

JULIANA MARIN STAHL

**ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE 10 VARIEDADES DE
UVA**

Botucatu - SP

2011

JULIANA MARIN STAHL

**ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE 10 VARIEDADES DE
UVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
entregue ao Instituto de Biociências da
UNESP de Botucatu, para obtenção do
grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Marcia Ortiz Mayo Marques

Supervisora: Silvia Rodrigues Machado

Botucatu - SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Stahl, Juliana Marin.

Compostos fenólicos de 10 variedades de uva / Juliana Marin Stahl. –
Botucatu : [s. n.], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Marcia Ortiz Mayo Marques

Capes: 20303009

1. Uva - Variedades. 2. Fenóis. 3. Flavonóides.

Palavras-chave: Antocianinas; Compostos fenólicos; Fenóis totais; Flavanóis;
Uva.

AGRADECIMENTOS

À Deus, em qualquer de suas formas, pela vida e por todas as oportunidades.

Aos meus pais, Edison e Fátima, pelo apoio inesgotável e o amor incondicional, que me dão segurança e conforto para caminhar.

Ao meu irmão Bruno e minha cunhada Gislaine, por estarem sempre ao meu lado, participando de todos os momentos da minha vida.

Ao Diegão, amigo, companheiro, namorado, meu amor, por fazer meus dias terem mais graça e minha vida mais sentido.

À Wilson, Roseli e Rodrigo (família postiça), por me acolherem com tanto carinho e respeito.

Aos avós, tios, primos e amigos por entenderem minha ausência em diversos momentos e me receberem com o mesmo carinho de sempre.

À turma BIOXLII - noturno, única e intensa, por todas as interações vividas, em especial as tantas harmoniosas. Foi um prazer aprender junto e com vocês durante esses 5 anos.

Às integrantes da República Fracotes por serem mães, irmãs, amigas, mas, principalmente, minhas filhas queridas.

À Profa. Dra. Silvia Machado e à Profa. Dra. Elza Guimarães, pela primeira oportunidade de pesquisa científica e extraordinária orientação, que tanto contribuíram para minha formação, e pela amizade.

Aos amigos da salinha 1 (Tatiane, Shelly, Yve, Clívia, Thunder e Catarina), pessoas maravilhosas e inteligentes, sempre dispostas a ajudar e a se divertir.

À Profa. Dra. Márcia Ortiz pela oportunidade de estágio, orientação e toda atenção prestada durante as dificuldades encontradas.

Aos colegas do Centro de P & D de Recursos Genéticos Vegetais - Fitoquímica do IAC pela convivência e por todo e qualquer auxílio prestados.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas pela oportunidade de estágio.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) por disponibilizar as amostras e pela liofilização das mesmas.

Ao Prof. Dr. Rogério Antônio de Oliveira, pela análise estatística dos resultados obtidos.

À todos aqueles que, mesmo que indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e, mais ainda colaboraram para que eu pudesse aproveitar esses 6 anos de graduação.

Resumo

Título: Análise de compostos fenólicos de 10 variedades de uva

Os compostos fenólicos representam um dos principais grupos de metabólitos secundários. Devido à sua diversidade química, apresentam uma variedade de funções nas plantas como, por exemplo, proteção contra a radiação ultravioleta, herbívoros e patógenos e atração de polinizadores ou dispersores de frutos e sementes. Para o homem, os compostos fenólicos são utilizados como corantes e flavorizantes de alimentos e, devido às suas propriedades farmacológicas, principalmente à atividade antioxidante, estão associados a vários efeitos benéficos à saúde, tais como retardo da senilidade, prevenção e terapia de doenças cardiovasculares e alguns cânceres. As uvas são consideradas uma das principais fontes de compostos fenólicos e, tanto o fruto quanto os seus produtos são consumidos no Brasil e no mundo. Considerando a diversidade de compostos fenólicos e a distribuição diferenciada destes nas partes da uva, este trabalho teve como objetivos a extração, identificação e quantificação das principais classes de compostos fenólicos da casca e da polpa de 10 variedades de uva. O conteúdo de fenóis, flavanóis e antocianinas totais foi determinado, respectivamente, segundo os métodos espectrofotométricos Folin-Ciocalteu, DMACA e comparação de pH. O conteúdo de fenóis totais variou entre 142.75 ± 1.86 e 483.39 ± 5.90 mg.L⁻¹ na casca e de 86.50 ± 0.54 a 146.32 ± 9.97 mg.L⁻¹ na polpa. A quantidade de flavanóis totais variou de 3.68 ± 0.03 a 6.92 ± 0.26 mg.L⁻¹ na casca e entre 0.90 ± 0.00 e 1.36 ± 0.00 mg.L⁻¹ na polpa. O conteúdo de antocianinas totais variou entre 7.00 ± 0.99 e 406.56 ± 39.50 mg.L⁻¹ na casca e de 2.88 ± 0.28 a 46.36 ± 1.89 mg.L⁻¹ na polpa. A concentração de compostos fenólicos foi maior na casca do que na polpa. O conteúdo de fenóis e antocianinas totais variou bastante enquanto o conteúdo de flavanóis totais foi mais constante. Os flavanóis representaram a menor fração de compostos fenólicos.

Palavras-chave: antocianinas; compostos fenólicos; fenóis totais; flavanóis; uva.

Abstract

Title: Analysis of phenolic compounds of 10 grape varieties

Phenolic compounds represent one of the main groups of secondary metabolites. Due to their chemical diversity, they have a variety of functions in plants, such as protection against ultraviolet radiation, herbivores and pathogens, and attraction of pollinators or dispersers of fruits and seeds. For human, the phenolic compounds are used like food colorings and flavors and, due to their pharmacological properties, mainly to antioxidant activity, they are associated with several health benefits, such as delay senility, prevention and therapy of cardiovascular diseases and of some cancers. The grapes are considered one of the main source of phenolic compounds and the fruit and its products are consumed in Brazil and worldwide. Considering the phenolic compounds diversity and their different distribution in the grape parts, this work had like aims the extraction, identification and quantification of the main classes of phenolic compounds of 10 grape varieties. The content of total phenols, flavanols and anthocyanins were determined, respectively, according to the Folin-Ciocalteu, DMACA and comparison of pH spectrophotometric methods. The content of total phenols varied from 142.75 ± 1.86 to 483.39 ± 5.90 mg.L⁻¹ in the peel and from 86.50 ± 0.54 to 146.32 ± 9.97 mg.L⁻¹ in the pulp. The amount of total flavanols varied from 3.68 ± 0.03 to 6.92 ± 0.26 mg.L⁻¹ in the peel and from 0.90 ± 0.00 to 1.36 ± 0.00 mg.L⁻¹ in the pulp. The content of total anthocyanins varied from 7.00 ± 0.99 to 406.56 ± 39.50 mg.L⁻¹ in the peel and from 2.88 ± 0.28 to 46.36 ± 1.89 mg.L⁻¹ in the pulp. The phenolic compounds concentration was higher in the peel than in the pulp. The total phenols and anthocyanins varied a lot while the total flavanols were more constant. The flavanols represent the smaller portion of phenolic compounds.

