



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**

**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS**

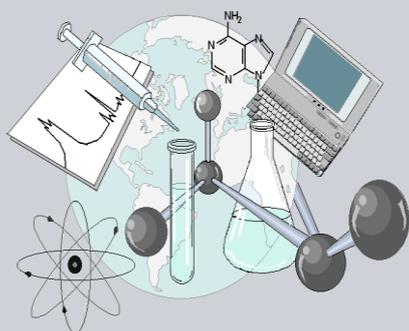
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**“Análise direta de amostras de vinho por F AAS para a determinação de Fe e relação de sua concentração com o teor de Polifenóis Totais”**

Dissertação apresentada por **Eduardo Sobieski Neto** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química

**CEE**



**Centro de  
Ciências Exatas**

**MARINGÁ, FEVEREIRO/2016**



Universidade Estadual de Maringá  
Centro de Ciências Exatas  
Departamento de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**Análise direta de amostras de vinho por F AAS para a  
determinação de Fe e relação de sua concentração com o teor  
de polifenóis totais**

Mestrando: Eduardo Sobieski Neto

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Egea Garcia

Maringá - PR

Fevereiro 2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)**

S677a Sobieski Neto, Eduardo  
Análise direta de amostras de vinho por F AAS para a determinação de Fe e relação de sua concentração com o teor de polifenóis totais / Eduardo Sobieski Neto. -- Maringá, 2017.  
56 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Egea Garcia.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2017.

1. Vinho - Espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS). 2. Vinho - Ferro (Fe). 3. Vinho - Polifenóis. 4. Vinho - Potencial hidrogeniônico (pH). 5. Vinho - Teor alcoólico. 6. Folin-Ciocalteu. I. Garcia, Edivaldo Egea, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 23.ed.543

ECSL

“Existe mais filosofia em uma garrafa de vinho que em todos os livros.”

Pasteur

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço a **Deus** e a **Jesus Cristo** pelos dons que me deste e pelos relacionamentos que possibilitam que eu cresça a cada dia;
- Ao meu orientador **Prof. Dr. Edivaldo Egea Garcia**, pela oportunidade de realizar este trabalho, bem como o crescimento profissional e pessoal alcançados;
- Ao meu pai **Eduardo Sobieski Filho** e à minha mãe **Kátia Regina e Silva Sobieski**, pelo o amor incondicional, carinho, cuidado, por nunca desistirem de mim, por me ampararem nos momentos mais difíceis e por passarem os valores que me tornam a cada dia uma pessoa melhor;
- À minha irmã **Nathalia Sobieski** por todo amor, cumplicidade, compreensão e apoio;
- Ao meu grande amigo **Michael J. V. da Silva** por toda cumplicidade e ajuda tanto na vida pessoal quanto profissional;
- Às minhas amigas **Angélica Piccioli** e **Marília Galuch** por estarem sempre disponíveis a me ajudar e dar bons conselhos. O meu muito obrigado por todos os momentos especiais que passamos juntos e por nossa amizade;
- Aos colegas e amigos do laboratório, **Denis H. Loures**, **Ana I. de Carvalho**, **Elaine Dias**, **Karolline Golfeto**, **Jéssica Antoniassi**, **Douglas Lisboa**, **Karina S. Shigueoka** e **Natália Fier** ;
- A todo corpo docente do **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Estadual de Maringá, e em especial aos professores **doutores Juliana Carla Garcia Moraes**, **Vitor de Cinque Almeida** e **Fernanda Andréia Rosa**, pela contribuição direta ou indireta na realização deste trabalho;
- Aos órgãos financiadores **CAPES** e **CNPq**, pelo auxílio financeiro que possibilitou o desenvolvimento do projeto desta dissertação de mestrado.



**Universidade Estadual de Maringá**

Centro de Ciências Exatas

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por **Eduardo Sobieski Neto**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 24 de fevereiro de 2016.

