, siríngico e vanílico (Manach *et al.*, 2004).

Os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns e consistem principalmente de ácidos p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico. Estes ácidos são derivados glicosilados ou ésteres de ácido quínico ou ácido tartárico. Ácido caféico e ácido quínico combinam-se para formar o ácido clorogênico. O ácido caféico é o mais abundante ácido fenólico e representa entre 75 % e 100 % do teor de ácido hidroxicinâmico total em frutas, sendo encontrados em concentrações mais elevadas nas partes externas do fruto maduro. Ácido ferúlico é o mais abundante encontrado nas partes externas de grãos de cereais e representa até 90 % do total de polifenóis (Manach *et al.*, 2004).

Nas Figura 2 e 3 estão apresentados respectivamente alguns ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzoicos encontrados em derivados de uva.

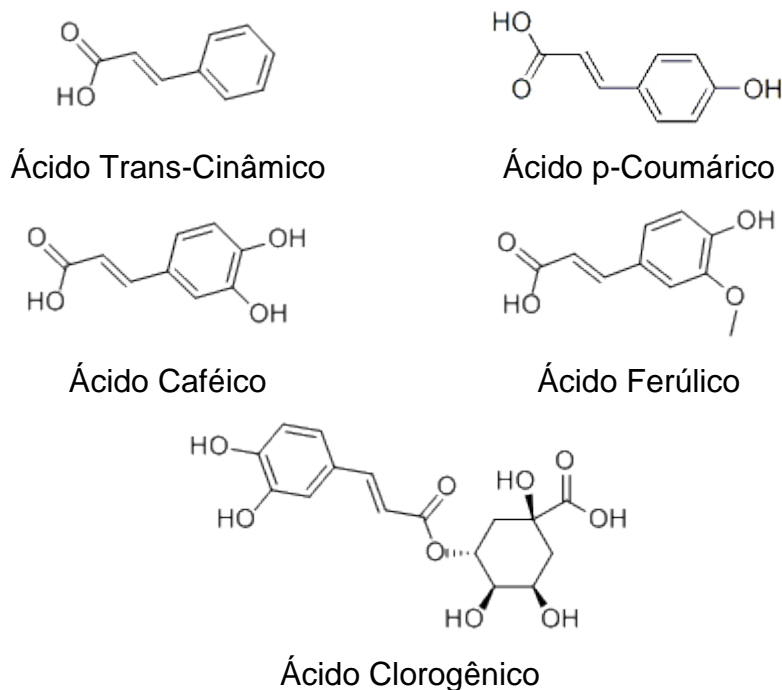


Figura 2. Estrutura de ácidos hidroxicinâmicos.

Fonte: Autora

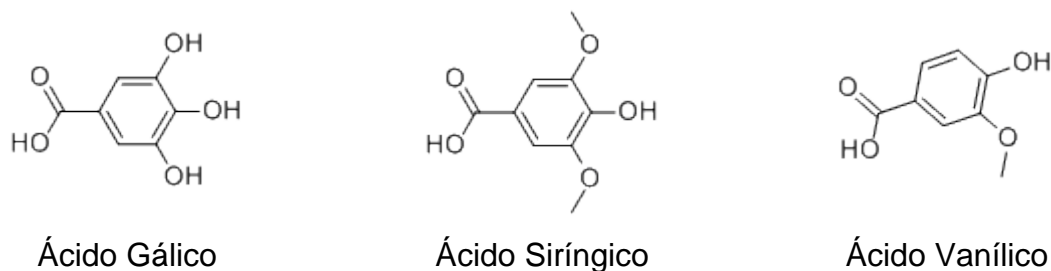


Figura 3. Estrutura de ácidos hidroxibenzoicos.

Fonte: Autora

4.4.1.2. Flavonóides

Os flavonóides partilham de uma estrutura comum, que consiste em dois anéis aromáticos ligados por átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado. Eles são divididos em seis subclasses conforme função do tipo de heterociclo envolvido: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas (catequinas e proantocianidinas) (Manach *et al.*, 2004).

Os flavonóides são polifenóis mais abundantes e estão presentes em frutas, vegetais folhosos, raízes, bulbos, ervas, pimentas, legumes, chás, cafés, cacau, chocolate, vinhos, entre outros. Quase todos os flavonóides possuem diversas propriedades biológicas e químicas em comum: (i) capacidade antioxidante; (ii) habilidade de sequestrar ROS; (iii) capacidade de sequestrar eletrófilos; (iv) habilidade de inibir nitrosação; (v) habilidade de quelar metais; e (vi) capacidade de modular a atividade enzimática celular (SHAHIDI; HO, 2007).

Flavonóis estão presentes nos alimentos, e os principais são a quercetina e o kaempferol, presentes em concentrações baixas e em formas glicosiladas. As catequinas estão presentes em muitas frutas, sendo a catequina e epicatequina os principais flavonóis encontrados em certas sementes de leguminosas, uvas e chá verde (Manach *et al.*, 2004).

Às isoflavonas, conferem-se propriedades pseudo hormonais, incluindo a capacidade de se ligar aos receptores de estrogênio, embora eles não sejam esteroides. Classificadas como fitoestrógenos, apresentam semelhanças estruturais com estrogênios. (Manach *et al.*, 2004).

Conhecidos também como taninos condensados, as proantocianidinas, são dímeros, oligômeros e polímeros de catequinas ligadas entre si. São

responsáveis pelo caráter adstringente de frutas e bebidas através da formação de complexos com proteínas (Manach et al., 2004).

As antocianinas são pigmentos dissolvidos na seiva vacuolar dos tecidos epidérmicos de flores e frutas, conferindo-lhes cores rosa, vermelho, azul ou roxo. Eles existem em diferentes formas químicas, tanto coloridos como incolores, dependendo do pH. Apesar de serem altamente instáveis, enquanto estiverem em plantas, são resistentes às condições de luz e pH, devido a glicosilação. Encontradas no vinho tinto, certas variedades de cereais, e certas folhas e raízes vegetais (beringelas, couve, feijão, cebola, rabanete), as antocianinas são estabilizadas pela formação de complexos com outros flavonóides (copigmentação). (Manach et al., 2004).

A cianidina é uma antocianina bem comum em diversos alimentos, geralmente proporcional à intensidade da cor, aumentando sua concentração à medida que o fruto amadurece. São encontradas principalmente na casca, com exceção de certos tipos de fruta vermelha, em que eles também ocorrem na polpa. No vinho, o conteúdo varia de 200 - 350 mg L⁻¹ e conforme o envelhecimento, estas são transformadas em várias estruturas complexas (Manach et al., 2004). A Figura 4 traz a estrutura básica desta classe de fenólicos.

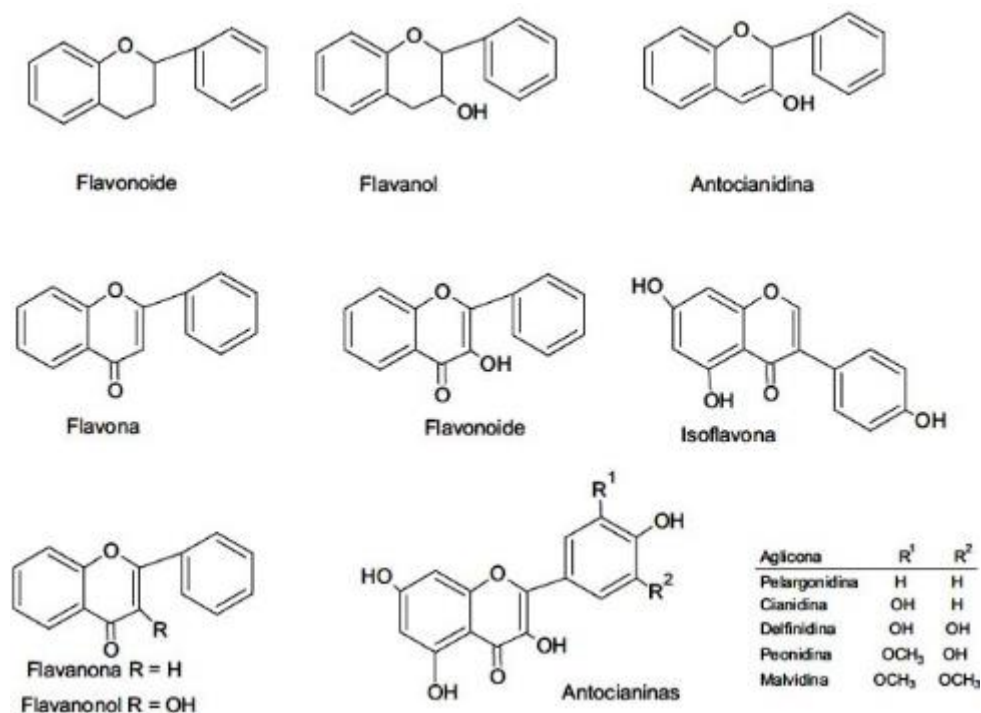


Figura 4. Estrutura básica dos flavonoides.

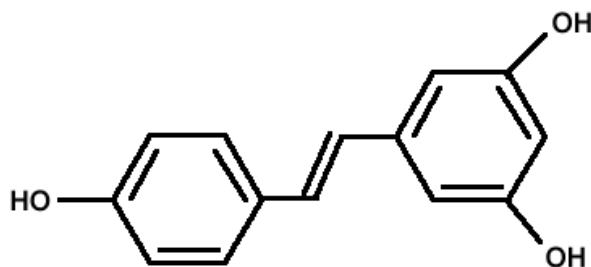
Fonte: Autora

4.4.1.3. Estilbenos

Estilbenos pertencem à classe não-flavonoide de compostos fenólicos e o resveratrol é o principal, presente em uvas e vinhos (Wilkens, Rentzsch, & Winterhalter, 2008, cap. II). O resveratrol ocorre em duas formas isoméricas, os isômeros trans- e cis-. Trans-resveratrol ou trans-3,5,4'-trihidroxistilbenzeno é a forma mais abundante, sendo localizado principalmente na casca da uva. São possíveis também formas glucoconjugadas de trans e cis-resveratrol.

Geralmente, estilbenos são conhecidos como fitoalexinas, que podem ser biosintetizadas de videiras como uma espécie de defesa a doenças fúngicas, estresse abiótico e irradiação UV.

A eficiência antioxidante e antimicrobiana de resveratrol fornece benefícios para a saúde, como a prevenção de doenças cardiovasculares, aterosclerose e câncer. Originalmente, os estudos epidemiológicos indicaram uma relação inversa entre o consumo moderado de vinho e o risco de doença cardíaca coronária, o chamado "paradoxo francês" (Barnard & Linter, 1992). A Figura 5 traz a estrutura do resveratrol.



Resveratrol

Figura 5. Representação da estrutura do resveratrol.

Fonte: Autora.

4.5. Métodos analíticos

Diversos trabalhos caracterizam-se pela separação, identificação, quantificação e aplicação dos CF, antocianinas e flavonoides, apresentando as mais variadas metodologias. Os métodos utilizados em análises destes compostos podem ser classificados de acordo com a quantificação total,

individual e/ou de um grupo ou classe. Ainda não se desenvolveu, por exemplo, um método satisfatório para a extração de todos ou de uma classe específica de fenólicos presentes nos alimentos. (NACZK, 2004). Há fatores como a ampla variedade de compostos, a complexidade química da matriz, a presença de interferentes e a dificuldade de extração destes que devem ser considerados (ARCHELA; ANTONIA, 2013).