Key word: anthocyanins; grape; flavanols; phenolic compounds; total phenols.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	16
4. CONCLUSÃO.....	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1. Introdução

Metabólitos secundários

O metabolismo é o conjunto de reações químicas que ocorre nos organismos vivos visando a manutenção dos mesmos. Nas plantas, este pode ser dividido em primário e secundário. O metabolismo primário compreende atividades que desempenham função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos, e envolve substâncias que possuem distribuição universal nas plantas como, por exemplo, os aminoácidos, os nucleotídeos, os lipídios, os carboidratos e a clorofila (Simões *et al.*, 2004; Morais e Braz-Filho, 2007, Peres, 2011). Já o metabolismo secundário origina substâncias que não são necessariamente fundamentais para o desenvolvimento da planta e que apresentam distribuição restrita, mas podem garantir vantagens para a sua sobrevivência e para a perpetuação da espécie (Simões *et al.*, 2004; Morais e Braz-Filho, 2007, Peres, 2011). Desse modo, metabólitos secundários podem atuar na defesa contra o ataque de herbívoros e a infecção por patógenos, na atração (odor, cor ou sabor) de polinizadores e dispersores de semente, na competição entre as plantas (alelopatia) e na simbiose entre as plantas e os microorganismos (Simões *et al.*, 2004; Peres, 2011). Além disso, esses produtos também podem possuir ação protetora em relação a estresses abióticos, tais como aqueles associados com mudanças de temperatura, luminosidade, conteúdo de água e de nutrientes minerais e exposição aos raios UV (Simões *et al.*, 2004; Peres, 2011). Nota-se, portanto, que os metabólitos secundários desempenham papéis extremamente importantes na interação das plantas com o meio ambiente.

Segundo Rhodes (1994), no livro de Simões *et al.* (2004), o aparecimento de metabólitos secundários é determinado por necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas, caracterizando um complexo mecanismo de co-evolução entre as plantas e os organismos que interagem com elas. Esse processo está relacionado à enorme riqueza e diversidade de produtos secundários, o que tem estimulado o interesse de pesquisadores em todo o mundo e de vários campos da ciência, mas principalmente das áreas química e biológica, em estudá-los, desde o isolamento e identificação da substância até a descoberta de seu papel na planta e sua possível utilidade para o homem (Simões *et al.*, 2004; Morais e Braz-Filho, 2007).

O potencial químico das plantas atrai também o interesse das indústrias pelos produtos secundários, tais como as alimentícias, agroquímicas, farmacêuticas e de cosméticos, que utilizam, respectivamente, esses compostos como fonte de flavorizantes e corantes, herbicidas, fármacos e perfumes (Morais e Braz-Filho, 2007).

No meio científico, os metabólitos secundários podem ser utilizados ainda como marcadores para estudos taxonômicos (Quimiosistemática), para investigação de processos evolutivos (Evolução Química) e para compreensão da convivência no sistema ambiental (Ecologia Química) dos organismos vivos (Morais e Braz-Filho, 2007).

A diversidade da flora brasileira e dos produtos secundários já descobertos justificam a relevância desse tipo de atividade de pesquisa no Brasil, destacando as plantas nativas como fonte promissora e renovável de novas moléculas potencialmente úteis ao homem (Simões *et al.*, 2004; Moraes e Braz-Filho, 2007).

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos representam uma das principais classes de metabólitos secundários, com mais de 10000 substâncias e são sintetizados pela via do ácido chiquímico e/ou pela via do ácido mevalônico (Gershenzon, 2004). Tais compostos possuem em comum pelo menos um grupo fenol (hidroxila funcional ligada a um anel aromático) em sua estrutura química. Formam um grupo quimicamente heterogêneo que inclui uma grande diversidade de substâncias classificadas quanto à estrutura química, simples ou complexa, e quanto à distribuição no reino vegetal, restrita ou ampla, sendo que a maioria dos compostos fenólicos simples possui distribuição restrita (Simões *et al.*, 2004).

Quanto à estrutura química, as classes de compostos fenólicos são diferenciadas pelo número de anéis aromáticos da cadeia e pelo número de carbonos ligados a esta. Assim, fenóis simples, ácidos fenólicos e os fenilpropanóides são exemplos de compostos fenólicos mais simples e estilbenos, flavonóides, ligninas e taninos de compostos fenólicos mais complexos. Cada classe apresenta variação intrínseca devido à ligação de diferentes substituintes à estrutura básica, principalmente de hidroxilas e metoxilas. Ainda, polifenol é o nome utilizado para referir-se aos compostos fenólicos que possuem mais de um grupo hidroxila no anel aromático.

É preciso ressaltar ainda que os compostos fenólicos podem ser encontrados na forma livre, sendo denominados genericamente de agliconas, embora a maioria deles esteja ligada a uma ou mais unidades de açúcar, formando o que se denomina heterosídeos. Por serem aromáticos, esses compostos apresentam intensa absorção na região do UV e, por serem fenólicos, são muito reativos quimicamente, o que deve ser considerado quando do seu isolamento dos vegetais (Simões *et al.*, 2004).

Devido à sua diversidade química, os compostos fenólicos possuem praticamente todas as funções nas plantas citadas anteriormente para os metabólitos secundários em geral

(Simões *et al.*, 2004). Estudos epidemiológicos, clínicos e *in vitro* mostram múltiplos efeitos biológicos relacionados aos compostos fenólicos da dieta alimentar, tais como: atividades antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (Abe *et al.*, 2007).

Dentre as principais classes de compostos fenólicos, os flavonóides constituem a maior delas, com mais de 4200 compostos (Simões *et al.*, 2004). Possuem estrutura molecular básica composta por dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de três carbonos, totalizando 15 átomos de carbono que apresentam-se, frequentemente, hidroxilados e/ou conjugados com moléculas de açúcar. Podem ser classificados em diferentes grupos e as principais classes são, em ordem crescente de complexidade da molécula: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, isoflavonóides.

As funções dos flavonóides para as plantas são, entre outras: proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e alelopatia. E entre as propriedades farmacológicas que eles podem desempenhar destacam-se as atividades antiinflamatória e antioxidante (Simões *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2000).

Compostos fenólicos em alimentos e bebidas

Os compostos fenólicos contribuem para o sabor, aroma, adstringência e coloração de diversos vegetais, sendo que as principais fontes desses compostos na dieta são: limão, laranja, tangerina, cereja, uva, ameixa, pêra, maçã, mamão, pimenta verde, brócolis, repolho roxo, tomate, cebola e alho (Angelo e Jorge, 2007).

Além da importância econômica, por serem utilizados como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas, vários efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos compostos fenólicos presentes nas frutas, vegetais, chás e vinhos (Simões *et al.*, 2004; Abe *et al.*, 2007; Angelo e Jorge, 2007). Em geral, essas ações terapêuticas estão relacionadas à capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, inclusos na categoria de interruptores de radicais livres. Este mecanismo de ação antioxidante auxilia também na conservação do alimento e, portanto, melhora a qualidade do mesmo. Exemplos de compostos fenólicos que possuem este potencial são: resveratrol, quercetina, ácido caféico e flavonóis (Angelo e Jorge, 2007).