**COMISSÃO JULGADORA:**

Prof. Dr. Edivaldo Egea Garcia  
Presidente - DQI/UEM

Profa. Dra. Juliana Carla Garcia Moraes  
Membro - DQI/UEM

Profa. Dra. Paula Fernandes Montanher  
Membro - UTFPR

## RESUMO

Estudos desenvolvidos no mundo inteiro comprovam que o vinho tomado em quantidade moderada, contribui para a saúde do organismo humano, aumentando a qualidade e o tempo de vida. Como a presença de Fe, compostos fenólicos, pH e teor alcoólico afetam propriedades que estão relacionadas com as características organolépticas e à segurança com que o produto é consumido, o objetivo deste trabalho é realizar análise direta de amostras de vinho por F AAS para a determinação de Fe e fazer a avaliação da relação de sua concentração com o teor de polifenóis, pH e teor alcoólico. Foram analisadas 45 amostras de vinho, quanto ao tipo (mesa e fino), quanto a cor (branco e tinto) e quanto a variedade da uva (Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon e Merlot). Os resultados para as determinações de Fe variaram na faixa de  $0,19 \pm 0,01$  a  $4,75 \pm 0,04$ , e os limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ) determinados foram de 0,037 e 0,123 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. As recuperações obtidas pelos testes de adição recuperação variaram de 99 a 106%, indicando exatidão para os resultados obtidos para as determinações de Fe nesse tipo de amostra. Os teores de Polifenóis Totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e os seus valores variaram de  $49,27 \pm 1,2$  a  $3724 \pm 161$  mg AG L<sup>-1</sup>. Os valores de pH determinados para as amostras de vinho neste trabalho variaram de 3,03 a 3,88 enquanto que os teores alcoólicos variaram de 9,5 a 13,5% (v v<sup>-1</sup>). A partir de análises estatísticas de conglomerados e análise de componentes principais (ACP), observou-se uma relação direta entre os teores de Fe e de Polifenóis Totais para as determinações realizadas nas amostras de vinho branco e vinhos tintos finos suave e meio seco. A relação inversa foi observada para os vinhos de mesa e os vinhos tintos seco. As variáveis pH e teor alcóolico foram as responsáveis na separação dos vinhos de mesa e finos. Em relação ao tipo das uvas apenas a Sauvignon Blanc distinguiu-se das demais, enquanto que para as variedades Cabernet Sauvignon e Merlot não foi possível observar um padrão avaliando-se os parâmetros estudados.

**Palavras-chave:** F AAS, Folin-Ciocalteu, Fe, Polifenóis, pH, teor alcoólico.

## ABSTRACT

Studies conducted worldwide, prove that wine taken in moderate amounts, contributes to the health of the human organism, increasing the quality and length of life. Like the presence of Fe, phenolic compounds, pH, and alcohol affect properties that are related to the organoleptic characteristics and safety to which the product must be consumed, and this work aims is to perform direct analysis of wine samples by F AAS for the determination of Fe and make the assessment of its concentration with the polyphenol and alcohol contents, and pH. A total of 45 wine samples of different types (table and fine), colors (white and red), and grape varieties (Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon and Merlot) were analysed. The results for the Fe determinations ranged from  $0.19 \pm 0.01$  to  $4.75 \pm 0.04$ , and the limits of detection and quantification (LOD and LOQ) obtained were  $0.037$  e  $0.123 \text{ mg L}^{-1}$ , respectively. The obtained recoveries by employing addition recovery tests ranged from 99 to 106% and indicated accuracy for determination of Fe in wine samples. Total Polyphenols content was determined by the spectrophotometric method of Folin-Ciocalteu and results obtained ranged from  $49.27 \pm 1.2$  to  $3724 \pm 161 \text{ mg GA L}^{-1}$ . The results obtained for the pH values in the wine samples analysed ranged from 3.03 to 3.88, while the alcoholic content for the same samples ranged from 9,5 to 13,5% (v v<sup>-1</sup>). From results obtained by employing the both principal component analysis (PCA) and statistical cluster analysis could be observed a direct relationship between Fe and Total Polyphenols contents for the white and sweet red wine samples. The inverse relationship was observed for table wines and dry red wines. The pH and alcohol content were responsible for the separation of table and fine wines. Regarding the grape variety, the Sauvignon Blanc grapes distinguished from the others, while for the varieties Cabernet Sauvignon and Merlot it was not possible to observe a pattern of classification by evaluating the parameters studied.

**Keywords:** F AAS, Folin-Ciocalteu, Fe, Polyphenols, pH, alcohol content.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. CLASSIFICAÇÕES DOS VINHOS.....	4
2.2. PROCESSO GERAL DE PRODUÇÃO DE VINHOS.....	5
2.2.1. ADIÇÃO DE AÇUCAR DURANTE OS PROCESSOS DE VINIFICAÇÃO 8	
2.2.2. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE O PROCESSO DE VINIFICAÇÃO.....	9
2.3. CONCEITO DE pH E O VINHO.....	10
2.4. TEOR ALCOÓLICO E VINHO.....	12
1.1. TEOR DE FERRO EM VINHO.....	12
1.2. TEOR DE POLIFENÓIS EM VINHOS.....	14
1.3. COMPLEXAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS COM POLIFENÓIS.....	16
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.1. AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS.....	21
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	23
3.3. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU.....	24
4.4. DETERMINAÇÃO DE Fe NAS AMOSTRAS DE VINHO POR F AAS....	24
4.5. DETERMINAÇÃO DO pH.....	26
4.6. TEOR ALCOÓLICO.....	26
4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	27
4.7.1. ANÁLISES DE CONGLOMERADOS.....	27
4.7.2. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS EMPREGANDO ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP).....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU.....	28