Outro aspecto no desenvolvimento de métodos de quantificação é a dificuldade de se encontrar um padrão específico e conveniente, devido à complexidade das substâncias presentes nos alimentos e as diferenças de reatividade entre as substâncias e os reagentes (ANGELO; JORGE, 2007).

De uma forma geral, métodos espectrofotométricos, cromatográficos, eletroquímicos e biossensores têm sido usados para as quantificações de interesse nos analitos, podendo estar associados ou não entre si (ARCHELA; ANTONIA, 2013). As análises englobam desde métodos simples, rápidos e baratos, até os mais precisos, robustos e que requerem um investimento maior do ponto de vista financeiro.

4.5.1. Compostos fenólicos totais

Para quantificação de CFT, a literatura apresenta dois tipos de análises: a espectral e a colorimétrica. A análise espectral é concentrada na região de 280 nm, na qual as substâncias fenólicas absorvem a luz ultravioleta. A aplicabilidade deste método é bastante limitada, uma vez que as propriedades absorptivas dos diferentes fenólicos variam. Desta forma, os resultados não podem ser relacionados com qualquer padrão específico. O método se mostra simples e rápido, necessitando apenas de filtração e, em alguns casos, diluição. É bastante adequado para a comparação de vinhos semelhantes e no monitoramento destes durante diversas fases de fermentação (Wrolstad *et al.*, 2001).

Adotado pela International Organisation of Vine and Wine (OIV, 2011) para determinação de CFT em amostras de vinho, o método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu* baseia-se na redução química do reagente, uma mistura de óxidos de tungstênio e molibdênio. Os produtos da redução do óxido de metal

possuem uma cor azulada, que apresenta uma absorção de luz máxima a 765 nm.

Apesar de apresentar algumas interferências, como a presença de dióxido de enxofre, ácido ascórbico, açúcares e proteínas este método foi adotado em trabalhos recentes, como os de Spigno, Trarnelli e De Faveri (2007), Rockenbach, Gonzaga, *et al.* (2011), Antonioli *et al.* (2015), Chen, P. X. *et al.* (2015), Drosou *et al.* (2015), Iora *et al.* (2015^a), Medouni-Adrar *et al.* (2015) e Tournour *et al.* (2015).

Há também o método de Folin-Denis, uma variação anterior ao de Folin-Ciocalteu, que não é específico pelo fato de determinar, além dos fenólicos presentes, substâncias redutoras adicionadas ou naturalmente presentes nos alimentos, o que pode vir a interferir nos resultados (ANGELO; JORGE, 2007). Este método aos poucos foi deixado de lado, sendo citado majoritariamente, em procedimentos históricos oficiais que ainda não foram atualizados (AOAC International, 1995).

4.5.2. Antocianinas monoméricas totais

As antocianinas são flavonoides amplamente distribuídos nas plantas. São responsáveis pelas colorações azuis, roxas, magentas, vermelhas e alaranjadas. Na maioria das frutas e vegetais, as antocianinas encontram-se em células próximas à superfície e tem um papel fundamental na qualidade da cor de muitas frutas, legumes frescos e transformados. Assim, a medida exata de antocianinas, juntamente com os seus índices de degradação, é muito útil para avaliação da qualidade de alimentos crus e processados (Wrolstad *et al.*, 2001).

As antocianinas sofrem transformações estruturais reversíveis com uma mudança no pH, que se manifestam através dos diferentes espectros de absorbância. Esta reação permite a medição precisa e rápida de informações quantitativas e qualitativas, mesmo na presença de pigmentos degradados polimerizados e outros compostos interferentes (Wrolstad *et al.*, 2001).

Diversos trabalhos recentes utilizam este método, como os trabalhos

realizados por Rockenbach *et al.* (2008), Rockenbach, Rodrigues, *et al.* (2011), Monrad *et al.* (2014) e Iora *et al.* (2015a).

4.5.3. Antioxidantes

Os antioxidantes desempenham um papel fundamental na conservação de alimentos e promoção da saúde. A atividade antioxidante pode ser medida através de uma variedade de métodos que incluem transferência de átomo hidrogênio (HAT) e transferência de um único elétron (ET), poder redutor, agentes quelantes de metal, entre outros (Prior, Wu e Schaich, 2005).

Embora ensaios químicos possam ser empregados na triagem inicial de antioxidantes com base em sua atividade intrínseca, os sistemas de modelagem são amplamente utilizados para posterior determinação do potencial antioxidante em aplicações específicas relacionadas com a proteção de alimentos ou na redução dos danos oxidativos em sistemas biológicos ou no corpo (Prior, Wu e Schaich, 2005).

A compreensão dos principais mecanismos, vantagens e limitações dos ensaios de medição é importante para a seleção adequada ou combinação de métodos para avaliação da atividade antioxidante (Prior, Wu e Schaich, 2005).

O que se impede de um ter método padrão, são as fontes de antioxidantes no sistema biológico. Existem (1) as enzimas (superóxido-dismutase, catalase); (2) grandes moléculas (albumina, ferritina, outras proteínas); (3) pequenas moléculas (ácido ascórbico, ácido úrico, tocoferol, carotenóides, (poli) fenóis); e alguns (4) hormônios (estrogênio, angiotensina, melatonina) (Prior, Wu e Schaich, 2005).

Assim como existem fontes de antioxidantes, existem várias fontes de radicais livres e oxidantes ($O_2^{\cdot-}$, 1O_2 , HO^{\cdot} , NO^{\cdot} , $ONOO^{\cdot-}$). Os oxidantes e antioxidantes têm diferentes características químicas e físicas. Antioxidantes individuais podem, em alguns casos, atuar por meio de mecanismos múltiplos num único sistema ou por um único mecanismo diferente, dependendo do sistema de reação. Além disso, os antioxidantes podem responder de uma forma diferente para diferentes fontes de radicais ou oxidantes (Prior, Wu e Schaich, 2005).

Não existe um método simples universal da AOAC pelo qual pode ser medida com precisão e quantitativamente a atividade antioxidante. Como várias características e mecanismos estão envolvidos, não há um ensaio que reflita com precisão todas as fontes de radicais ou todos os antioxidantes num sistema misto ou complexo (Prior, Wu e Schaich, 2005).

Segundo Prior, Wu e Schaich (2005), a necessidade de métodos analíticos padronizados da AOAC, permite orientação para a aplicação adequada de ensaios, comparações significativas de resultados de alimentos, controlar a variação dentro ou entre os produtos.

4.5.4. Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia tem sido utilizada para análises mais detalhadas de componentes fenólicos em diversas matrizes, seja para identificação ou quantificação destes. Associada à espectrometria de massas, a cromatografia líquida foi utilizada como ferramenta de análise quantitativa de resveratrol em uvas, vinhos e frutas vermelhas e se mostrou bastante eficiente. (WANG, 2002). Em outros estudos, utilizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) acoplada a um arranjo de diodos para determinação de compostos fenólicos em espumantes (STEFENON et al, 2010) e em vinhos da Macedônia, acoplada a arranjo de diodos e à espectrometria de massas (IVANOVA-PETROPULOS *et al*, 2015).

A CLAE tem sido o método mais utilizado devido sua versatilidade, precisão e ausência de interferentes. Utiliza-se normalmente fase reversa com colunas C8 ou C18, com fase móvel aquosa e metanol ou acetonitrila como mistura (ESCARPA; GONZÁLEZ, 2001). A cromatografia líquida é dividida também de acordo com a natureza da fase móvel, em fase normal e reversa, e de acordo com a eluição adotada, podendo ser isocrática ou gradiente (COLINS, 2006; LANÇAS, 2009).

Para compostos fenólicos, a análise de fase reversa com eluição gradiente em coluna C18 é bastante utilizada, devido ao seu baixo custo, seletividade, elevada eficiência em partículas de 3 µm, 5 µm e 10 µm. É recomendada para análise de compostos polares e apolares, ácidos e bases

ionizados e compostos que diferem entre si em hidrofobicidade (LANÇAS, 2009).

As fases móveis descritas na literatura englobam: (1) solvente A, água: tetrahydrofurano : ácido trifluoroacético (98: 2: 0,1) e solvente B, metanol : tetrahydrofurano : ácido trifluoroacético (98: 2: 0,1) operando em gradiente (Rockenbach, Rodrigues, *et al.*, 2011); (2) solvente A, água : ácido fórmico 90:10 (v / v), solvente B, metanol : água : ácido fórmico 50:40:10 (v / v) operando gradiente (Giacosa *et al.*, 2015); (3) solvente A, água : ácido fosfórico 1,0 % v / v e solvente B, metanol, operando gradiente (Iora *et al.*, 2015b).

5. METODOLOGIA

5.1. Amostras

As amostras foram adquiridas através de doações de 6 vinícolas familiares localizadas em Curitiba e na região metropolitana (Adega Mariano – Campo Largo, Família Zanlorenzi – Campo Largo, Vinhos Dall’armi – Santa Felicidade, Vinhos Santa Felicidade – Santa Felicidade, Vinhos Durigan – Santa Felicidade e Vinícola Araucária – São José dos Pinhais), todas com produção própria. Conseguiu-se arrecadar 12 amostras, sendo estas classificadas de acordo com as respectivas uvas em vinhos tintos secos de mesa e vinhos tintos suaves de mesa. Estão representadas na Tabela 2 as amostras e as respectivas vinícolas.

Tabela 2. Amostras, respectivas vinícolas e representação.

Vinícolas Amostras	Adega Mariano	Zanlorenzi	Dall'armi	Santa Felicidade	Durigan	Araucária
Tinto Suave	Mistura de uvas (Am)	Mistura de uvas (Bz)	Mistura de uvas (Cd)	Mistura de uvas (Ds)	Mistura de uvas (Ed)	Mistura de uvas (Fa)
Tinto Seco	Bordô (A)	Tannat (B)	Cabernet Sauvignon (C)	Tannat (D)	Merlot (E)	Merlot (F)

*As siglas em parênteses foram utilizadas para facilitar a representação e identificação dos tipos de vinhos, bem como a qual vinícola pertencem nos resultados e discussão deste trabalho.

A coleta destas amostras nos locais foi feita no período de Agosto/2015 a Outubro/2015, e os vinhos foram transferidos diretamente do barril do produtor para os potes de vidro tipo geleia. Em seguida, os mesmos foram armazenados em caixa de isopor, em temperatura de 4,0 °C, em ambiente escuro até se chegasse ao laboratório e fosse feita a transferência para o refrigerador.

Os recipientes utilizados foram previamente esterilizados, tendo sido colocados em uma forma virados com a boca para cima e levados ao forno por 10 minutos a uma temperatura de 180° C. Já as tampas foram colocadas em água fervente por 5 minutos e depois foram deixadas para secagem em temperatura ambiente sobre um pano de prato limpo (ABIVIDRO, 2015).

5.2. Limpeza de materiais

Para limpeza dos materiais a serem utilizados nas análises, foi utilizada a metodologia de limpeza básica de frascaria, conforme proposto por CETESB (Guia nacional de coleta e preservação de amostras, 2012) Os materiais de vidro e polietileno foram deixados em solução de detergente alcalino 0,1% por 24 horas.