Uva e viticultura

As uvas são frutos produzidos por espécies do gênero *Vitis*, chamadas popularmente de videiras ou parreiras e pertencente à família Vitaceae. Essa família possui distribuição

tropical e subtropical, incluindo cerca de 12 gêneros e 800 espécies. No Brasil ocorre apenas o gênero *Cissus*, com cerca de 50 espécies. (Souza e Lorenzi, 2008).

A viticultura (ciência que estuda a produção de uva) é uma atividade mundialmente importante, compreendendo uma área de, aproximadamente, 7.300.000 hectares e que apresentou uma produção de 67,22 milhões de toneladas, segundo dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) no ano de 2007 (Mello, 2009).

Dados históricos revelam que a primeira introdução da videira no Brasil foi feita pelos colonizadores portugueses em 1532, através de Martin Afonso de Souza, na então Capitania de São Vicente, hoje Estado de São Paulo. Deste ponto e através de introduções posteriores, a viticultura expandiu-se para outras regiões do país. No entanto, a viticultura tropical brasileira foi efetivamente desenvolvida a partir da década de 1960 e, iniciativas mais recentes, permitem que se projete um aumento significativo na atividade vitivinícola nos próximos anos (Protas *et al.*, 2002).

A viticultura no Brasil ocupa uma área de, aproximadamente, 83.700 hectares e produz cerca de 1.300.000 toneladas de uva, sendo o Rio Grande do Sul responsável por metade dessa produção, segundo dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (Mello, 2011a). Mais da metade da produção de uvas, no Brasil, é destinada para o consumo *in natura* e a outra parte processada e utilizada como matéria-prima na produção de sucos e vinhos.

Segundo dados da FAO para o ano de 2007, o Brasil ocupou o 17º lugar em área cultivada com uvas, o 19º em produção, o 11º colocado em quantidade de uvas exportadas, o 7º em valor das exportações de uvas e o 10º maior exportador de suco de uvas, em quantidade e em valor (Mello, 2011b).

Compostos fenólicos em uva

Vários benefícios à saúde estão associados ao consumo de uva e de seus produtos. Registros históricos mostram que o uso medicinal do vinho pelo homem tem sido uma prática realizada há mais de 2000 anos (Penna *et al.*, 2004). Hoje, os benefícios estão relacionados, principalmente, à prevenção e à terapia de doenças cardiovasculares, à prevenção de vários tipos de câncer e ao retardo dos sintomas da senilidade (Penna *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2006; Jornal Hoje, 2011). Os compostos aos quais foram atribuídas essas possíveis ações terapêuticas são os compostos fenólicos e, dentre eles, vale destacar o resveratrol, apontado em muitos estudos científicos como o principal fator de proteção à saúde.

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais da dieta. Porém, a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil de polifenólicos (Abe *et al.*, 2007). Assim, os compostos fenólicos são os grandes responsáveis pelas diferenças entre uvas e vinhos tintos e brancos e, portanto, revestem-se de fundamental importância na qualidade (cor, corpo e adstringência) da uva e de seus produtos (Cabrita *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos presentes nas uvas são, geralmente, polifenóis e podem ser classificados em flavonóides e não-flavonóides. Flavonóis, flavanóis e antocianinas pertencem ao primeiro grupo e os ácidos fenólicos, os estilbenos (resveratrol) e os fenóis voláteis ao segundo (Cabrita *et al.*, 2003; Abe *et al.*, 2007). Esses compostos estão distribuídos de maneira diferente (presença/ausência e pequena/grande quantidade) nas partes do fruto: na casca é possível encontrar todos eles; na polpa são encontrados flavanóis e ácidos fenólicos; e nas sementes somente flavanóis (Cabrita *et al.*, 2003).

As antocianinas (cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são flavonóides amplamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul e violeta e todas as tonalidades de vermelho presentes em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes. Em uvas tintas, as antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos, representando um constituinte importante para a produção de vinhos tintos porque contribuem para os atributos sensoriais e, principalmente, para a coloração do vinho. Elas podem estar presentes na casca e na polpa, no caso das uvas tintureiras, ou apenas na casca e nas 3 ou 4 primeiras camadas da hipoderme nas uvas tintas. Estruturalmente, são glicosídeos que diferenciam-se pelo número de grupos hidroxila e/ou metoxila ligados ao anel lateral, pelo número e natureza dos açúcares ligados à molécula e pelo número e natureza das cadeias esterificadas com os açúcares. As formas agliconas são chamadas de antocianidinas e são instáveis e menos solúveis em água.

Os flavanóis (catequina, epicatequina e epigalocatequina), presentes principalmente nas sementes das uvas, são os principais compostos fenólicos responsáveis pelo sabor e adstringência de vinhos e sucos de uva. Dentre os flavanóis, destacam-se os 3-flavanóis e as proantocianidinas. A (+)-catequina e a (-)-epicatequina são os 3-flavanóis mais encontrados, sendo o primeiro mais representativo e o principal flavonóide em uvas brancas. As proantocianidinas são dímeros, trímeros, oligômeros ou polímeros de 3-flavanóis, sendo que as encontradas em maior quantidade em uvas e vinhos são constituídas por (+)-catequina e (-)-epicatequina e denominadas procianidinas.

Os flavonóis (quercetina, caemferol e miricetina), embora presentes em menor quantidade e somente na casca, na forma de glicosídeos, possuem importante papel no desenvolvimento da coloração do vinho, atuando como co-pigmentos junto às antocianinas.

Os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos, também usualmente encontrados em baixas concentrações, representam um dos principais compostos em uvas brancas, influenciando o aroma e gosto dos vinhos.

O resveratrol tem atraído atenção especial nas últimas décadas em decorrência de estudos epidemiológicos que mostram correlação inversa entre o consumo moderado de vinho e a incidência de doenças cardiovasculares. O resveratrol pode ser encontrado em amendoim, cacau, algumas variedades de chás, porém, a principal fonte são as uvas e seus derivados. Sua biossíntese nas plantas é induzida por fatores ambientais como a radiação UV e infecção por fungos. (Abe *et al.*, 2007)

Vale destacar que os polifenóis encontram-se: na polpa, dissolvidos nos vasos fibrovasculares e nos vacúolos das células, adsorvidos ou unidos à polissacarídeos; na casca, livres no suco vascular das células, unidos aos polissacarídeos da parede celular e às proteínas constituintes da membrana dos vacúolos; nas sementes, localizados nos tecidos mais externos (Cabrita *et al.*, 2003).

É interessante ressaltar também que os mesmos polifenóis presentes no fruto podem ser encontrados em outras partes da planta como, por exemplo, nos órgãos fotossintéticos ou nos órgãos de transporte (Cabrita *et al.*, 2003).

Determinação de compostos fenólicos em uva – diferentes metodologias.