5.2. DETERMINAÇÃO DE FERRO NAS AMOSTRAS DE VINHO POR F AAS33	
5.3. VALORES DE pH E TEOR ÁLCOOLICO.....	40
5.4. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS EMPREGANDO ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) .....	44
6. CONCLUSÕES .....	48
7. REFERÊNCIAS.....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Constantes de estabilidade para a formação de complexos de $Fe^{2+}$ e $Fe^{3+}$ com compostos fenólicos como ligantes. ....	18
<b>Tabela 2.</b> Características das amostras de vinho adquiridas no comércio da região de Maringá, Paraná - Br. ....	21
<b>Tabela 3.</b> Condições instrumentais para a determinação de Fe por F AAS. ....	25
<b>Tabela 4.</b> Figuras de mérito obtidas para a determinação do teor de polifenóis totais em amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. ....	29
<b>Tabela 5.</b> Teores de polifenóis totais determinados para diferentes tipos de amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. ....	29
<b>Tabela 6.</b> Figuras de mérito obtidas para a determinação de Fe em amostras de vinho analisadas de forma direta por F AAS, empregando-se o procedimento de calibração de ajuste de matriz. ....	34
<b>Tabela 7.</b> Teores de Fe determinados para amostras de diferentes tipos de vinho por F AAS, empregando-se análise direta e procedimento de calibração por ajuste de matriz. ....	35
<b>Tabela 8.</b> Recuperações de Fe obtidas pela análise direta de diferentes tipos de vinho (vinho branco, tinto de mesa e tinto meio seco) por F AAS empregando-se o procedimento de calibração de ajuste de matriz (média $\pm$ desvio padrão; n = 3).....	40
<b>Tabela 9.</b> Valores de pH e de grau alcoólico dos diferentes tipos de amostras de vinho analisadas. CS, Carbernet Sauvignon; S, Sauvignon Blanc ; M Merlot. ....	41
<b>Tabela 10.</b> Porcentagens de variância acumulada obtidas pela análise de componentes principais (ACP). ....	45

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química de compostos fenólicos: a) Resveratrol , b) Quercetina c) Miricetina e d) Catequina.....	2
<b>Figura 2.</b> Reação de oxidação do Ácido Gálico com $\text{Mo}^{6+}$ que é proveniente do reagente de Folin-Ciocalteu. ....	4
<b>Figura 3.</b> Fluxograma do processo geral de vinificação. ....	8
<b>Figura 4.</b> Reação de complexação de um composto fenólico com um íon metálico.	17
<b>Figura 5.</b> Reações de um íon metálico, M, com um ligante monodentado, L. Em que $K_{\beta}$ é a constante de estabilidade global do complexo (ANDRADE, 2010). ....	18
<b>Figura 6.</b> Curva analítica obtida para a determinação dos teores de polifenóis totais em amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. ....	28
<b>Figura 7.</b> Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados, em função das similaridades das concentrações de polifenóis totais (PT). Legenda: + Vinho branco; □ Vinhos tintos de mesa e suave; O Vinhos tintos secos e meio secos. ....	32
<b>Figura 8.</b> Curva analítica obtida pelo método de ajuste de matriz para a determinação de Fe em amostras de vinho por F AAS.....	34
<b>Figura 9.</b> Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados (vinho branco, tinto de mesa, tinto suave, tinto seco e tinto meio seco), em função das similaridades dos teores de Fe determinados para as referidas amostras. Legenda: + Vinhos brancos; □ Vinhos tintos de mesa, finos suaves e meio secos; O Vinhos tintos finos secos.....	38
<b>Figura 10.</b> Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados (vinho branco, tinto de mesa, tinto suave, tinto seco e tinto meio seco), em função das similaridades de pH e teor Álcool (%). Legenda: O Vinhos tintos de mesa; + Vinhos brancos finos; □ Vinhos tintos finos.....	43
<b>Figura 11.</b> Análise de componentes principais (ACP) para os tipos de vinho: Branco, Tinto de Mesa, Tinto Meio Seco e Tinto Seco. Legenda: + Vinhos brancos finos; O Vinhos tintos de mesa; □ Vinhos tintos finos suaves e meio secos; Δ Vinhos tintos finos secos. ....	46
<b>Figura 12.</b> Análise de componentes principais (ACP) para os diferentes tipos de uva. Legenda: + Sauvignon Blanc, Δ Mistura, O Merlot e □ Cabernet Sauvignon. ....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>AG</b>	Ácido Gálico, C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ABST</b>	2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico)
<b>ACP</b>	Análise de componentes principais
<b>b</b>	Coefficiente angular da curva analítica (sensibilidade do método analítico)
<b>CS</b>	Cabernet Sauvignon
<b>F AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica em chama
<b>Fe</b>	Ferro
<b>FC</b>	Folin-Ciocalteu
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente
<b>HNO<sub>3</sub></b>	Ácido Nítrico
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>LOD</b>	Limite de detecção
<b>LOQ</b>	Limite de quantificação
<b>M</b>	Merlot
<b>Nitro-PAPS</b>	2-(5-nitro-2-piridilazo)-5-[N-n-(3-sulfopropil)amino]-fenol
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonato de sódio
<b>OIV</b>	Organização Internacional do Vinho

<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PCA</b>	Análise de componentes principais
<b>R</b>	Coeficiente de correlação
<b>s</b>	Desvio padrão da média de dez medidas de absorvância obtidas para dez soluções do branco analítico
<b>SB</b>	Sauvignon Blanc
<b>SO<sub>2</sub></b>	Dióxido de enxofre