Após, os materiais foram esfregados nas partes interna e externa para retirada de resíduos. O enxágue foi feito com água corrente para retirada do detergente. Realizou-se também o enxágue final com água deionizada, com as aberturas voltadas para baixo sob papel de alta absorção.

5.3. Análise dos CFT

O conteúdo total de polifenóis em cada amostra de vinho foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método colorimétrico *Folin-Ciocalteu* de Singleton e Rossi (1965) adotado por Iora *et al.* (2015a). O reagente de *Folin-Ciocalteu* foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) e consiste de uma mistura de ácidos fosfotungstíco e fosfomolibdico (coloração amarelada) em um meio básico.

A análise foi realizada através da reação entre 0,1 mL da amostra diluída com 0,5 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* e 2,0 mL de carbonato de sódio 20% em balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com água destilada.

A solução foi armazenada no escuro durante 120 minutos para que a reação pudesse ocorrer. Após, foi feita a leitura da absorbância em um espectrofotômetro UV-VIS BEL PHOTONICS (Mod. UV-M51) em 765 nm. A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em miligramas de ácido gálico equivalente (GAE) por litro de solução (mg GAE L^{-1}). Para a construção da curva analítica foi utilizado ácido gálico a diferentes concentrações ($0,45 - 4,50 \text{ mg L}^{-1}$).

5.4. Análise dos flavonóides totais (TFC)

A determinação do TFC foi realizada através do método colorimétrico, utilizando-se cloreto de alumínio, conforme metodologia proposta por Chang *et al.* (2002) e adotada por Iora *et al.* (2015a).

O método consiste na reação de 3 mL de água destilada, 50 μL da amostra de vinho e adição de 150 μL de NaNO_2 5 %. Após 6 minutos, 300 μL de AlCl_3 10 % foi acrescentado e depois de 5 minutos, adicionado 1 mL de NaOH 1 mol L^{-1} . Após cada adição de reagente, a solução foi agitada com auxílio de Vortex e a absorbância lida em 506 nm após 15 minutos de reação em espectrofotômetro UV-VIS BEL PHOTONICS (Mod. UV-M51).

A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em miligramas de catequina equivalente (CE) por litro de solução (mg EC L^{-1}). Para a construção da curva analítica foi utilizado padrão de catequina em diferentes concentrações (5 – 40 mg L^{-1}).

5.5. Análise das antocianinas monoméricas totais (AMT)

O conteúdo de AMT foi determinado pelo método da diferença de pH proposta por Giusti *et al.* (1998), em que se dilui a amostra de vinho em dois sistemas-tampão: cloreto de potássio pH 1,0 (0,025 mol L^{-1}) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4 mol L^{-1}).

O procedimento foi realizado com a adição de alíquota de 0,1 mL da amostra de vinho em 1,9 mL da correspondente solução tampão (pH 1,0 ou pH 4,5) e medido no espectrofotômetro UV-VIS BEL PHOTONICS (Mod. UV-M51).

A concentração de pigmentos nas amostras foi calculada por meio da relação entre a Lei de Lambert-Beer e a diferença de pH. Ambos se fazem proporcionais à absorbância lida e à concentração das soluções. O resultado foi expresso em cianidina-3-glicosídeo. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.6. Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

Os métodos espectrofotométricos são relativamente simples baseando-se invariavelmente, na capacidade de “descolorante” da amostra. Os ensaios mais utilizados recebem o nome do reagente cuja absorção será atenuada pelo antioxidante, ou seja, ensaios de DPPH e ABTS. Reagentes estes responsáveis pelo fator custo do método espectrofotométrico e que indicam a capacidade antioxidante total do produto no que diz respeito a varrer radicais livres.

5.6.1. ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(ácido-3-etilbenzotiazoline-6-sulfônico)

A determinação da atividade de inibição do radical ABTS^{•+} foi realizada conforme metodologia proposta por Socorro Moura Rufino, M. *et al.* (2007a).

Um volume de 25 mL de persulfato de potássio (2,6 mmol L⁻¹) foi adicionado a 25 mL de ABTS^{•+} (7,4 mmol L⁻¹). A solução foi armazenada em frasco âmbar, no escuro e temperatura ambiente, durante 16 h, para permitir a conclusão na geração do radical ABTS^{•+}. Etanol foi utilizado para ajustar a absorbância da solução em $0,700 \pm 0,050$ no comprimento de onda de 734 nm, em espectrofotômetro UV-VIS BEL PHOTONICS (Mod. UV-M51).

A quantificação foi realizada com a adição de 5 µL de amostra de vinho em 3,0 mL de solução ABTS^{•+}. A mistura foi agitada em Vortex durante 5 segundos e armazenada no escuro a temperatura ambiente durante 30 minutos.

O etanol foi utilizado como branco e a análise realizada em triplicata. Os resultados foram expressos em micromol de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) equivalente (TE) por litro (µmol TE L⁻¹). Para a construção da curva analítica foi utilizado Trolox em diferentes concentrações (3 – 30 µmol TE L⁻¹).

O Trolox é um antioxidante e, análogo a vitamina E, é utilizado como referência pela comunidade científica devido às dificuldades em medir componentes antioxidantes individuais de uma mistura complexa. Tanto o

Trolox quanto o ABTS^{•+} foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

5.6.2. DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A capacidade antioxidante foi determinada conforme metodologia via radical livre DPPH[•] proposta por Socorro Moura Rufino, M. *et al.* (2007b).

A reação foi realizada com a adição de 5 µL do da amostra de vinho em 3,0 mL de solução metanólica de DPPH[•] 0,1 mmol L⁻¹. A mistura foi agitada em Vortex durante 5 segundos e armazenada no escuro a temperatura ambiente durante 30 minutos. Em seguida, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS BEL PHOTONICS (Mod. UV-M51) no comprimento de onda de 518 nm.

O metanol adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) foi utilizado para realizar a solução e como branco. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em micromol de Trolox equivalente (TE) por litro de amostra (µmol ET L⁻¹).

Para a construção da curva de calibração, foi utilizado Trolox em diferentes concentrações (10 – 300 µmol TE L⁻¹).

5.7. Análise dos compostos fenólicos por CLAE-DAD

A análise dos compostos fenólicos majoritários foi realizada conforme descrito por Haminiuk *et al.* (2014), com injeção de 10 µL de amostra de vinho previamente filtrada em filtro de seringa 0,45 µm.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo Shimadzu Prominencia acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD) e auto sampler. Os dados coletados foram obtidos pelo *software* LCSolution fornecido pela Shimadzu

A separação foi realizada em gradiente conforme Tabela 3. A fase móvel foi composta de Ácido Acético 1,0% v/v (solvente A) e metanol (solvente B) adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Utilizou-se uma coluna

Acclaim® 120 C18, 4,6 mm x 250 mm, 5 µm (Dionex, Salt Lake City, UT, USA) a 40 °C (Haminiuk *et al.*, 2014).

Tabela 3. Programação do gradiente.

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	95	5
2	90	10
5	80	20
10	70	30
15	65	35
25	50	50
30	40	60
35	20	80
45	0	100
52	0	100
57	95	5
70	95	5

A vazão adotada foi de 1,0 mL min⁻¹ e os ensaios monitorados a 280, 320 e 370 nm. A quantificação foi realizada por meio de curvas de calibração externa com padrões Sigma e realizada em triplicata.

Os tempos de retenção foram avaliados com injeção de padrão externo separadamente nas mesmas condições de extração. Foram avaliados os limites de detecção e limite de quantificação, conforme Ribani *et al.* (2004).

Foram utilizados padrões CLAE adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Os analitos monitorados em 280 nm foram ácido gálico, ácido siríngico, ácido vanílico, ácido trans-cinâmico e catequina. Em 320 nm foram monitorados ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caféico, ácido p-coumárico e resveratrol. Em 370 nm foram monitorados quercetina e rutina.

5.8. Análises estatísticas

Os dados foram tratados com *software* STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os valores foram relatados como média ± desvio padrão (SD) para cada ensaio. Todos os resultados obtidos para as variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e seguido por comparações feitas pelo teste de Tukey, com um nível de significância de 5%.

A análise de correlação de Pearson foi realizada entre o CFT, TFC, AMT e a atividade antioxidante através do *software* Action® Versão 3.1 (Statcamp, São Carlos, SP).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando-se do ensaio de *Folin-Ciocalteu* para quantificação de fenóis totais (Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos, 1999), foi possível a obtenção dos resultados expressos na Tabela 4.

Tabela 4. Comparativo entre análises CFT e TFC.

Amostras	CFT / (mg.GAE.L ⁻¹)	TFC / (mg.EC.L ⁻¹)
Tinto Suave Am	1131,81 ± 2,10 ^c	689,93 ± 3,83 ^f
Tinto Suave Bz	866,24 ± 4,82 ^e	604,38 ± 3,17 ⁱ
Tinto Suave Cd	1009,1 ± 2,86 ^d	647,69 ± 3,16 ^l
Tinto Suave Ds	1279,24 ± 3,63 ^{ab}	928,63 ± 1,83 ^e
Tinto Suave Ed	1223,84 ± 108,31 ^{ab}	942,36 ± 3,70 ^c
Tinto Suave Fa	1217,43 ± 34,67 ^{bc}	912,45 ± 5,18 ^g
Tinto Seco A	909,74 ± 2,75 ^{de}	616,00 ± 3,10 ^f
Tinto Seco B	1213,77 ± 21,29 ^{bc}	856,81 ± 3,17 ^b
Tinto Seco C	1336,48 ± 13,83 ^a	1046,93 ± 2,43 ^a
Tinto Seco D	1279,70 ± 44,81 ^{ab}	948,70 ± 3,32 ^c
Tinto Seco E	1162,03 ± 6,91 ^{bc}	812,45 ± 5,18 ^g
Tinto Seco F	1185,38 ± 60,10 ^{bc}	806,11 ± 4,12 ⁱ

* Resultados expressos em média ± S.D. (n = 3);

** Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P <0,05);

Os fenóis contidos nas amostras de vinho são energeticamente oxidados, resultando na formação do O²⁻, o qual reage com os ácidos formando compostos (coloração azul) com uma intensa absorção no comprimento de onda de 765 nm.

O método CFT é caracterizado como um ensaio indireto, pois o processo consiste em uma reação de oxirredução entre um oxidante e um antioxidante, baseados na transferência de elétrons, reduzindo o molibdênio e mudando a cor do meio reacional de amarelo para azul, conforme Figura 6.

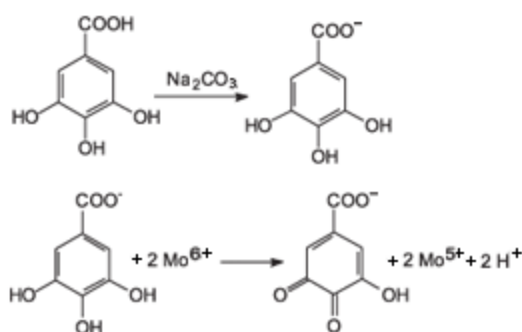


Figura 6. Reação entre ácido gálico e molibdênio.

Fonte: Autora.