Os compostos fenólicos presentes nas uvas foram, em menor ou maior abrangência, o objetivo de várias pesquisas científicas (Jaworski e Lee, 1987; Oszmianski e Lee, 1990; Baldi *et al.*, 1995; Arnous *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2002; Cabrita *et al.*, 2003; Malacrida e Motta, 2005; Freitas, 2006; Abe *et al.*, 2007; Falcão *et al.*, 2007; Cataneo *et al.*, 2008; Soares *et al.*, 2008).

Como material para extração desses compostos, foram utilizados o próprio fruto, o suco e a geléia de uva, o vinho e o mosto, provenientes de diversas cultivares. Metodologias variadas, desde as mais simples, como as espectrofotométricas, até as que utilizam as tecnologias mais avançadas, como o HPLC-MS, foram empregadas.

Geralmente, as pesquisas são feitas para os vinhos e, além da determinação de fenóis, flavanóis e antocianinas totais, é avaliada também a atividade antioxidante e/ou alguma propriedade físico-química.

Destaca-se o realizado por Cataneo e colaboradores (2008), que estudaram o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante do resíduo agroindustrial da produção de vinho, pela fonte alternativa de compostos fenólicos encontrada, sugerindo perspectiva sustentável para a exploração desses pelas indústrias de fitoterápicos e de complementos alimentares. E o de Freitas (2006) que avaliou a qualidade de quatro variedades de vinho tinto de duas safras provenientes de regiões do Rio Grande do Sul, relacionando a evolução dos compostos fenólicos dos vinhos tintos com a origem geográfica e as condições meteorológicas durante a maturação das uvas.

Vale ressaltar também o de Malacrida e Motta (2005) que avaliaram o conteúdo de fenólicos totais e antocianinas em sucos de uva de diferentes marcas comercializadas em Minas Gerais e encontraram concentrações semelhantes às observadas em vinhos tintos, mostrando vantagens da ingestão do suco de uva sob a de vinhos, já que a ausência de álcool permite que o produto seja consumido por um maior número de pessoas, inclusive crianças e doentes hepáticos. E o de Kuskoski e colaboradores (2006) que investigaram os polifenóis, as antocianinas e a atividade antioxidante de frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas, entre elas a de uva, já que o interesse de produtores e consumidores pelo produto está em expansão.

Justificativa

Considerando a diversidade de compostos fenólicos presentes nas uvas, a variabilidade encontrada nas cultivares e a distribuição diferenciada nas partes da uva, o presente trabalho teve como objetivo conhecer o teor dos compostos, bem como a distribuição dos mesmos no fruto através da extração, identificação e quantificação das principais classes de compostos fenólicos da casca e da polpa de dez variedades de uva. Os dados obtidos serão importantes para a tomada de decisões do Programa de Melhoramento Genético de Uva, mantido pela Embrapa Uva e Vinho, e, posteriormente, para o desenvolvimento de produtos de melhor qualidade.

2. Material e Métodos

2.1. Amostras

As dez variedades de uva estudadas são provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Uva e Vinho, localizada em Jales – SP, e foram codificadas de UV1 a UV10, preservando o sigilo da empresa. UV2, UV4, UV7 e UV8 são uvas brancas e as demais são uvas tintas, sendo que a UV3, a UV5 e a UV6 foram consideradas uvas tintureiras.

Desde que chegaram ao Instituto Agronômico de Campinas, Campinas – SP, os cachos de uva foram armazenados em freezer a -20°C até a sua manipulação. As variedades foram pesadas congeladas e apresentaram, em média, 1269,40g ($\pm 223,17$), sendo que foram processados apenas de 20 a 25%, quantidade suficiente para as análises realizadas.

A separação manual da casca, polpa e semente foi realizada com as uvas ainda congeladas com o auxílio de bisturi e pinça. A casca e a polpa foram imediatamente colocadas em recipientes de vidro separados e cobertos com papel alumínio, pesadas e armazenadas em freezer a -80°C , evitando ao máximo a degradação do material pela luminosidade e pelo calor. As sementes, quando presentes, foram descartadas. As amostras congeladas de casca e polpa foram, então, enviadas para a Embrapa Meio Ambiente, localizada em Jaguariúna – SP, para liofilização e, após esse procedimento foram novamente pesadas e armazenadas em freezer a -80°C .

2.2. Extração de compostos fenólicos e otimização da metodologia

Para a extração de compostos fenólicos, um erlenmeyer, revestido por papel alumínio, contendo 0.2g da amostra e 20mL de uma solução metanol: ácido clorídrico ($99.9:0.01 \text{ v.v}^{-1}$) foi mantido sob agitação em agitador Fisatom 752 (Fisatom®, Brasil) durante 30 minutos. Os extratos foram armazenados em freezer a -80°C no escuro. Antes de iniciar as análises, as amostras foram centrifugadas em centrífuga Hettich Rotina 380R (Hettich Zentrifugen®, Inglaterra) a 4°C e 11000rpm por 10 minutos. Foi preparado um extrato para cada amostra de casca e polpa, com exceção das cascas de uvas tintas, para as quais foram preparados três extratos.

A padronização da metodologia para a determinação de fenóis, flavanóis e antocianinas totais foi realizada com uvas comerciais e, depois de testados, os métodos foram adaptados, de acordo com as características das amostras, quanto ao volume utilizado de extrato e das demais soluções e ao comprimento de onda empregado para a leitura da absorbância. Esta foi realizada em espectrofotômetro Hitachi U 2000 Double Beam UV Vis (Hitachi®, Japão), utilizando-se cubetas de quartzo de 4 mL. E, com a finalidade de diminuir os erros estatísticos foram efetuadas três leituras para cada extrato.

2.3. Determinação de fenóis totais (FT)

O conteúdo de fenóis totais foi determinado aplicando-se o método Folin-Ciocalteu, descrito por Waterman e Mole (1994) e adaptado por Arnous e colaboradores (2001). Em um béquer, contendo 3160 μl de água destilada, foram adicionados 200 μl do reagente Folin-

Ciocalteu, 40µl do extrato e, após aproximadamente 7 minutos, 600µl de uma solução de Na₂CO₃ (carbonato de sódio) 20% (m.v⁻¹). A mistura foi homogeneizada e mantida à temperatura ambiente por cerca de 50 minutos para reagir. Após esse tempo, a absorvância foi lida à 760nm e a concentração de fenóis totais estimada a partir de uma curva de calibração construída utilizando-se ácido gálico como padrão (100-1000mg.L⁻¹ / r²= 0,9869). Os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ equivalentes de ácido gálico (EAG).

2.4. Determinação de flavanóis totais (FA)

O conteúdo de flavanóis totais foi determinado utilizando-se o método DMACA (*p*-dimetilaminocinmaldeído) (Arnous *et al.*, 2002). Em um tubo de vidro de rosca contendo 3.0mL da solução de DMACA (0.1% em 1N HCl-MeOH), foi adicionado 0,6mL do extrato. A mistura foi homogeneizada e mantida à temperatura ambiente por cerca de 50 minutos para reagir. Após esse tempo, a absorvância foi lida à 640nm e a concentração de flavanóis estimada a partir de uma curva de calibração construída utilizando-se catequina como padrão (1-16 mg.L⁻¹ / r²= 0,9844). Os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ equivalentes de catequina (EC).