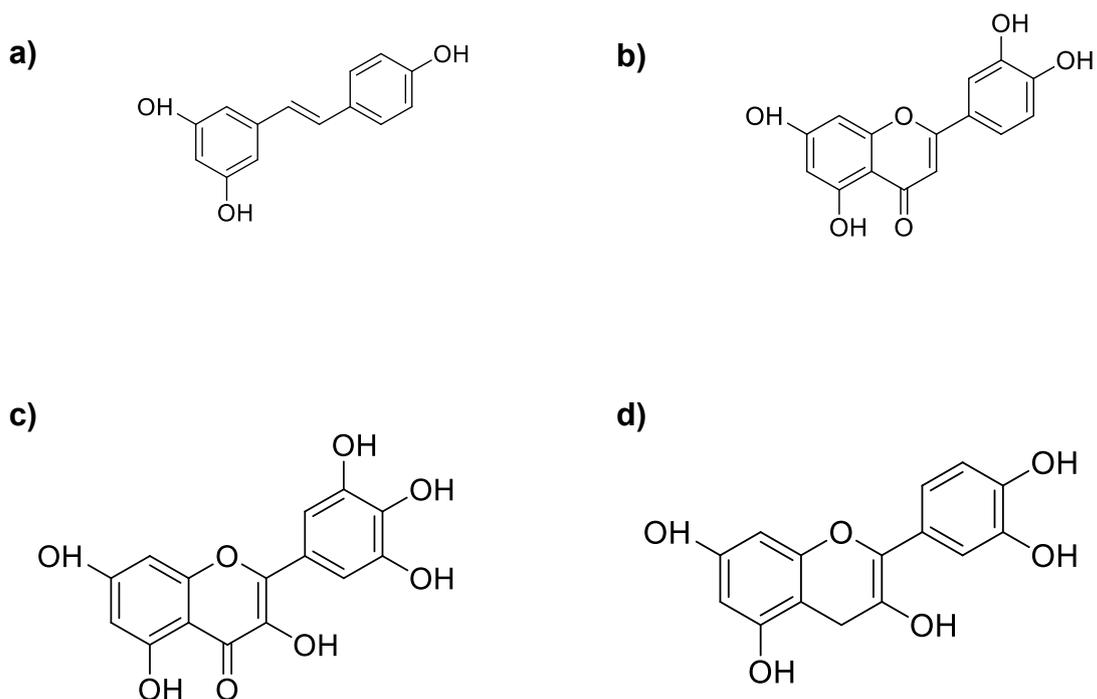
## 1. INTRODUÇÃO

O vinho é uma bebida de grande importância social e econômica, e de acordo com a Organização Internacional do Vinho, OIV, em 2014, o consumo mundial foi estimado em 243 bilhões de litros, o que salienta a popularidade da bebida (OIV, 2015).

É composto por uma mistura complexa de água-etanol e uma grande variedade de substâncias orgânicas e inorgânicas (GRINDLAY et al., 2011). Tomado em quantidade moderada contribui com a saúde humana, aumentando a qualidade e o tempo de vida (NEIDI; LUÍSA, 2004). As espécies mais importantes são os íons metálicos (Ca, Fe, K, Na, entre outros), ácidos orgânicos, polifenóis, álcoois, proteínas, aminoácidos e polissacarídeos (BOSCHETTI, 2012). Sua composição mineral depende de vários fatores, como por exemplo, da absorção de metais a partir do solo, da contaminação de emissões atmosféricas, do tipo de uva, do tratamento herbicida e do processo de vinificação (FERREIRA, S. L. C. et al., 2008).

O estudo do conteúdo mineral no vinho é bastante viável, pois está diretamente ligado com três áreas principais: características organolépticas, risco toxicológico e origem geográfica (ÁLVAREZ et al., 2012). Dentre os minerais encontrados no vinho, o Fe precisa ser monitorado porque pode fornecer informações sobre a autenticidade, origem e alterações nas suas propriedades organolépticas (SEEGER et al., 2015). Além de desempenhar um papel importante nos fenômenos de oxidação, como catalisador, e nos fenômenos de envelhecimento (CATARINO, S.; CURVELO-GARCIA; SOUSA, 2008).

Os polifenóis são compostos que englobam várias substâncias biologicamente importantes, como resveratrol, quercetina, miricetina, catequina, antocianinas, entre outras, as quais possuem várias influências sobre os vinhos, contribuindo na sua coloração e propriedades sensoriais, como adstringência e aroma. A estrutura química de alguns compostos fenólicos são apresentadas na Figura 1 (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).



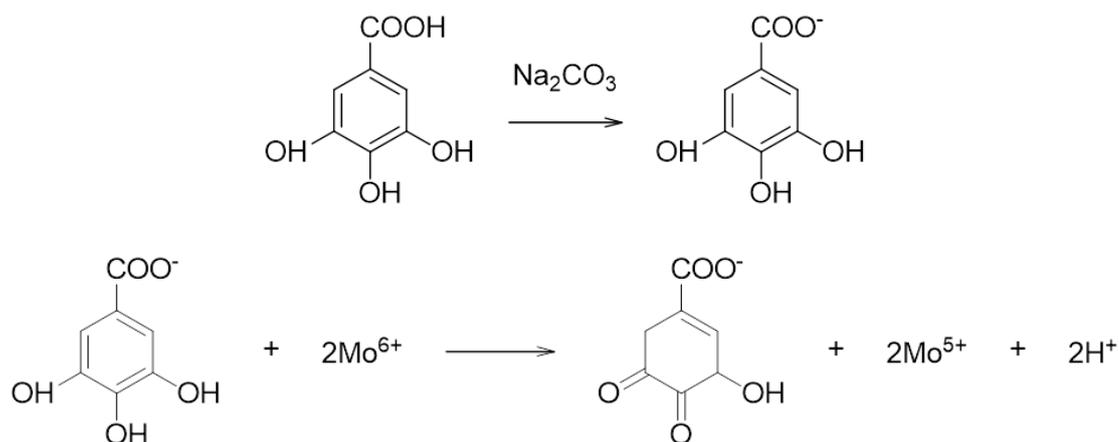
**Figura 1.** Estrutura química de compostos fenólicos: a) Resveratrol , b) Quercetina c) Miricetina e d) Catequina.