Os fenólicos determinados por *Folin* são frequentemente expressos em ácido gálico equivalente porque a análise revela a presença de várias substâncias diferentes em um resultado e o padrão utilizado (ácido gálico) é uma substância única. O ácido gálico é bom padrão porque é relativamente barato na forma pura e é estável na sua forma seca. Outras substâncias têm sido utilizadas, e, a princípio, qualquer fenol pode ser usado; porém o ácido gálico é recomendado além dos motivos já citados, pelo fato da utilização de um único padrão tornar mais fácil a comparação de dados (Wrolstad *et al.*, 2001).

Uma vez que uma única substância é usada, o resultado deve ser classificado como uma resposta equivalente à quantidade ou concentração dessa substância. Como o vinho é analisado em uma base de concentração, o resultado é apresentado em GAE usando unidades de mg.L^{-1} . Independente do padrão, os resultados devem ser sempre apresentados em bases equivalentes para evitar a percepção de que o resultado é a medição da quantidade da substância padrão (Wrolstad *et al.*, 2001).

Os valores encontrados para a maioria das amostras, com exceção de Tinto Suave B e Seco A, se encontram dentro do apresentado pela literatura. Em trabalhos que também empregaram o ensaio de *Folin-Ciocalteu* para CFT em vinhos tintos, Baroni *et al.* (2012), por exemplo, encontrou em vinhos argentinos (Cabernet Sauvignon, Malbec e Syrah) concentrações variando na faixa de 1460 a 3730 mg GAE L^{-1} . Já no trabalho de Hosu, 2014, obteve-se CFT variando de 1235 a 4263 mg GAE L^{-1} . Para as variedades Pinot Noir e

Syrah, (CIMPOIU, C.; CRISTEA, V.; HOSU, A., 2014), encontrou concentrações entre 948 a 3476 mg GAE L⁻¹.

Entre as amostras de Tinto Suave Ds e Ed e Seco D, não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$). O mesmo ocorre entre as amostras de Tinto Suave Fa, Seco B, E e F. Entre os demais, esta diferença foi observada.

Através dos resultados também é possível constatar que a maior média para concentração de CFT está entre os vinhos secos.

Trabalhos realizados por Doshi, Adsule e Banerjee (2006) e por Lago-Vanzela *et al.* (2011) demonstram que o conteúdo e perfil do teor de fenólicos em uvas depende do tipo de processo de vinificação, bem como das características genéticas, ambientais e culturais.

A determinação de TFC foi realizada através do método colorimétrico fazendo-se o emprego de cloreto de alumínio, conforme metodologia proposta por Chang *et al.* (2002) e adotada por Iora *et al.* (2015a). O cátion alumínio em metanol forma complexos estáveis com os flavonóides, ocasionando, na análise espectrofotométrica, um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonóides nos tecidos vegetais.

A leitura foi feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se cloreto de alumínio em metanol (Woisky, 1996; Woisky e Salatino, 1998). Nessas condições, o complexo flavonóide-Al absorve em comprimento de onda bem maior do que o flavonóide sem a presença do agente complexante. Os ácidos fenólicos, mesmo os que formam complexos com AlCl₃, acabam absorvendo em comprimentos de onda muito inferiores, evitando-se dessa maneira interferências nas medidas de absorbância. A Figura 7 mostra no que consiste a reação.

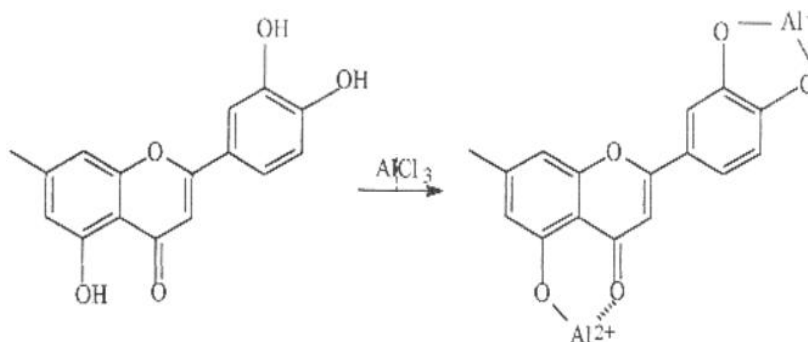


Figura 7. Formação do complexo Flavonóide-Al, em solução metanólica de cloreto de alumínio (Reproduzido de Markham, 1982).

Os resultados encontrados para as médias de concentração de flavonoides totais, em sua maioria, com exceção de Tinto Suave Bz, Cd, Ds e Fa, se encontram de acordo com a literatura. Em estudo de (GARAGUSO, I.; NARDINI, M, 2015) os autores encontraram valores variando de 910 a 2013 mg CE L⁻¹.

Entre as amostras de Tinto Suave Am e Fa, Cd e Ds não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$). O mesmo acontece entre as amostras de Tinto Seco C e F e entre as amostras de Tinto Suave Ed e Tinto Seco E.

Comparando-se os valores de CFT com os de TFC, pode-se observar alguma relação entre estes, conforme mostrado na Tabela 4.

Ainda na Tabela 4, é possível perceber que tendo apresentado o maior valor para CFT ($1336,48 \pm 13,83^a$) mg GAE L⁻¹, a amostra de Tinto Seco C também apresentou o maior valor para TFC ($1046,93 \pm 2,43^a$) mg EC L⁻¹; da mesma maneira, a amostra Tinto Suave Bz continuou apresentando os menores valores para CFT e TFC, ($866,24 \pm 4,82^e$) mg GAE L⁻¹ e ($847,69 \pm 3,16^l$) mg EC L⁻¹, respectivamente.

Com relação ao conteúdo de AMT, o método da diferença de pH é baseado na capacidade da antocianina sofrer transformações estruturais reversíveis que se manifestam no espectro de absorção (Figura 8). Este ensaio permite a medição precisa e rápida das antocianinas totais, mesmo na presença de pigmentos e outros compostos interferentes.

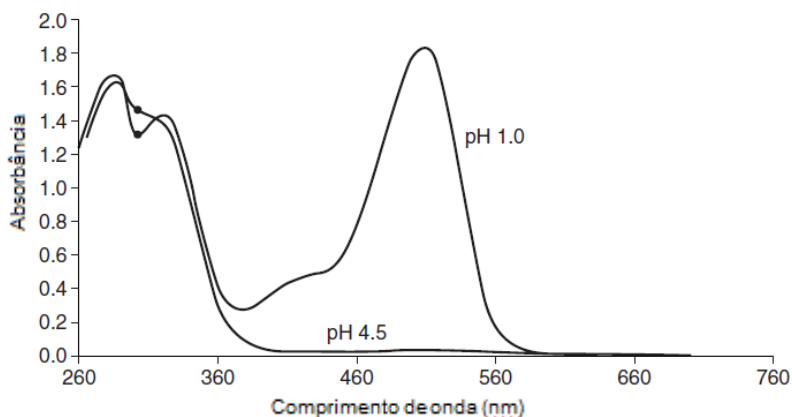


Figura 8. Características espectrais de antocianinas em solução tampão de pH 1,0 e pH 4,5.

Fonte: Wrolstad *et al.*, 2001.

A forma oxonium colorido predomina a pH 1,0 e a forma hemiacetal incolor a pH 4,5 (Figura 9).

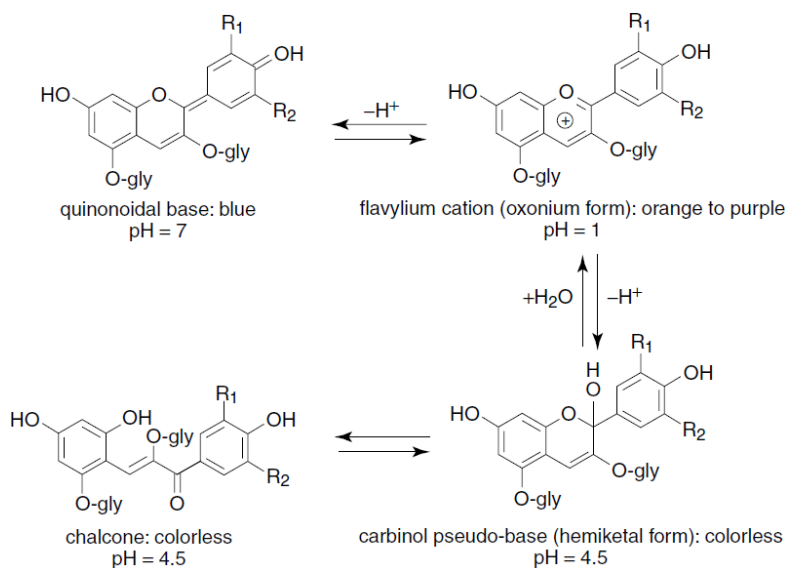


Figura 9. Formas estruturais predominantes de antocianinas presentes a diferentes níveis de pH.

Fonte: Wrolstad *et al.*, 2001.

Após feitas as análises, foi calculada a quantidade total de antocianinas presentes nas amostras. Os resultados forma expressos em miligramas de cianidina-3-glicosídeo equivalente por litro (mg CG L^{-1}) – Tabela 5.

Tabela 5. Antocianinas totais determinadas em cada amostra de vinho.

Amostras	AMT (mg CG L ⁻¹)
Tinto Suave Am	37,12 ± 0,55 ^{ab}
Tinto Suave Bz	37,02 ± 1,10 ^{ab}
Tinto Suave Cd	35,25 ± 0,36 ^{cd}
Tinto Suave Ds	34,93 ± 0,14 ^{cd}
Tinto Suave Ed	34,78 ± 0,10 ^{cd}
Tinto Suave Fa	34,87 ± 0,06 ^{cd}
Tinto Seco A	35,00 ± 0,03 ^{cd}
Tinto Seco B	35,13 ± 0,10 ^{cd}
Tinto Seco C	35,30 ± 0,49 ^{cd}
Tinto Seco D	34,78 ± 0,10 ^{cd}
Tinto Seco E	35,00 ± 0,13 ^{cd}
Tinto Seco F	33,18 ± 1,84 ^d

* Resultados expressos em média ± S.D. (n = 3);

** Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05);

Foram observadas diferenças significativas (p < 0,05) entre as variedades de vinho. Comparando os parâmetros avaliados anteriormente, não se obteve uma relação direta entre os CFT, TFC e AMT. Pois neste caso, o maior teor de AMT não foi detectado na amostra de Tinto Seco C, como nos casos anteriores. Porém, avaliando a AMT nas variedades analisadas como fonte de corantes naturais, as amostras de Tinto Suave apresentam um valor mais elevado que as outras variedades avaliadas neste estudo, contrariando o padrão de maiores valores na variedade Tinto Seco.

Um amplo acervo de métodos está disponível na literatura científica para mensurar a capacidade antioxidante de vários tipos de substâncias. O interesse em avaliar a capacidade antioxidante é resultado de vários estudos sobre a importância dos antioxidantes em sistemas biológicos.

A maioria das metodologias antioxidantes emprega basicamente o mesmo princípio, onde um radical sintético é gerado e a capacidade de uma amostra para eliminar ou neutralizar o radical é monitorada através de um espectrofotômetro UV/visível. Neste trabalho fez-se o uso do método ABTS e DPPH.

Para que fosse possível determinar a atividade antioxidante das amostras de vinho, foi necessária a formação do radical ABTS^{•+}. Este radical

foi formado através da adição da solução de persulfato de potássio à de ABTS. Após formação completa do radical, cada amostra de vinho foi adicionada e a capacidade sequestrante do radical através do vinho foi mensurada e expressa em Trolox equivalente. A Figura 10 mostra o mecanismo da reação.