2.5. Determinação de antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado aplicando-se o método da diferença de pH (Giusti e Wroslstad, 2001). Uma alíquota do extrato foi diluída de 1 a 12 vezes com tampão KCl (cloreto de potássio) 0.025M / pH 1.0 diretamente na cubeta. A leitura da absorvância foi realizada a 510nm, comprimento considerado de absorvância máxima para cianidina-3-glicosídeo, e a 700nm, para descontar a turbidez da amostra. As mesmas etapas descritas foram realizadas utilizando-se o tampão NaCOOH (acetato de sódio) 0.4M / pH 4.5. A absorvância foi calculada a partir da seguinte equação:

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH=1,0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH=4,5}$$

O conteúdo de antocianinas foi calculado e representado em mg.L⁻¹ equivalente de cianidina-3-glicosídeo (ECG) através da fórmula:

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

onde: A = absorvância; PM = peso molecular (449.2); FD = fator de diluição; ϵ = absorvidade molar (26900 mol.L⁻¹) e l = espessura da cubeta (cm).

2.6. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, com exceção daquelas especificadas, e os resultados foram expressos na forma de média \pm desvio-padrão (n=3). Foram utilizadas as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, usando o programa Minitab® 16. Diferenças entre as médias no nível de 5% (P<0,05) foram consideradas significantes.

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização das amostras

A tabela 1 mostra para cada variedade de uva a massa processada, a massa de casca e polpa fresca, a massa de casca e polpa seca, após a liofilização, e a quantidade de água perdida durante a evaporação. A casca e a polpa representaram, em média, 7 e 81% da massa fresca da uva, respectivamente; o restante diz respeito à semente. A casca apresenta entre 24 e 45% e a polpa de 5 a 23% de umidade.

Tabela 1. Massa (g) de uva processada, massa (g) de casca e polpa fresca e seca, massa (g) de água evaporada durante a liofilização.

Código Uva	Massa uva (g) (casca+polpa+semente)	CASCA			POLPA		
		Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Massa água (g)	Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Massa água (g)
UV1*	289,40	15,23	10,05	5,18	254,85	241,20	13,65
UV2	266,00	19,89	13,58	6,31	207,63	179,08	28,55
UV3**	289,52	27,50	16,20	11,30	217,82	183,17	34,65
UV4	255,27	15,85	8,79	7,06	221,75	190,56	31,19
UV5**	272,16	22,69	15,25	7,44	202,63	155,48	47,15
UV6**	272,83	26,04	14,28	11,76	207,86	172,79	35,07
UV7	250,92	13,36	10,12	3,24	215,75	199,66	16,09
UV8	311,56	18,21	12,23	5,98	266,81	248,50	18,31
UV9*	213,86	14,89	8,44	6,45	158,02	149,75	8,27
UV10*	337,38	16,97	11,61	5,36	290,04	262,14	27,90

*: uva tinta. **: uva tintureira.

A tabela 2 reúne os dados obtidos para o conteúdo de fenóis totais (FT), flavanóis totais (FA) e antocianinas totais (AT) presentes na casca e na polpa das dez variedades de uva. Para as três variáveis estudadas (FT, FA e AT), a concentração de compostos, apresentada em mg.L⁻¹, foi maior na casca do que na polpa de todas as variedades de uva.

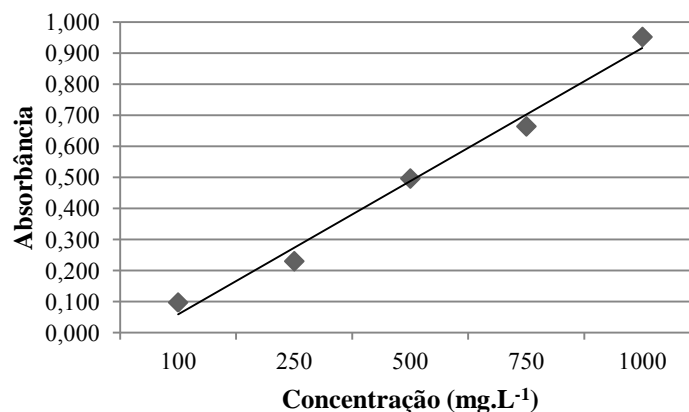
Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos na casca e na polpa das variedades de uva.

Código Uva	FT (mg.L ⁻¹ EAG)		FA (mg.L ⁻¹ EC)		AT (mg.L ⁻¹ ECG)	
	CASCA	POLPA	CASCA	POLPA	CASCA	POLPA
UV1*	155,34 ± 3,82 (n=3) ^f	97,37 ± 1,94 (n=3) ^{c,d,e}	6,35 ± 0,66 (n=9) ^{a,b}	0,98 ± 0,01 (n=3) ^c	27,61 ± 4,85 (n=9) ^d	-
UV2	150,99 ± 2,30 (n=3) ^f	87,12 ± 0,27 (n=3) ^{d,e}	4,35 ± 0,17 (n=3) ^c	0,91 ± 0,00 (n=3) ^d	-	-
UV3**	314,31 ± 10,50 (n=3) ^b	132,34 ± 5,56 (n=3) ^b	3,69 ± 0,42 (n=9) ^c	1,24 ± 0,04 (n=3) ^b	245,03 ± 28,75 (n=9) ^b	18,65 ± 0,45 (n=3) ^b
UV4	203,82 ± 4,59 (n=3) ^d	99,08 ± 0,97 (n=3) ^{c,d}	6,36 ± 0,52 (n=3) ^{a,b}	0,99 ± 0,00 (n=3) ^c	-	-
UV5**	276,71 ± 7,24 (n=3) ^c	101,41 ± 3,97 (n=3) ^c	6,62 ± 0,18 (n=9) ^a	1,01 ± 0,03 (n=3) ^c	245,03 ± 6,54 (n=9) ^c	2,88 ± 0,28 (n=3) ^c
UV6**	483,39 ± 5,90 (n=3) ^a	145,24 ± 4,43 (n=3) ^a	6,01 ± 0,06 (n=9) ^b	1,33 ± 0,03 (n=3) ^a	406,56 ± 39,50 (n=9) ^a	46,36 ± 1,89 (n=3) ^a
UV7	283,23 ± 12,39 (n=3) ^c	146,32 ± 9,97 (n=3) ^a	6,92 ± 0,26 (n=3) ^a	1,36 ± 0,00 (n=3) ^a	-	-
UV8	142,75 ± 1,86 (n=3) ^f	86,50 ± 0,54 (n=3) ^e	3,68 ± 0,03 (n=3) ^c	0,90 ± 0,00 (n=3) ^d	-	-
UV9*	206,46 ± 6,79 (n=3) ^d	93,95 ± 1,08 (n=3) ^{c,d,e}	6,80 ± 0,18 (n=9) ^a	0,96 ± 0,01 (n=3) ^{c,d}	7,00 ± 0,99 (n=9) ^d	-
UV10*	179,74 ± 6,26 (n=3) ^e	101,41 ± 3,17 (n=3) ^c	6,35 ± 0,51 (n=9) ^a	1,01 ± 0,02 (n=3) ^c	30,52 ± 2,81 (n=9) ^d	-
Média	239,67 ± 99,29	109,07 ± 23,12	5,71 ± 1,28	1,07 ± 0,17		

Os resultados estão expressos na forma média ± desvio-padrão (n = número de repetições). Médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (Teste de Tukey, p<0,05). O traço (-) indica que a análise não foi realizada para a variedade. *: uva tinta. **: uva tintureira.