A concentração de polifenóis em uvas é determinante para a qualidade do vinho, sendo que aqueles associados às antocianinas e aos taninos condensados são os principais polifenóis presentes nas uvas tintas e que determinam a qualidade do vinho (SANTIN; BORDIGNON; MORAES, 2010). Enquanto esses compostos são frequentemente estudados pelas Ciências de Alimentos e pelas Ciências da Saúde devido à sua atividade antioxidante, há pouca investigação da importância do efeito da complexação de íons metálicos com os polifenóis (SCHMIDT et al., 2013). Dessa forma, é importante ser avaliada a existência ou não da relação entre os teores de minerais e de polifenóis em vinhos.

Na determinação de constituintes inorgânicos, sejam eles essenciais ou potencialmente tóxicos, torna-se necessária a utilização de técnicas analíticas que possibilitem a obtenção de alta sensibilidade para uma determinação (GRINDLAY et al., 2011). Isso se deve ao fato dos valores máximos permitidos pelas legislações nacional e internacional estarem na ordem de  $\text{mg kg}^{-1}$  (concentrações em nível

traço) ou inferiores. Portanto, é comum o emprego de técnicas analíticas suficientemente sensíveis tal como a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) para a realização das determinações de teores minerais em vinhos. A referida técnica é adequada para a determinação do teor de Fe em vinho, principalmente devido ao baixo custo de instrumentação, tornando-a mais acessível aos laboratórios de enologia e, também, por apresentar limites de quantificação adequados para a determinação de íons metálicos em nível traço. A análise direta de amostras de vinho por F AAS é uma das mais empregadas, e a interferência física causada pelo etanol pode facilmente ser corrigida através da adição de uma porcentagem de etanol nas soluções padrão (11-12%), ou seja, empregando-se o procedimento de calibração por ajuste de matriz (ACETO et al., 2002).

No caso dos polifenóis totais, esses são normalmente quantificados empregando-se o método de Folin-Ciocalteu, no qual o ácido gálico é utilizado como padrão para a obtenção da curva analítica (PORGALI; BÜYÜKTUNCEL, 2012). O reagente de Folin-Ciocalteu reage com os compostos fenólicos em condições básicas e é composto por uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, nos quais o molibdênio e o tungstênio encontram-se com o estado de oxidação +6. Na presença de agentes redutores, tais como os compostos Na presença de agentes redutores, tais como compostos fenólicos ocorre a formação do molibdênio azul e tungstênio azul, a média do estado de oxidação dessas espécies situa-se entre 5 e 6, que é responsável pelo comprimento de onda analítico de absorção, possibilitando a determinação do teor de Polifenóis Totais a partir das relações estequiométricas, assim como demonstrado na Figura 2 (SOUSA et al., 2007). Esse método é simples e reprodutível e é praticado rotineiramente em nível mundial, em laboratórios de pesquisa que investigam sobre a presença e a concentração de antioxidantes na dieta humana (PORGALI; BÜYÜKTUNCEL, 2012).



**Figura 2.** Reação de oxidação do Ácido Gálico com  $\text{Mo}^{6+}$  que é proveniente do reagente de Folin-Ciocalteu.

Com relação ao preparo ou tratamento de amostras de vinho, muitas vezes o tratamento demanda o uso de reagentes de relativo alto custo, elevado consumo de tempo, risco de contaminação, e exige do analista prática e experiência. Dessa forma, a análise direta de amostras tem como objetivo diminuir o tratamento da amostra minimizando o consumo de reagentes, geração de resíduos, riscos de contaminação, perda do analito, baixa exposição ao ambiente e menor toxicidade devido a não utilização de reagentes tóxicos (NOMURA; SILVA; OLIVEIRA, 2008).

Dessa forma o objetivo deste trabalho foi de aplicar metodologias existentes na literatura para a determinação da concentração total de íons Ferro, Polifenóis Totais, pH e teor alcoólico para avaliar a existência ou não de uma relação entre essas variáveis em diferentes amostras de diferentes tipos de vinhos empregando-se os métodos de análise de componentes principais (ACP) e de análise de conglomerados.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CLASSIFICAÇÕES DOS VINHOS

Vinho é o produto da fermentação alcoólica do mosto, constituído pelo suco de uva (HOUAISS, 2004), pela ação de leveduras, sendo o açúcar parcialmente ou

totalmente convertido a etanol e outros produtos secundários da fermentação (BARBA, 2007).