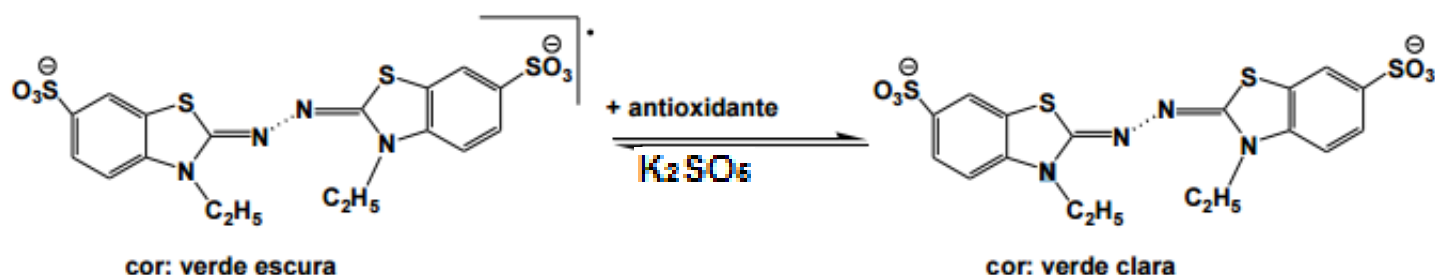


Figura 10. Mecanismo de formação do radical ABTS^{•+} e representação do produto pós-sequestro do radical.

Fonte: Autora.

A Tabela 6 mostra as capacidades antioxidantes de cada amostra de vinho.

Tabela 6. Capacidade antioxidante determinada por ABTS.

Amostras	ABTS ($\mu\text{mol TE.L}^{-1}$)
Tinto Suave Am	5675,00 \pm 15,74 ^a
Tinto Suave Bz	4438,00 \pm 3,35 ^{ab}
Tinto Suave Cd	4697,00 \pm 4,01 ^{ab}
Tinto Suave Ds	4711,00 \pm 4,02 ^{ab}
Tinto Suave Ed	5352,00 \pm 3,60 ^{ab}
Tinto Suave Fa	3962,00 \pm 2,87 ^b
Tinto Seco A	5520,00 \pm 4,58 ^{ab}
Tinto Seco B	5508,00 \pm 4,72 ^{ab}
Tinto Seco C	5618,00 \pm 3,09 ^a
Tinto Seco D	5736,00 \pm 0,48 ^a
Tinto Seco E	4271,00 \pm 1,46 ^{ab}
Tinto Seco F	4137,00 \pm 3,95 ^{ab}

* Resultados expressos em média \pm S.D.; n = 3.

** Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P <0,05);

A capacidade antioxidante das amostras variou de 3962 – 5736 $\mu\text{mol TE.L}^{-1}$. Nota-se que a atividade antioxidante apresentou-se maior nas amostras de Tinto Seco embora, comparativamente, não houve diferença significativa entre a maioria das amostras de Tinto Suave e Tinto Seco (Tinto Suave Bz, Cd, Ds, Ed e Tinto Seco A, B, E e F não apresentando diferença significativa entre si).

Diversos trabalhos fizeram uso desta mesma metodologia para determinação da atividade antioxidante (GONZÁLES-SANJOSÉ, M.L.; MUNIZ, P.; RIVERO-PÉREZ, M.D., 2008). Isso indica que as amostras utilizadas neste trabalho apresentam uma atividade antioxidante condizente, porém relativamente baixa se comparadas com as demais.

O radical DPPH[•] é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido, passa a ter coloração amarela. A reação está expressa na Figura 11.

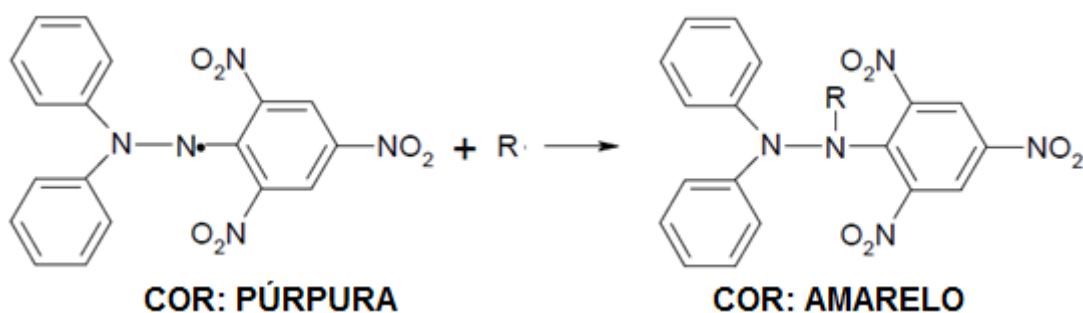


Figura 11. Reação de sequestro de radical.

Fonte: Prior, Wu e Schaich (2005)

O método baseia-se na capacidade do DPPH[•] em reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes, o DPPH[•] recebe H⁺, sendo então reduzido. Pode ser facilmente detectado por meio de espectroscopia devido a sua intensa absorção na região do visível.

O ensaio é iniciado pela adição do DPPH[•] à amostra, em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação, é evidenciado pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então a porcentagem de DPPH restante é proporcional à concentração de antioxidante (SANCHEZ-MORENO, 2002; BONDET et al. 1997).

A Tabela 7 traz os resultados para as análises através deste método.

Tabela 7. Capacidade antioxidante determinada por DPPH.

Amostras	DPPH ($\mu\text{mol TE.L}^{-1}$)
Tinto Suave Am	8130,00 \pm 0,56 ^{ab}
Tinto Suave Bz	8070,00 \pm 0,45 ^b
Tinto Suave Cd	8190,00 \pm 0,05 ^a
Tinto Suave Ds	8147,00 \pm 0,13 ^{ab}
Tinto Suave Ed	8168,00 \pm 0,42 ^a
Tinto Suave Fa	8180,00 \pm 0,01 ^a
Tinto Seco A	8143,00 \pm 0,06 ^{ab}
Tinto Seco B	8188,00 \pm 0,06 ^a
Tinto Seco C	8213,00 \pm 0,64 ^a
Tinto Seco D	8169,00 \pm 0,02 ^a
Tinto Seco E	8163,00 \pm 0,64 ^a
Tinto Seco F	8149,00 \pm 0,20 ^{ab}

* Resultados expressos em média \pm S.D.; n = 3.

** Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P < 0,05);

Nota-se que as capacidades antioxidantes variaram de 8070 – 8213 $\mu\text{mol TE.L}^{-1}$, apresentando diferença significativa (P < 0,05). Os valores estão de acordo com os encontrados na literatura para vinhos. Defraigne et al., 2014, por exemplo, encontrou valores variando entre 3706 – 8699 $\mu\text{mol TE.L}^{-1}$.

Fazendo-se um comparativo com o método previamente utilizado, percebe-se que os valores encontrados são divergentes. Isso porque no primeiro ensaio, a amostra Tinto Suave Fa apresentava menor capacidade antioxidante; para o ensaio DPPH, a amostra Tinto Suave Bz apresentou menor valor. Para as maiores capacidades antioxidantes nota-se também esta variação: em ABTS a maior capacidade era da amostra Tinto Seco D; já em DPPH, foi da amostra Tinto Seco C.

Essa divergência encontrada entre os métodos ocorre devido ao mecanismo de reação de cada caso, ambos resultando de neutralização ou redução de um radical. O DPPH tem seu resultado baseado na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Já o ABTS, expressa em seu resultado a transferência de um átomo de hidrogênio.

De acordo com Chun et al., 2011. a capacidade antioxidante detectada pelo ensaio ABTS é significativamente maior para frutas, legumes e bebidas em comparação com a obtida pelo ensaio DPPH. Os antioxidantes de alta pigmentação e hidrofílicas foram melhor refletidos pelo ensaio ABTS do que

pelo ensaio DPPH. Estes dados sugerem que o ensaio de ABTS pode ser mais útil do que DPPH ensaio para a detecção da capacidade antioxidante em uma variedade de alimentos.

Para explorar a relação entre os níveis de TPC, TFC, AMT e atividade antioxidante das amostras de vinho, a análise de correlação de Pearson (Tabela 8) foi realizada.

Tabela 8. Matriz de Correlação de Pearson e respectivos p-valores.

ENSAIOS	CFT	TFC	AMT	DPPH	ABTS
CFT	1	[†] 0,9421	[†] -0,4290	[†] 0,6470	[†] 0,3512
TFC	[‡] 0,00004651	1	[†] -0,4311	[†] 0,6267	[†] 0,3267
AMT	[‡] 0,1730	[‡] 0,1617	1	[†] -0,4853	[†] 0,2653
DPPH	[‡] 0,0230	[‡] 0,0292	[‡] 0,1101	1	[†] 0,2799
ABTS	[‡] 0,2629	[‡] 0,3000	[‡] 0,4046	[‡] 0,3783	1

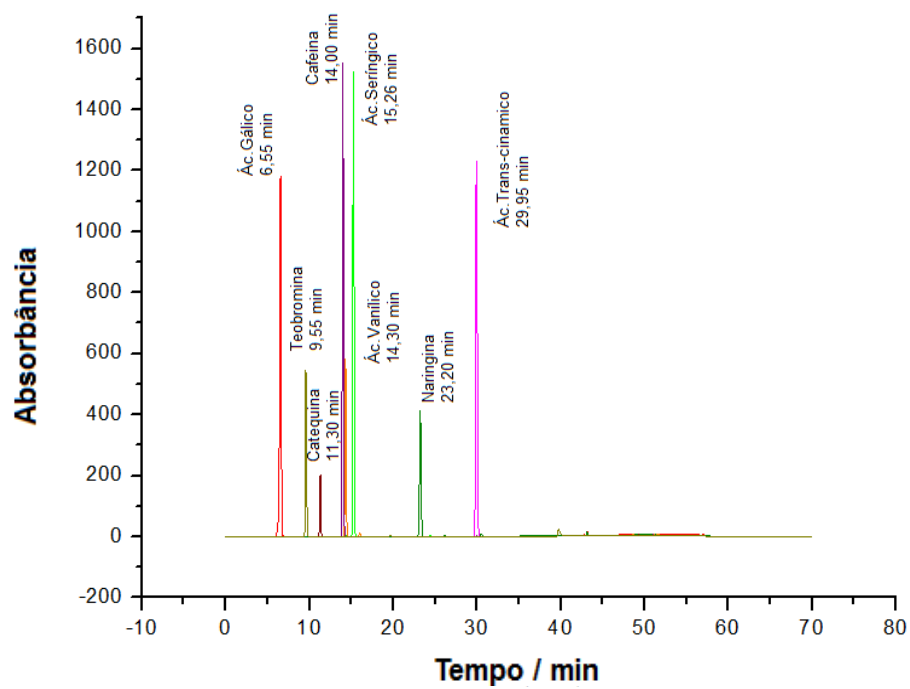
[†] Matriz de Correlação de Pearson; [‡] Matriz de p-valores.