3.2. Conteúdo de fenóis totais (FT)

A equação da reta obtida (Fig.1) a partir da leitura da absorbância, à 760nm, de soluções de ácido gálico com concentração conhecidas, de 100 a 1000 mg.L⁻¹, é: $y = 0,2145x - 0,1562$ ($R^2 = 0,9869$).

**Figura 1.** Curva padrão de ácido gálico.

O conteúdo de fenóis totais (FT) foi determinado para a casca e a polpa de todas as variedades de uva (Fig.2). A quantidade de FT na casca, em miligramas por litro, variou entre 142,75 ± 1,86, na UV8, e 483,39 ± 5,90, na UV6, e na polpa, de 86,50 ± 0,54, na UV8, a 146,32 ± 9,97, na UV7. As uvas brancas tendem a apresentar menor concentração de FT, em

miligramas por litro, que as uvas tintas, exceto a UV7 que apresenta 283.23 ± 12.39 na casca, quantidade maior que a média (239.67 ± 99.29), e 146.32 ± 9.97 na polpa, a maior concentração em polpa dentre todas as variedades (Fig.2). As uvas tintureiras (UV3, UV5 e UV6) são as que apresentam maior quantidade de FT dentre as uvas tintas, tanto na casca quanto na polpa (Fig.2).

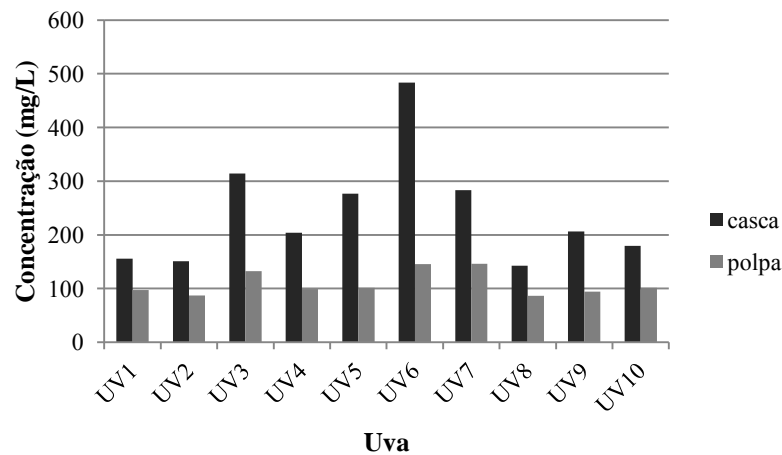


Figura 2. Comparação entre a quantidade (mg.L^{-1} EAG) de FT na casca e na polpa das uvas.

O conteúdo de fenóis totais observado por Soares e col. (2008) para as cascas de uva Isabel e Niágara foi, respectivamente, 1026.69 ± 88.50 e $1242.78 \pm 79.02 \text{ mg.100g}^{-1}$ ($n=3$), valores mais baixos que os obtidos para todas variedades deste estudo. O conteúdo de fenóis totais encontrado por Abe e col. (2007) variou entre 65.0 ± 1.0 e $390.0 \pm 28.0 \text{ mg.100g}^{-1}$, valores muito inferiores aos determinados por Soares e col. (2008) e aos obtidos neste estudo. Além disso, das sete cultivares estudadas por Abe e col. (2007), a menor quantidade de fenóis totais, cinco vezes mais baixa que a concentração obtida para as outras cultivares estudadas, foi também da cultivar de uvas brancas, o que segundo os autores, ocorre porque as uvas brancas não possuem outros compostos em quantidades relevantes que compensem a ausência de antocianinas.

Arnous e col. (2001), que determinaram o conteúdo de fenólicos totais para dez variedades de vinhos tintos, observaram concentrações de 1217 a 3772 mg.L^{-1} , no mínimo 4 vezes mais altas que as encontradas neste estudo. É provável que isso ocorra porque durante o processo de vinificação esses compostos são liberados mais facilmente e também extraídos das sementes, além da casca e da polpa das uvas.

3.3. Conteúdo de flavanóis totais (FA)

A equação da reta (Fig. 3) obtida a partir da leitura da absorvância, à 640nm, de soluções de catequina com concentração conhecidas, de 1 a 16mg.L⁻¹, é: $y = 0,2901x - 0,2319$ ($R^2 = 0,9844$).

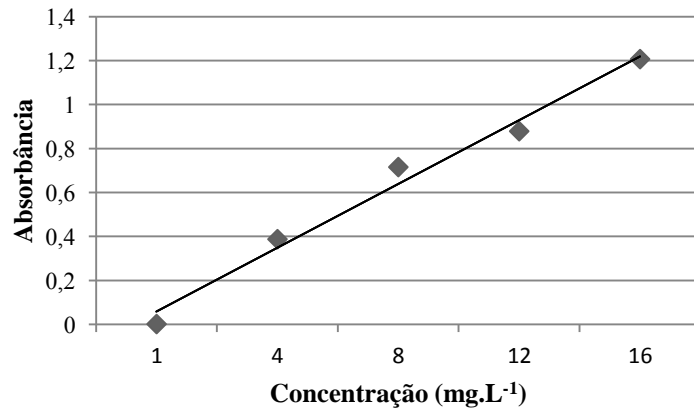


Figura 3. Curva padrão de catequina.

O conteúdo de flavanóis totais (FA) foi determinado tanto para a casca quanto para a polpa de todas as variedades de uva (Fig.4). A concentração de FA não variou muito entre as variedades de uva, sendo que a menor quantidade, em miligramas por litro, tanto na casca quanto na polpa, foi encontrada na UV8, $3,68 \pm 0,03$ na casca e $0,90 \pm 0,00$ na polpa, e a maior na UV7, $6,92 \pm 0,26$ na casca e $1,36 \pm 0,00$ na polpa, ambas uvas brancas (Fig.4).

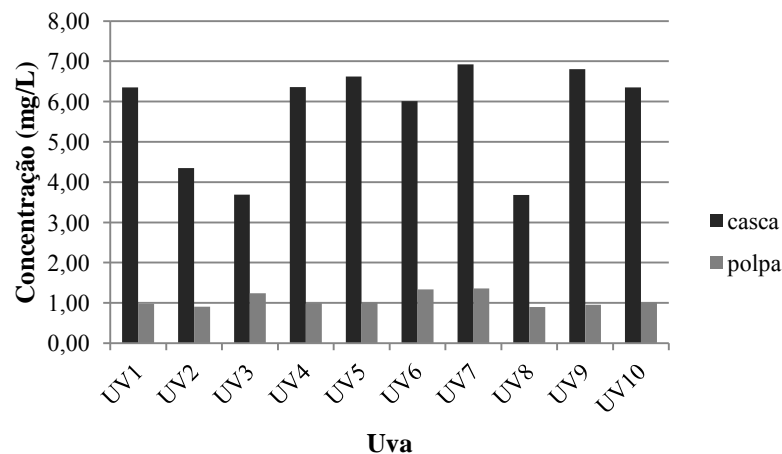


Figura 4. Comparação entre a quantidade (mg.L⁻¹ EC) de FA na casca e na polpa das uvas.