Segundo BRASIL (1988), a classificação dos vinhos é realizada a partir de três parâmetros:

1 - Quanto ao tipo - Tinto: o vinho tinto é obtido de uvas tintas e vinificado em tinto (na presença das cascas); Rosado: é obtido a partir de uvas rosadas, tintas ou mistura de brancas com rosadas e/ou tintas. O processo de vinificação é feito de modo a obter a coloração levemente tinta (rosada); Branco: normalmente obtidos de uvas brancas, tintas ou rosadas, a determinação da cor branca decorre da retirada das cascas da uva do mosto antes da sua chegada aos tanques de fermentação.

2 - Quanto à classe - Vinho de mesa: é o vinho que contém de 8,6 a 14% de álcool em volume e com até 1 atm de pressão a 20°C. Pode ser de *Vitis vinífera* (fino) ou de *Vitis labruscas* (comuns); Vinho Fino: é o vinho que contém teor alcoólico de 8,6 a 14% em volume, produzido mediante processos tecnológicos adequados que assegurem a otimização de suas características sensoriais e exclusivamente de variedades *Vitis vinífera*.

3 - Quanto ao teor de açúcares - Seco: deve conter até 4 g L<sup>-1</sup> de açúcar; Meio seco: deve conter de 4 a 25 g L<sup>-1</sup> de açúcar; Suave: teor de açúcar superior a 25 g L<sup>-1</sup>. Para os vinhos de *Vitis vinífera* tem-se um limite de 80 g L<sup>-1</sup> (BRASIL, 1988).

## **2.2. PROCESSO GERAL DE PRODUÇÃO DE VINHOS**

O processo de vinificação pode ser dividido em três processos diferentes: vinificação em branco para vinhos brancos, que envolve o descarte das cascas das uvas no processo de maceração; vinificação com as cascas das uvas para obtenção do vinho tinto; vinificação com descuba (separação da parte sólida da uva, cascas e sementes, do mosto) antecipada para obtenção de vinhos rosados (BRASIL, 1988). A diferença básica entre esses processos consiste no tempo de contato do mosto

com as cascas das uvas, que são as principais fontes dos compostos fenólicos (REYNOLDS et al., 2001). No processo de fabricação do vinho as etapas mais importantes são:

**Recebimento da uva:** nesta etapa ocorrem as primeiras análises para o controle de qualidade para a produção do vinho. Os cachos de uvas são pesados, despejados em tanques de concreto ou de aço inoxidável, e encaminhados para o desengace (ROSADO, 2013).

**Desengace/Esmagamento/Maceração:** é a operação mecânica para separar as partes dos cachos das uvas (engace e baga) e extrair o suco da baga. Esta etapa depende do tipo de vinho que está sendo elaborado (BARNABÉ, 2006).

**Sulfitagem:** esta etapa consiste na adição de SO<sub>2</sub>, dióxido de enxofre, ao mosto na faixa de 40 a 50 mg L<sup>-1</sup>. Esse procedimento é muito comum nas vinícolas, pois o SO<sub>2</sub> tem as seguintes propriedades: ação antimicrobica e antisséptica, ação seletiva sobre as leveduras, ação de auxiliar na remoção de partículas sólidas suspensas no mosto, ação reguladora da temperatura, entre outras (CASTILHOS, 2012; ROSADO 2013).

**Fermentação:** as moléculas de glicose provenientes do mosto sofrem oxidação em um processo celular anaeróbico, o qual é catalisado por leveduras específicas, destacando-se as espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces oviformis*. A reação química global da fermentação alcoólica é apresentada na Equação 1.



**Equação 1.** Reação química global da fermentação alcoólica.

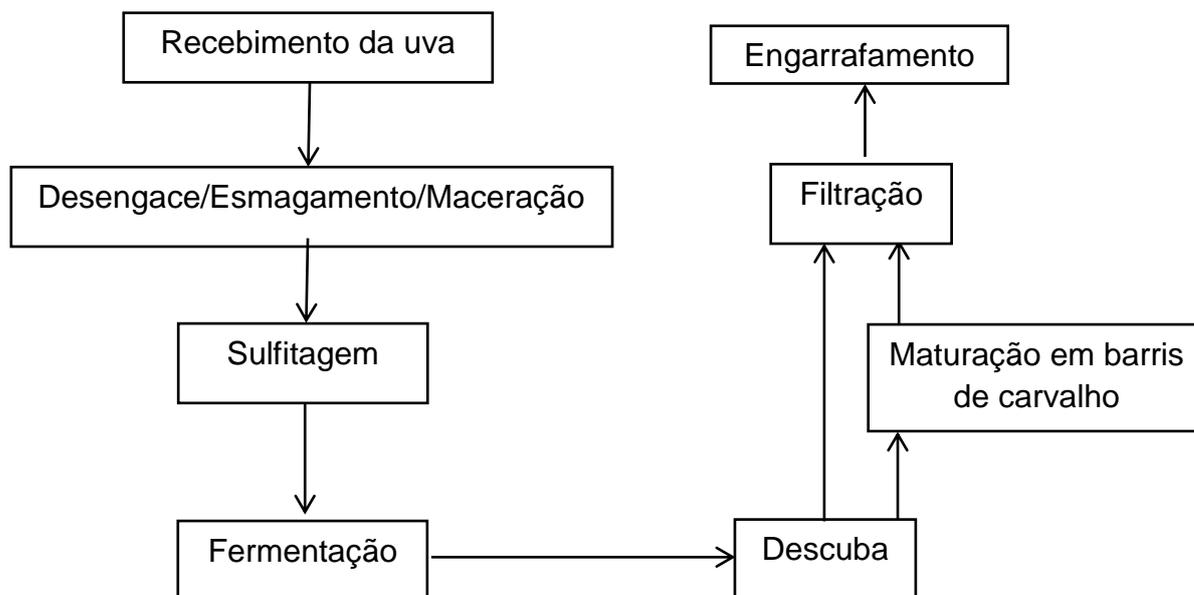
O álcool formado no processo de fermentação é produzido predominantemente a partir dos açúcares presentes nas uvas. Nesta etapa pode ser realizada a prática da chaptalização, a qual é utilizada para correção do teor de açúcares do mosto, mediante a adição da menor quantidade possível de açúcar refinado (PINEAU et al., 2011).