Através da correlação de Pearson, pode-se verificar que o TPC tem correlação positiva significativa (0,9421) com o TFC, comprovada pelo p-valor de 0,0000465. Em trabalho realizado por Xu *et al.* (2010) em óleo de sementes de uva, também foi observada correlação direta de TPC com TFC. Constatou-se também a mesma relação entre CFT e DPPH (0,6470), comprovada pelo p-valor de 0,0230, menor que o nível de significância adotado de 5%. Da mesma forma ocorre associação significativa entre TFC e DPPH (0,6267), com p-valor de 0,0292.

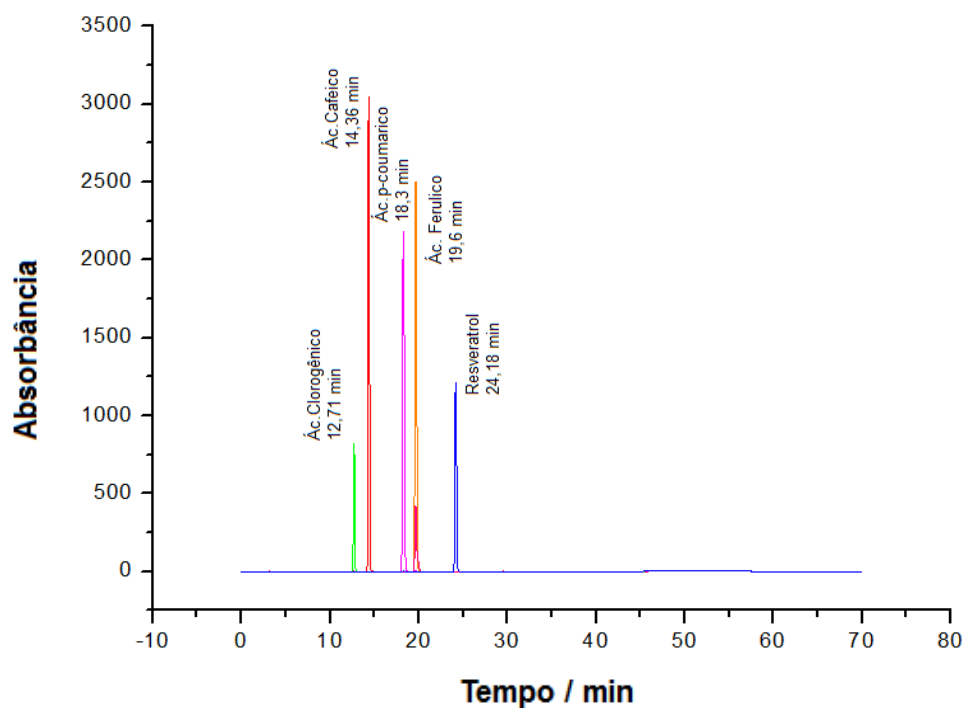
Já o ensaio antioxidante ABTS não apresentou uma boa correlação com o TPC, indicando que há baixa associação entre eles. O mesmo ocorre entre o ensaio AMT com o CFT, com correlação negativa (-0,4290).

Todas as amostras foram submetidas à análise por CLAE-DAD para quantificação de compostos fenólicos (Figura 12(a)(b)(c)). Derivados de flavonóides, estilbenos e ácidos (hidroxibenzóico e hidroxicinâmico) foram detectados e quantificados; os dados pertinentes às amostras foram divididos em duas tabelas (amostras de Tinto Suave – Tabela 9a e Tinto Seco – Tabela 9b) afim de facilitar a visualização e comparação.

a) 280 nm



b) 320 nm



c) 370 nm

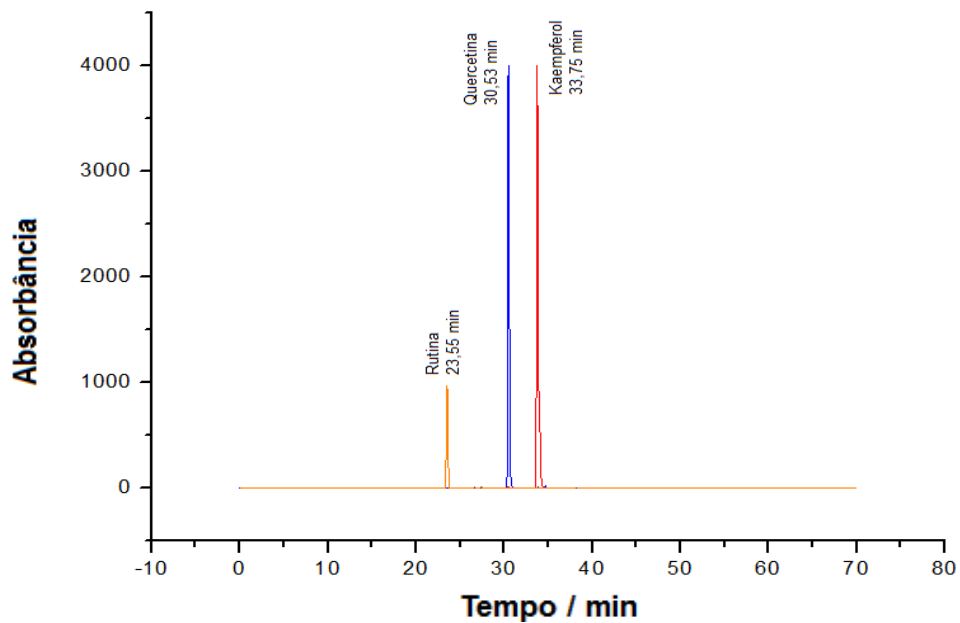


Figura 12. Cromatogramas dos padrões utilizados com respectivas absorvâncias e tempos de retenção. (a) 280 nm; (b) 320 nm e (c) 370 nm

Tabela 9a. Quantificação de compostos fenólicos em amostras de vinhos tinto suave por cromatografia líquida de alta eficiência.

Compostos	λ (nm)	Equação	R ²	LD	LQ	T _R (min)	^{II} Suave Am	^{II} Suave Bz	^{II} Suave Cd	^{II} Suave Ds	^{II} Suave Ed	^{II} Suave Fa
<i>Ácidos</i>												
<i>Hidroxibenzoico</i>												
Ácido Gálico	280	y = -6434,11+29621,50*x	0,98	0,04	0,39	6,55	0,87 ± 0,06	12,79 ± 0,02	18,23 ± 0,00	17,13 ± 0,02	3,01 ± 0,02	30,71 ± 0,05
Ácido Siringico	280	y = 4580,18+33614,27*x	0,99	0,02	0,20	15,25	25,99 ± 0,03	26,95 ± 0,10	6,69 ± 0,04	6,49 ± 0,05	11,04 ± 0,05	28,65 ± 0,00
Ácido Vanílico	280	y = -33675,07+71976,22*x	0,99	0,01	0,08	14,30	5,43 ± 0,08	28,88 ± 0,08	9,77 ± 0,03	9,59 ± 0,00	23,80 ± 0,03	35,98 ± 0,04
<i>Ácidos</i>												
<i>Hidroxicinâmico</i>												
Ácido Caféico	320	y = -89330,15 + 74270,21*x	0,98	0,01	0,08	14,36	2,05 ± 0,13	28,09 ± 0,02	5,27 ± 0,04	5,09 ± 0,02	18,85 ± 0,01	36,71 ± 0,02
Ácido p-Coumárico	320	y = -71576,47 + 75886,92*x	0,98	0,03	0,34	18,3	2,27 ± 0,05	14,07 ± 0,06	22,17 ± 0,05	19,64 ± 0,02	6,48 ± 0,05	12,83 ± 0,04
Ácido Ferúlico	320	y = -49585,43 + 72905,83*x	0,98	0,02	0,21	19,6	3,71 ± 0,15	0,37 ± 0,00	1,22 ± 0,04	1,71 ± 0,02	0,47 ± 0,00	0,52 ± 0,00
Ácido Clorogênico	320	y = 1777,72+22054,58*x	0,99	0,08	0,79	12,71	39,66 ± 0,00	8,80 ± 0,06	10,63 ± 0,04	6,63 ± 0,02	0,76 ± 0,00	17,44 ± 0,03
Ácido trans-Cinâmico	280	y = 55530,35+83436,83*x	0,99	0,02	0,17	29,95	0,37 ± 0,00	0,66 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,26 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,18 ± 0,00
<i>Flavonóides</i>												
Quercetina	370	y = -58287,42+44466,75*x	0,99	0,03	0,35	30,53	0,04 ± 0,00	1,77 ± 0,05	0,03 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,91 ± 0,01	0,24 ± 0,02
Catequina	280	y = -12669,78+7729,21*x	0,98	0,03	0,27	11,30	111,95 ± 0,06	23,40 ± 0,15	50,14 ± 0,02	34,52 ± 0,01	55,08 ± 0,02	28,79 ± 0,01
Rutina	370	y = 6924,63+13533,05*x	0,99	0,06	0,57	23,55	0,81 ± 0,03	0,94 ± 0,00	2,38 ± 0,02	2,86 ± 0,01	1,79 ± 0,04	0,10 ± 0,00
<i>Estilbeno</i>												
Resveratrol	320	y = -57,84+86900,82*x	0,99	0,01	0,05	24,18	0,81 ± 0,03	1,40 ± 0,03	1,51 ± 0,01	3,87 ± 0,00	2,86 ± 0,01	1,65 ± 0,01

^I LD: Limite de Detecção; LQ: Limite de Quantificação; T_R: Tempo de Retenção;

^{II} Concentrações em mg L⁻¹

Tabela 9b. Quantificação de compostos fenólicos em amostras de vinhos tinto seco por cromatografia líquida de alta eficiência.

Compostos	λ (nm)	Equação	R ²	LD	LQ	T _R (min)	Seco A	Seco B	Seco C	Seco D	Seco E	Seco F
<i>Ácidos</i>												
<i>Hidroxibenzoico</i>												
Ácido Gálico	280	y = -6434,11+29621,50*x	0,98	0,04	0,39	6,55	12,79 ± 0,02	27,16 ± 0,06	21,08 ± 0,01	52,63 ± 0,03	19,93 ± 0,02	19,00 ± 0,00
Ácido Siringico	280	y = 4580,18+33614,27*x	0,99	0,02	0,20	15,25	26,95 ± 0,10	19,81 ± 0,00	13,76 ± 0,05	18,19 ± 0,02	23,80 ± 0,04	33,81 ± 0,04
Ácido Vanílico	280	y = -33675,07+71976,22*x	0,99	0,01	0,08	14,30	28,88 ± 0,08	28,03 ± 0,03	31,25 ± 0,00	11,06 ± 0,02	25,01 ± 0,03	40,52 ± 0,02
<i>Ácidos</i>												
<i>Hidroxicinâmico</i>												
Ácido Caféico	320	y = -89330,15 + 74270,21*x	0,98	0,01	0,08	14,36	28,09 ± 0,02	28,56 ± 0,00	34,77 ± 0,00	4,14 ± 0,04	20,95 ± 0,02	41,27 ± 0,01
Ácido p-Coumárico	320	y = -71576,47 + 75886,92*x	0,98	0,03	0,34	18,3	14,07 ± 0,06	6,01 ± 0,05	36,43 ± 0,01	5,38 ± 0,03	8,28 ± 0,01	15,14 ± 0,02
Ácido Ferúlico	320	y = -49585,43 + 72905,83*x	0,98	0,02	0,21	19,6	0,37 ± 0,00	0,43 ± 0,00	0,35 ± 0,01	0,67 ± 0,00	0,70 ± 0,00	0,74 ± 0,02
Ácido Clorogênico	320	y = 1777,72+22054,58*x	0,99	0,08	0,79	12,71	8,80 ± 0,06	1,30 ± 0,00	28,25 ± 0,04	4,35 ± 0,04	1,42 ± 0,01	20,42 ± 0,05
Ácido trans-Cinâmico	280	y = 55530,35+83436,83*x	0,99	0,02	0,17	29,95	0,66 ± 0,00	0,48 ± 0,02	1,44 ± 0,01	0,43 ± 0,02	0,44 ± 0,01	0,65 ± 0,00
<i>Flavonóides</i>												
Quercetina	370	y = -58287,42+44466,75*x	0,99	0,03	0,35	30,53	1,77 ± 0,05	2,73 ± 0,00	1,03 ± 0,04	2,64 ± 0,02	1,82 ± 0,05	1,22 ± 0,01
Catequina	280	y = -12669,78+7729,21*x	0,98	0,03	0,27	11,30	23,40 ± 0,15	39,55 ± 0,01	49,64 ± 0,02	61,58 ± 0,02	44,68 ± 0,04	29,30 ± 0,03
Rutina	370	y = 6924,63+13533,05*x	0,99	0,06	0,57	23,55	0,94 ± 0,00	0,27 ± 0,02	0,59 ± 0,02	2,43 ± 0,01	1,76 ± 0,01	0,15 ± 0,00
<i>Estilbeno</i>												
Resveratrol	320	y = -57,84+86900,82*x	0,99	0,01	0,05	24,18	1,40 ± 0,03	0,74 ± 0,04	2,00 ± 0,01	0,77 ± 0,03	5,09 ± 0,03	1,98 ± 0,00