O conteúdo de flavanóis totais encontrado por Abe e col. (2007) variou entre $3,8 \pm 0,1$ e $61,0 \pm 2,0$ mg.100g⁻¹, valores próximos aos observados neste estudo. No entanto, como salientado pelos autores, no caso do estudo deles, é provável que estes compostos sejam constituintes das cascas e sementes, já que foram utilizados frutos triturados na extração e,

após a remoção das sementes de duas das sete cultivares estudadas, foram encontradas concentrações mais baixas, $1.47 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, ou não foram encontrados flavanóis totais, onde antes haviam 23.3 e $33.0 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. Ainda, Yilmaz e Toledo (2004) encontraram de 6 a 9 vezes mais flavanóis nas sementes do que nas cascas de duas variedades de *Vitis vinifera*.

Soares e col. (2008), entretanto, observaram valores mais altos que os deste estudo, 100.04 ± 11.57 e $256.31 \pm 47.35 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (n=3) para as cascas das variedades de uva Isabel e Niágara, respectivamente. E Arnous e col. (2001) e Beer e col. (2003), que avaliaram o conteúdo de flavanóis totais em vinhos tintos, encontraram, respectivamente, de 347.0 a 664.8 e de 189.0 a $265.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, concentrações, no mínimo, vinte e sete vezes superiores às encontradas neste estudo. Desse modo é possível confirmar o observado por Abe e col. (2007) de que os flavanóis estão presentes em sementes e cascas, mas muitas vezes mais na primeira, e podem contribuir melhor como “moléculas bioativas” em vinhos, uma vez que são extraídos durante o processo de vinificação.

Ainda, segundo Arnous e col. (2001), que também avaliaram a capacidade antioxidante das variedades de vinho tinto estudadas por eles, sugerem que o conteúdo de flavanóis totais esteja fortemente associado às propriedades antioxidantes dos vinhos, especialmente à eliminação de radicais livres de hidroxila.

3.4. Conteúdo de antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais (AT) foi determinado para a casca das seis variedades de uvas tintas e para a polpa de três delas (UV3, UV5 e UV6), consideradas tintureiras e, portanto, contendo AT também na polpa (Fig.5). Nos testes com casca e polpa de uvas brancas, as leituras de absorvância mostraram valores muito baixos, resultando em conteúdo de AT negativo. A quantidade de AT, em miligramas por litro, na casca variou bastante, de 7.00 ± 0.99 (n=9) na UV9 a 406.56 ± 39.50 (n=9) na UV6, uma uva tintureira (Fig.5). Entre as uvas tintureiras, a concentração de AT na polpa também variou; 18.65 ± 0.45 (n=3) na UV3, 2.88 ± 0.28 (n=3) na UV5 e 46.36 ± 1.89 (n=3) na UV6 (Fig.5).

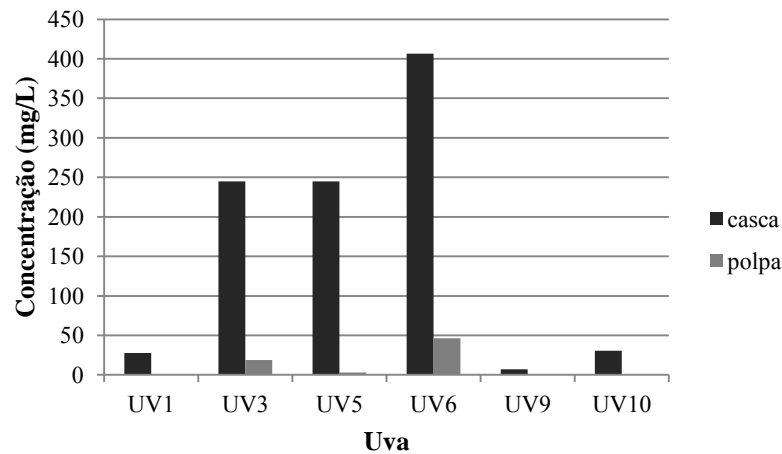


Figura 5. Comparação entre a quantidade (mg.L^{-1} ECG) de AT na casca e das uvas tintas.

Soares e col. encontraram nas cascas das variedades Isabel e Niágara, respectivamente, 214.26 ± 56.18 e $47.65 \pm 9.63 \text{ mg.100g}^{-1}$ ($n=3$), valores mais próximos aos observados para as uvas tintas, e não tintureiras, deste estudo. A variação no teor de antocianinas totais em diferentes variedades de uva também foi relatada por Abe e col. (2007); os valores encontrados por eles variaram entre 12.8 ± 0.1 e $248.0 \pm 24,0 \text{ mg.100g}^{-1}$ em sete cultivares de uva, sendo o teor de antocianinas totais maior nas uvas mais escuras, seguido pelas uvas rosadas e ausente nas uvas brancas. É provável que isso esteja relacionado com o que foi relatado por Pomar e col. (2005), de que a composição das antocianinas nas uvas depende primeiramente de fatores genéticos, porém a distribuição destes compostos durante a maturação da uva é influenciada pelas condições climáticas e pelas características físico-químicas do solo.

Além disso, Arnous e col. (2001) observaram média de 200.6 mg.L^{-1} de antocianinas totais entre as 10 variedades de vinhos tintos analisados, valor menor à média de 298.87 mg.L^{-1} encontrada para as três variedades de uvas tintureiras deste estudo. O potencial de antocianinas totais apresentado por essas variedades é de extrema relevância porque, ao contrário do que foi sugerido por Arnous e col. (2001), Abe e col. (2007), que também avaliaram a capacidade antioxidante das sete variedades de uvas estudadas por eles, concluíram que as antocianinas apresentam capacidade antioxidante superior a outros compostos fenólicos presentes nas uvas.

3.5. Relação FA/FT e AT/FT nas cascas de uvas tintas

Os FA compreendem uma pequena parcela dos FT tanto da casca, entre 1.17 e 4.09%, quanto da polpa, de 0.92 a 1.04%, das variedades de uva (Tab.3). Já as AT representam entre

3.39 a 17.77% dos FT da casca das uvas tintas e de 77.96 a 88.55% da casca das uvas tintureiras. Nestas, as AT compreendem de 2.84 a 31.92% dos FT da polpa (Tab.3).

Tabela 3. Relação FA/FT e AT/FT das uvas.

Código Uva	FA/FT (%)		AT/FT (%)	
	CASCA	POLPA	CASCA	POLPA
UV1*	4,09	1,01	17,77	-
UV2	2,88	1,04	-	-
UV3**	1,17	0,94	77,96	14,09
UV4	3,12	1,00	-	-
UV5**	2,39	1,00	88,55	2,84
UV6**	1,24	0,92	84,11	31,92
UV7	2,44	0,93	-	-
UV8	2,58	1,04	-	-
UV9*	3,30	1,02	3,39	-
UV10*	3,53	1,00	16,98	-

*: uva tinta. **: uva tintureira.