**Descuba:** é a operação em que as cascas das uvas são retiradas do mosto em fermentação. Essa etapa só é executada quando o líquido do mosto já extraiu compostos fenólicos suficientes para alcançar as características desejadas dos vinhos tintos e rosados (BARNABÉ, 2006).

**Maturação em barris de carvalho:** o vinho é envelhecido em barris especialmente feitos de carvalho. O envelhecimento em carvalho tipicamente transmite sabores desejáveis para o vinho, como por exemplo, baunilha, manteiga e especiarias. Os vinhos de mesa geralmente não passam por essa etapa. O processo de maturação pode ser classificado em função do tempo de sua ocorrência, da seguinte forma: mágala pálido (sem maturação), mágala (de 6 a 24 meses), mágala nobre (de 2 a 3 anos), mágala envelhecido (de 3 a 5 anos) e mágala ultra-envelhecido (acima de 5 anos) (BARBA, 2007).

**Processos de filtração:** nessa etapa uma centrífuga ou filtro é utilizado para remover quase que completamente as suspensões, leveduras e bactérias (ROSADO, 2013).

**Engarrafamento:** o teor de  $SO_2$  é determinado e ajustado quando necessário, pois está relacionado com a conservação do produto. O fechamento manual ainda é utilizado em pequenas vinícolas enquanto que em vinícolas maiores é comum o engarrafamento a partir de uma operação automatizada (BARNABÉ, 2006).



**Figura 3.** Fluxograma do processo geral de vinificação.

### 2.2.1. ADIÇÃO DE AÇÚCAR DURANTE OS PROCESSOS DE VINIFICAÇÃO

A adição de açúcar em vinho consiste na correção da insuficiência do teor de açúcar no mosto, quando as uvas utilizadas para a sua produção não apresentam teor suficiente do mesmo para que a partir do processo de fermentação seja possível a obtenção do teor mínimo (%) de álcool exigido pelas normas que preconizam a respeito sobre o teor de álcool permitido em vinhos. Essa prática é denominada de chaptalização. A adição pode ser proveniente de açúcar de beterraba ou de cana de açúcar, e é realizada antes ou durante do processo de fermentação (KOSIR et al., 2001). Teoricamente a adição de 18 g L<sup>-1</sup> de açúcar eleva o teor alcoólico em 1% (BARNABÉ, 2006).

A chaptalização empregada de modo controlado contribui com a qualidade do vinho e, dessa forma, o equilíbrio entre os constituintes fixos e voláteis não são alterados, além de que também contribui na extração de compostos fenólicos e aromáticos durante a maceração da uva (RIZZON, LUIZ ANTENOR; MIELE, 2005).

Atualmente, o controle analítico da chaptalização dos vinhos brasileiros é feito mediante a análise da relação isotópica  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ , sendo permitido que no máximo 3% (v v<sup>-1</sup>) do álcool produzido pelo processo de fermentação seja proveniente da adição externa de açúcar realizada pela operação de chaptalização (BRASIL, 1974).

RIZZON e MIELE (2005) realizaram um estudo para avaliar o efeito de diferentes produtos utilizados para a correção do mosto na composição química do vinho que é produzido a partir do tipo de uva Isabel, que é o tipo de uva mais cultivado no Brasil. Para a avaliação do processo de correção, o mosto foi obtido a partir de seis diferentes tipos de tratamento: sem a correção do teor açucares; adição de sacarose; adição de açúcar mascavo; obtenção de um mosto mais concentrado; adição de álcool vínico; e adição de glicose de milho. Como conclusão do referido estudo, observou-se que a adição do açúcar refinado da sacarose foi mais adequada para a realização do processo de correção do mosto em relação aos outros tratamentos avaliados, não alterando a composição química do mosto obtida sem a realização de processos de correção, contribuindo ainda para a obtenção de uma maior eficiência na produção de álcool no processo de fermentação.

PINEAU et al. (2011) estudaram as propriedades sensoriais exibidas pelos vinhos obtidos a partir da uva Sauvignon Blanc, e como as referidas propriedades foram afetadas pelo estado de maturação da uva e, também, pela chaptalização do mosto. A partir desse estudo foi observado que as características sensoriais desejáveis para esse tipo de vinho foram obtidas principalmente quando o teor alcoólico gerado pelo processo de fermentação foi produzido predominantemente a partir apenas do açúcar presente nas uvas. Portanto, a operação de chaptalização utilizada para correção de um mosto deve envolver a adição da menor quantidade possível de açúcar, considerando-se os limites permitidos pela legislação pertinente.