^I LD: Limite de Detecção; LQ: Limite de Quantificação; T_R: Tempo de Retenção;

^{II} Concentrações em mg L⁻¹

O LD e o LQ estão expressos em mg L^{-1} . Todos os analitos apresentaram valores acima do LQ.

O ácido gálico, um ácido fenólico não-flavonóide dentre os mais analisados em amostras de vinho, tanto nas suaves quanto nas secas, estava presente em concentrações variando de 5,87 a 52,63 mg.L^{-1} . Estes valores estão de acordo com os encontrados em Esra (2012) e Gris et al (2013). Os ácidos siríngico e vanílico apresentaram os maiores valores nas amostras de Tinto Seco, variando de 13,76 a 33,81 e de 11,06 a 40,52 mg.L^{-1} , respectivamente.

Com relação à rutina, foi encontrado para as amostras de Tinto Suave valores na faixa de 0,10 a 2,86 mg.L^{-1} ; já para Tinto Seco, as concentrações variaram de 0,15 a 2,43 mg.L^{-1} . Para Garaguso e Nardini (2015), a faixa de valores foi um pouco acima do encontrado: 0,9 a 27,0 mg L^{-1} em vinhos orgânicos.

O valor mais elevado encontrado em todas as amostras, independente da variedade foi a catequina, antioxidante natural pertencente ao grupo flavanóis. Dos valores encontrados para as amostras de Tinto Suave, o mais alto foi para a amostra Am, de 111,95 mg L^{-1} e para amostra de Tinto Seco D, 61,58 mg L^{-1} . Os valores encontrados para este flavonol estão de acordo com os encontrados em estudos de Esra (2012), Defraigne et al (2014) e Garaguso e Nardini (2015).

O elevado teor de catequina encontrado nas amostras pode estar relacionado com as sementes de uva, como sugerido no trabalho realizado por Montealegre *et al.* (2006), no qual as sementes de uva são compostas quase exclusivamente de flavanóis como a catequina.

Ainda de acordo com as concentrações encontradas na literatura, o resveratrol nestas análises variou nas amostras de Tinto suave de 0,81 a 3,87 mg L^{-1} e nas de Tinto Seco de 0,74 a 5,09 mg L^{-1} . Defraigne et al (2014) encontrou concentrações variando de 0,67 a 6,97 mg L^{-1} ; já Garaguso e Nardini (2015), de 0,14 a 5,6 mg L^{-1}

7. CONCLUSÃO

Os dados obtidos através das diversas análises quando comparados com os disponíveis na literatura demonstraram que as amostras de vinho utilizadas como objeto de estudo, ainda que apresentem valores menores, possuem as características majoritárias dos vinhos provenientes de variedades internacionais.

Valores de compostos fenólicos totais e flavonóides puderam caracterizar as amostras em questão, evidenciando que as amostras de Tinto Seco provenientes das variedades Cabernet e Tannat mostraram-se mais concentradas nestes quesitos se comparadas às de Tinto Suave. Com relação às antocianinas monoméricas totais, as variedades de Tinto Suave apresentaram os maiores valores.

De modo geral, as amostras de Tinto Seco apresentaram valores maiores frente às de Tinto Suave, o que pode ser explicado pelas condições que envolvem a produção deste tipo de vinho. A colheita tardia, na qual a uva acaba gerando mais sacarose e interferindo no teor de doçura final ou até mesmo a adição de açúcares para que se atinja a concentração ideal para ser considerado um vinho suave são fatores que podem influenciar na quantificação dos parâmetros no produto final.

A catequina, um flavonóide, foi o composto de maior concentração encontrado nas amostras. Os ácidos siríngico e vanílico apresentaram concentrações dentro das esperadas pela literatura. Da mesma maneira, tanto para Tinto Suave quanto para Tinto Seco, o resveratrol apresentou valores correlatos. Fatores como pressão de prensagem, tempo de maceração, espécie ou fatores climáticos, podem alterar os dados aqui apresentados.

Os resultados obtidos neste estudo mostram a existência de diferenças significativas entre as amostras em relação ao teor de compostos fenólicos, flavonóides e antocianinas, assim como a atividade antioxidante. Isso se deve às diferentes características das uvas, bem como, no caso da atividade antioxidante, à qual espécie está associada à análise em questão. Através da correlação de Pearson, verificou-se que a concentração de antocianinas é inversamente correlata ao teor de compostos fenólicos totais.

Desta maneira, pode-se perceber que independente da classificação do vinho em questão é possível obter-se compostos bioativos de certa forma compatíveis com os vinhos que requerem um cuidado maior no processo de vitivinicultura.

8. REFERÊNCIAS

- ABIVIDRO:** Disponível em: < <http://www.abividro.org.br/noticias/como-esterilizar-frascos-de-vidro> >. Acesso em: 20/03/2015.
- AGMUNIERCAM, E.; AKYILDIZ, A.; EVRENDILEK, G. A. Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. **Food Chemistry**, v. 143, p. 354-361, Jan 15 2014.
- AHMED, I. A. et al. Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised *Baccaurea angulata* fruit. **Food Chemistry**, v. 172, p. 778-787, Apr 1 2015.
- ALCALDE-EON, C. et al. Anthocyanin and flavonol profiles of *Vitis vinifera* L. cv Rufete grapes. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 53, p. 76-80, Apr 2014.
- ALI, K. et al. Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 3, p. 357-378, Sep 2010.
- AMENDOLA, D.; DE FAVERI, D. M.; SPIGNO, G. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. **Journal of Food Engineering**, v. 97, n. 3, p. 384-392, Apr 2010.
- ANGELO, P. M, JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 66(1): p. 1-9, 2007
- ANTONIOLLI, A. et al. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. **Food Chemistry**, v. 178, n. 0, p. 172-178, 2015.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International. 1995. Tannin in Distilled Liquors. AOAC Official Method 952.03. In Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed., (P. Cunniff, ed.) ch. 26, p. 16. AOAC Int., Arlington, Va.
- ARCHELA, E.; ANTONIA, L. H. D. Determinação de compostos fenólicos em vinho: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013
- BAE, I. K. et al. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. **Food Chemistry**, v. 172, p. 469-475, Apr 1 2015.
- BANON, S. et al. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Science**, v. 77, n. 4, p. 626-633, Dec 2007.
- BARONI, M. et al. How good antioxidant is the red wine? Comparison of some *in vitro* and *in vivo* methods to assess the antioxidant capacity of Argentinean red wines. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p. 1-7, 2012.

- BARROS, A. et al. Evaluation of grape (*Vitis vinifera* L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly)phenolic compounds: A comparative study. **Food Research International**, v. 65, Part C, n. 0, p. 375-384, 2014.
- BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; AREAS, J. A. G. Effects of dietary bioactive compounds on obesity induced inflammation. **Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-656, Jul 2009.
- BATLOUNI, M. Álcool e sistema cardiovascular. **Arquivos Médicos ABC**, s. 2, p. 14-16, 2006.
- BIESALSKI, H. et al. Bioactive compounds: Definition and assessmet of activity. **Nutrition**, v. 25, p. 1202-1205, 2009.
- BOIDO, E. et al. Aroma Composition of *Vitis vinifera* Cv. Tannat: the Typical Red Wine from Uruguay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5408-5413, 2003.
- BOZAN, B.; TOSUN, G.; OZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 426-430, Jul 15 2008.
- BURIN, D. **A comunicação na cadeia produtiva do vinho**. Porto Alegre, 2003.
- BÜYÜKTUNCEL, E.; POR GAL, E. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. **Food Research International**, v. 45, p. 145-154, 2012.
- CAN, N. O.; ARLI, G.; ATKOSAR, Z. Rapid determination of free anthocyanins in foodstuffs using high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1082-1089, Feb 15 2012.
- CARIDI, D. et al. Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 691-699, 2007.
- CIMPOIU, C.; CRISTEA, V.; HOSU, A. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. **Food Chemistry**, v. 150, p. 113-118, 2014.
- CHANG, C. C. et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, n. 3, p. 178-182, Sep 2002.
- CHEN, P. X. et al. Characterization of free, conjugated and bound phenolics and lipophilic antioxidants in regular- and non-darkening cranberry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 185, p. 298-308, 2015.
- CHEN, S. et al. Predicting the anthocyanin content of wine grapes by NIR hyperspectral imaging. **Food Chemistry**, v. 172, p. 788-793, Apr 1 2015.

CHEONG, M. W. et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 388-396, Apr 2013.

CHUN, O. et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 1043-1048, 2011.

CHRISTENSEN, L. P.; FIDELIBUS, M. MERLOT. **University of California**, 2015. Disponível em: <
http://iv.ucdavis.edu/viticultural_information/?uid=20&ds=351 >. Acesso em: 05/06/2015.

CHRISTENSEN, P. et al. CABERNET SAUVIGNON. **University of California**, 2015. Disponível em: <
http://iv.ucdavis.edu/viticultural_information/?uid=8&ds=351 >. Acesso em: 05/06/2015.

CLARKE, O.; RAND, M. **Oz Clarke's Encyclopedia of Grapes**. Harcourt, 2001. ISBN 9780151007141. Disponível em: <
<https://books.google.com.br/books?id=ReJJAAAAYAAJ> >.

COLLINS, Carol H. Fundamentos de cromatografia. Campinas, SP: UNICAMP, c2006. 453 p. ISBN 8526807048.

DANI, C. et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 12, p. 2574-2580, Dec 2007.

DAVID, J. M. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2010.

DEFRAIGNE, J.O.; DOMMES, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; VAN LEEUW, R. Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.36, p. 40-50, 2014.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach**. 2nd. 2002. 515 ISBN 0470846275.