No estudo realizado por Soares e col. (2008) para a casca das variedades de uva tinta Isabel e Niágara, o conteúdo de flavanóis totais representa, respectivamente, 9.74 e 20.62% dos fenóis totais, porções superiores às encontradas neste estudo, e o de antocianinas totais compreende 20.87 e 3.83% dos fenóis totais, respectivamente, frações próximas às observadas nas variedades de uva tinta do presente estudo.

Segundo Kim e col. (2003), em Morais e col. (2008), o conteúdo total de compostos fenólicos pode ser influenciado por fatores como a maturação, a espécie ou variedade, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e armazenamento. Ainda, os resultados de Abe e col. (2007) sugerem que a variação no perfil dos compostos fenólicos pode resultar em diferentes atividades biológicas e, apesar das antocianinas e do resveratrol representarem os constituintes potenciais, outros componentes podem estar agindo sinergisticamente, contribuindo para os efeitos benéficos associados ao consumo de uvas e seus derivados.

4. Conclusão

A concentração de compostos fenólicos é maior na casca do que na polpa de todas as variedades de uva. E, em geral, as uvas tintas, especialmente as tintureiras, apresentam as maiores concentrações de compostos fenólicos, sendo a maioria constituída por antocianinas.

O conteúdo de fenóis e antocianinas totais variam bastante, tanto na casca quanto na polpa, entre as variedades de uva, enquanto o conteúdo de flavanóis totais é mais constante. Os flavanóis representam a menor fração de compostos fenólicos tanto na casca quanto na polpa de todas as variedades de uva.

As variedades de uvas tintureiras UV3 e UV6 e a de uvas brancas UV7 são as mais interessantes do ponto de vista funcional, já que apresentaram, tanto na casca quanto na polpa, maior conteúdo de fenóis, flavanóis e antocianinas totais que as concentrações médias obtidas para todas as variedades estudadas. Tais informações serão extremamente importantes para a seleção de variedades dentro do melhoramento genético na área de viticultura.

5. Referências Bibliográficas

- ABE, L.T; DA MOTA, R.V; LAJOLO, F.M; GENOVESE, M.I. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 27, p. 394-400, 2007.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.66, p.232-240, 2007.
- ARNOUS, A; MAKRIS, D.P; KEFALAS, P. Effect of Principal Polyphenolic Components in Relation to Antioxidant Characteristics of Aged Red Wines. *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 5736-5742, 2001.
- BALDI, A.; ROMANI, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F.F.; CASETTA, B. HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis vinifera* L. *J. Agric. Food Chem.*, v.43, p.2104-2109. 1995.
- CABRITA, M.J.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. In: I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. *Anais...* Enseada: México, 2003. p.61-100.
- CATANEO, C.B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L.V., KUSKOSKI, E.M., FETT, R. Antioxidant activity and phenolic content of agricultural by-products from wine production. *Semina: Ciências Agrárias*, v.29, p.93-102. 2008.
- De BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLUM, W.C.; MANLEY, M. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. *J Agric Food Chem*, v.51, p.902-909. 2003.
- FALCÃO, A.P.; CHAVES, E.S.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R.; FALCÃO, L.D.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Total polyphenol index, total anthocyanins and antioxidant activity of a model system of grape jelly. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.27, p.637-642. 2007.
- FREITAS, D.M. Variação dos compostos fenólicos e de cor dos vinhos de uvas (*Vitis vinifera*) tintas em diferentes ambientes. 2006. 56f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2006.

- GARCÍA-BENEYTEZ, E.; REVILLA, E.; CABELLO, F. Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. *Eur Food Res Technol*, v.215, p.32–37. 2002.
- GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. *Current protocols in food analytical chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- JAWORSKI, A.W.; LEE, C.Y. Fractionation and HPLC Determination of Grape Phenolics. *J. Agric. Food Chem.*, v.35,p.257-259. 1987.
- Jornal Hoje. Reportagem exibida em 25 out 2011. Disponível em: <<http://g1.globo.com/videos/jornal-hoje/t/edicoes/v/confira-os-poderes-da-uva-na-prevencao-do-cancer-e-de-doencas-da-pele-e-do-coracao/1674202/>> Acesso em: 14 nov 2011.
- KIM, D-O; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, v.50, p.3713-3717. 2002.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. *Ciência Rural*, v.36, p.1283-1287. 2006.
- LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S. Flavonóides: Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. p.18-22. 2000
- MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Total phenolics and anthocyanins in grape juice. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.25, p.659-664. 2005.
- MELLO, L.M.R. *Área e produção de uvas: panorama mundial*. 2009. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/producaomundial.pdf>> Acesso em: 14 nov 2011.
- MELLO, L.M.R. *Vitivinicultura brasileira: panorama 2010*. 2011a. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/prodvit2010.pdf>> Acesso em: 14 nov 2011.
- MELLO, L.M.R. *Atuação do Brasil no Mercado Vitivinícola Mundial – panorama 2010*. 2011b. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/mercextvit2010.pdf>> Acesso em: 14 nov 2011b.
- MORAIS, S.L.; BRAZ-FILHO, R. (Orgs.). *Produtos Naturais: estudos químicos e biológicos*. Fortaleza: EdUECE, 2007. 240p.
- OSZMIANSKI, J.; LEE, C.Y. Isolation and HPLC determination of phenolic compounds in red grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, v.41, p.204-206. 1990.
- PENNA, N.G.; HECKTHEUER, L.H.R. Vinho e saúde: uma revisão. *Infarma*, v.16, p.64-67. 2004.

- PERES, L.E.P. *Metabolismo secundário*. Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf?PHPSESSID=e32d8df36f08f86ef80010a253f33762>> Acesso em: 13 jul 2011.
- POMAR, F.; NOVO, M.; MASA, A. Varietal differences among the anthocyanin profile of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.*, v.1094, p.34-41. 2005.
- PROTAS, J.F.S.; CAMARGO, U.L.; MELLO, L.M.R. *A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas*. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura/>> Acesso em: 14 nov 2011.
- RHODES, M.J.C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: from progress, many outstanding problems. *Plant Mol. Biol.*, v.24, p.1-20. 1994.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 1090p.
- SOARES, M; WELTER, L; KUSKOSKI, E.M; GONZAGA, L; FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity in skin of Niagara and Isabel grapes. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 30, p. 059-064, 2008.
- SOUZA, G.G.; MENEGHIN, L.O.; COELHO, S.P.; MAIA J.F.; SILVA A.G. *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças cardiovasculares. *Natureza on line*, v.4, p.80-86. 2006.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das família de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 704p.
- GERSHENZON, J. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 309-334.
- WATERMAN, P.G.; MOLE, S. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific Publ., 1994. p.83-91.
- YILMAZ, Y.; TOLEDO, R.T. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.*, v.52, p.255-260. 2004.