DOMMES, J. et al. Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 36, p. 40-50, 2014.

DOSHI, P.; ADSULE, P.; BANERJEE, K. Phenolic composition and antioxidant activity in grapevine parts and berries (*Vitis vinifera* L.) cv. Kishmish Chorny (Sharad Seedless) during maturation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1-9, Aug 2006.

DROSOU, C. et al. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. **Industrial Crops and Products**, v. 75, Part B, p. 141-149, 2015.

ESCARPA, A., GONZÁLEZ, M. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of

chromatographic and spectrophotometric methods. **Analytica Chimica Acta** v. 427 p. 119–127, 2001.

ESCRICHE, I.; OROIAN, M. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.

FONTANA, A. R.; ANTONIOLLI, A.; BOTTINI, R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 38, p. 8987-9003, 2013.

FROMBAUM, M. et al. Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases. **Biochimie**, v. 94, n. 2, p. 269-276, 2012.

GALINDO, I. et al. Comparative inhibitory activity of the stilbenes resveratrol and oxyresveratrol on African swine fever virus replication. **Antiviral Research**, v. 91, n. 1, p. 57-63, 2011.

GARAGUSO, I.; NARDINI, M. Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. **Food Chemistry**, v. 179, p. 336-342, 2015.

GIACOSA, S. et al. Anthocyanin yield and skin softening during maceration, as affected by vineyard row orientation and grape ripeness of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. **Food Chemistry**, v. 174, p. 8-15, May 1 2015.

GIUSTI, M. M. et al. Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 2, p. 219-224, Mar-Apr 1998.

GOÉS, F.; ZANGIROLAMI, T. Optimization of Fermentation Condition for Wine Produced from the "Italia" Grape Variety In: 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering, 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering, 2005. Rio de Janeiro. **Anais**. p. 20, 2005.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. et al. Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking byproducts from 10 different grape varieties (*Vitis vinifera* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 48, p. 11850-11858, 2012.

GONZÁLES-SANJOSÉ, M.L.; MUNIZ, P.; RIVERO-PÉREZ, M.D. Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2815-2822, 2008.

GRIS, E.F. et al. Phenolic profile and effect of regular consumption of Brazilian red wines on *in vivo* antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p. 31-40, 2013.

GUERRA, C.C. Maturação da uva e condução da vinificação para elaboração de vinhos finos. In: *Viticultura e Enologia: Atualizando Conceitos*, 2002, Caldas. **Simpósio Mineiro de Viticultura e Enologia**, 1. Caldas: EPAMIG-FECD, p. 179-192, 2002.

GUERRA, C.C. Influência de parâmetros enológicos de maceração na vinificação em tinto sobre a evolução da cor e a qualidade do vinho. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 10, 2003, Bento Gonçalves. **Anais**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 15-18, 2003. (Documentos, 40)

GUERRA, C. C.; ZANUS, M.C. Maturação e colheita. In: **Uvas Viníferas Para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. (Sistema de Produção, 4).

Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 2012. Disponível em: <http://laboratorios.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/47/2013/11/guia-nacional-coleta-2012.pdf>

HAMINIUK, C. et al. Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2862-2866, 2014.

HOFFMAN, ALEXANDRE. **Sistema de produção de destilado de vinho**.

Disponível em:

<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoDestiladoVinho/index.htm> >.

HUANG, D. et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food chem**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IACOPINI, P. et al. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 589-598, Dec 2008.

IORA, S. R. F. et al. Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n. 1, p. 62-69, 2015a.

_____. Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 62-69, Jan 2015b.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed.** 2014.

IVANOVA-PETROPULOS, V. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 1-14, 2015.

JAYAPRAKASHA, G. K. et al. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 330-336, May 2007.

KAMMERER, D. et al. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 4360-4367, Jul 14 2004.

KRINSKY, N. I. THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF CAROTENOIDS. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 5, p. 1003-1010, May 1994.

LAGO-VANZELA, E. S. et al. Phenolic Composition of the Edible Parts (Flesh and Skin) of Bordô Grape (*Vitis labrusca*) Using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 24, p. 13136-13146, 2011.

LANÇAS, Fernando Mauro. Cromatografia líquida moderna: HPLC / CLAE. Campinas, SP: Átomo, 2009. 382 p. ISBN 978857670123-1.

LEE, S.-J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LIANG, N.-N. et al. Regional characteristics of anthocyanin and flavonol compounds from grapes of four *Vitis vinifera* varieties in five wine regions of China. **Food Research International**, v. 64, p. 264-274, Oct 2014.

LIMA, M. D. S. et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. **Food Chemistry**, v. 188, n. 0, p. 384-392, 2015.

_____. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, p. 94-103, Oct 15 2014.

LORGERIL, M.; RENAUD, S. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **Epidemiology**, v. 339, p. 1523-1526, Jun 1992.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, Dec 2004.

LU, M. et al. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 530-536, Mar 2011.

MAGALHÃES, L.M. et al. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, n 613, p. 1-19, 2008.

MAGALHÃES, L.M. et al. Automatic flow injection based methodologies for determination os scavenging capacity against biologically relevant reactive species of oxygen and nitrogen. **Talanta**, n. 78, p.1219-1226, 2009a.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, May 2004.

MEDOUNI-ADRAR, S. et al. Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 123-132, 2015.

MELLO, L. D.; KUBOTA, L. T. Biosensors as a tool for the antioxidant status evaluation. **Talanta**, v. 72, n. 2, p. 335-48, 20078.

MONRAD, J. K. et al. Extraction of anthocyanins and flavan-3-ols from red grape pomace continuously by coupling hot water extraction with a modified expeller. **Food Research International**, v. 65, p. 77-87, Nov 2014.

MONTEALEGRE, R. R. et al. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 687-693, Sep-Nov 2006.

MUDNIC, I. et al. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1205-1210, Apr 1 2010.

MULERO, J.; PARDO, F.; ZAFRILLA, P. Antioxidant activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 569-574, Sep 2010.

MUNIER, R. L. Les composés phénoliques des végétaux : par P. Ribereau-Gayon, Dunod, Paris, 1968, 254 pp., prix Fr. 57.50. **Journal of Chromatography A**, v. 39, n. 0, p. 524-525, 1969.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NÚÑEZ-SELLÉS, A. J. Antioxidant therapy: myth or reality? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 699-710, ago. 2005.

OLEJAR, K. J.; FEDRIZZI, B.; KILMARTIN, P. A. Influence of harvesting technique and maceration process on aroma and phenolic attributes of Sauvignon blanc wine. **Food Chemistry**, v. 183, n. 0, p. 181-189, 2015.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes. **Química Nova**, v. 31, n.3, p. 689-702, 2009.

OIV – Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (2011). Recueil des methods internationales d'analyse des vins et des mouts, edition 2011. 8th Assemblée Generale, 21 June 2010, Paris.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, Aug 2015.

ORTEGA, C. A.; JEZIORNY, L. D. **Vinho e território: a experiência do Vale dos Vinhedos**. Campinas, SP: Alínea, 2011. (coleção agronegócio).

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. São Paulo, SP: Cengage Learning: 2010. 700 p.

POJER, E. et al. The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 5, p. 483-508, Sep 2013.

PRIOR, R. L.; WU, X. L.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, May 18 2005.

RENAUD, S. C. et al. Alcohol and mortality in middle-aged men from Eastern France. **Epidemiology**, v. 9, n. 2, p. 184-188, Mar 1998.

RIBANI, M. et al. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, Sep-Oct 2004.

RICARDO-DA-SILVA, J. M.; SOUSA, I.; LAUREANO, O. Factores condicionantes dos processos de vinificação e conservação da cor de vinhos portugueses. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia 10, 2003, Bento Gonçalves. **Anais**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 69-86.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RICEEVANS, C. A.; MILLER, J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152-159, Apr 1997.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 897-901, 2011.

_____. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174-179, 2011.

_____. Solvent Influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) bagasse extracts from Tannat and Ancelota - different varieties of *Vitis vinifera* varieties

Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, p. 238-244, 2008-12 2008.

SANTOS, E. O. L. et al. Flavonols modulate the effector functions of healthy individuals' immune complex-stimulated neutrophils: A therapeutic perspective for rheumatoid arthritis. **International Immunopharmacology**, v. 21, n. 1, p. 102-111, Jul 2014.

SANTOS-BUELGA, C.; MATEUS, N.; DE FREITAS, V. Anthocyanins. Plant Pigments and Beyond. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 29, p. 6879-6884, Jul 23 2014.

SHAHIDI, D.; HO, C. Antioxidant measurement and implications: na overview. In:_____. **Antioxidant Measurement and applications**. USA: American Chemical Society, 2007.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SKINNER, M.; HUNTER, D. **Bioactives in Fruit : Health Benefits and Functional Foods**. Somerset, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2013.

SOCORRO MOURA RUFINO, M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **EMBRAPA**, p. 4, 2007a.

_____. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **EMBRAPA**, p. 4, 2007b.

SOCORRO MOURA RUFINO, M. D. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. p. 4, 2007.

SPIGNO, G.; TRARNELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 200-208, Jul 2007.

STEFENON, C. A. et al. Antioxidant activity of sparkling wines produced by Champenoise and Charmat methods. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 12-18, 2010.

SURVESWARAN, S. et al. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 938-953, 2007

TANNAT. **National Grapes Registry**, 2015. Disponível em: < <http://ngr.ucdavis.edu/varietyview.cfm?varietynum=3304> >. Acesso em: 05/06/2015.

THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, Sep-Nov 2006.

TOMAS-BARBERAN, F. A.; ANDRES-LACUEVA, C. Polyphenols and Health: Current State and Progress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 36, p. 8773-8775, Sep 12 2012.

TOURNOUR, H. H. et al. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 397-406, 2015.

TRUONG, V. D. et al. Pressurized liquid extraction and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato genotypes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, n. 1-2, p. 96-103, May-Jun 2012.

TUBEROSO, C. I. G. et al. Antioxidant capacity and vasodilatory properties of Mediterranean food: The case of Cannonau wine, myrtle berries liqueur and strawberry-tree honey. **Food Chemistry**, v. 140, n. 4, p. 686-691, Oct 15 2013.

Vinhos Durigan: Disponível em: < <http://vinhosdurigan.com.br/index.php?mod=hi> >. Acesso em: 16/03/2015.

WANG, Y. et al. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 431-435, Jan 30 2002.

WICZKOWSKI, W.; SZAWARA-NOWAK, D.; TOPOLSKA, J. Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. **Food Chemistry**, v. 167, p. 115-123, Jan 15 2015.

WROLSTAD, R. E. et al. Preface. In: (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

XIA, E. Q. et al. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 2, p. 622-646, Feb 2010.

XIE, L.; BOLLING, B. W. Characterisation of stilbenes in California almonds (*Prunus dulcis*) by UHPLC-MS. **Food Chemistry**, v. 148, p. 300-306, Apr 1 2014.

XU, C. et al. Extraction, distribution and characterisation of phenolic compounds and oil in grapeseeds. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 688-694, Oct 1 2010.

YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 2, p. 221-237, Feb 2013.

ZHU, F. et al. Advance on the bioactivity and potential applications of dietary fibre from grape pomace. **Food Chemistry**, v. 186, n. 0, p. 207-212, 2015.