### **2.2.2. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE O PROCESSO DE VINIFICAÇÃO**

Os compostos fenólicos são importantes para a qualidade do vinho tinto, pois impactam na qualidade do produto. Apesar de compostos fenólicos estarem presentes no suco de uva, a quantidade no vinho é relativamente maior devido a sua

maior solubilidade em etanol do que em soluções puramente aquosas (KALLITHRAKA; BAKKER; CLIFFORD, 1997; SARNI-MANCHADO; CHEYNIER; MOUTOUNET, 1999). A composição fenólica é principalmente dependente dos tipos de uvas utilizadas e do processamento de vinificação. A fermentação e a maceração são as etapas que têm um grande efeito na quantidade de polifenóis presentes no vinho (KENNEDY, 2008).

A extração de compostos fenólicos não está diretamente ligada ao tipo de uva, uma vez que vinhos produzidos a partir de uvas que apresentam um elevado teor de compostos fenólicos nem sempre apresentam um elevado teor de polifenóis. O processo de extração depende de três fatores: a localização dos compostos fenólicos nas cascas, sua evolução durante a maturação e de sua extratibilidade (ORTÌN, 2005)

A presença das cascas da uva no processo de fermentação e o tempo de contato com as cascas são importantes parâmetros no processo de extração de compostos fenólicos (DE TORRES et al., 2015). REYNOLDS et al. (2001) realizaram um estudo com vinhos produzidos com uva do tipo Syrah e constataram que uma maceração prolongada de três dias proporcionou um aumento no teor de Polifenóis Totais.

Apesar de existirem diversos fatores que influenciam na extração de compostos fenólicos, o principal motivo do vinho branco apresentar um teor de polifenóis totais muito baixo em relação ao vinho tinto é devido ao processo de vinificação, pois para este tipo de vinho, as cascas das uvas são descartadas do processo de maceração, tornando a extração dos compostos fenólicos ineficaz (DE TORRES et al., 2015).

### **2.3. CONCEITO DE pH E O VINHO**

O pH é um símbolo de uma medida físico-química para o potencial hidrogeniônico, que indica a acidez, a neutralidade ou a alcalinidade de uma solução. Para o vinho as medidas de acidez total ou acidez volátil dependem de muitas variáveis, enquanto que o pH depende apenas dos íons hidrônios presentes

no mosto e no vinho. A medida de pH indica a verdadeira acidez no vinho (REIS, 2007). Seu valor nos vinhos varia de 3,0 a 3,8, dependendo do tipo de vinho (branco ou tinto), do cultivar e da safra (MAZON, 2013).

O teor ácido de um vinho é um importante parâmetro enológico, o qual é constituído por uma mistura de ácidos (salicílico, tartárico, cítrico, málico, fórmico, acético, succínico, entre outros), os quais em função de seus valores de  $pK_a$  encontram-se dissociados em maior ou menor extensão. A proporção de sais que são formados no vinho depende de vários fatores, tais como origem geográfica, da variedade da uva, da maneira como as vinhas são tratadas e dos processos de vinificação (MAZON, 2013).

Vinhos que tem um pH mais elevado são produzidos a partir de uvas com relativos altos teores de potássio (FOGAÇA; DAUDT; DORNELES, 2007). Valores de pH mais altos podem comprometer a conservação do produto, pois a fração de dióxido de enxofre livre dissolvido e volátil é menor, e, conseqüentemente, menor é o poder antisséptico. (MAZON, 2013) A coloração também é afetada pelo pH e pelo teor alcoólico, que são responsáveis pela conformação das antocianinas e conforme o pH, esses pigmentos se encontram em diferentes formas de oxônio e geralmente apresenta uma coloração vermelha brilhante. Em pH mais elevados, as antocianinas passam a ter uma estrutura quinoidal, púrpura, e em meio alcalino a cor muda para azul (BOULTON, 2001; MAZON, 2013; GIL et al.,2015).

FONTOIN et al. (2008) realizaram um estudo onde se observou como a variação de pH e do teor de etanol está relacionada com a adstringência e amargura de compostos fenólicos em vinho, os quais são dois dos principais atributos sensoriais e são induzidos principalmente por polímeros flavanol (proantocianidinas ou taninos condensados). A amargura e adstringência geral foram classificados por 16 juízes, e para teores mais altos de pH e etanol a percepção de adstringência foi reduzida. Enquanto o pH afetou apenas a adstringência, o etanol também contribuiu para a amargura, especialmente em níveis de etanol típicos (11-15%).

## **2.4. TEOR ALCOÓLICO E VINHO**

O etanol, ou álcool etílico, não está relacionado apenas com as características organolépticas do vinho, sendo também um importante fator na qualidade do produto, pois desempenha um papel no controle microbiano. Além disso, promove a extração de compostos da película e das grainhas das uvas como é o caso das antocianinas. O etanol não é originário das uvas, mas sim é formado como o principal produto da fermentação alcoólica, sendo depois da água o principal componente do vinho. O teor de etanol em vinho depende das condições do mosto durante a fermentação (temperatura, concentração de açúcares e tipo de levedura) (ROSADO, 2013).

De acordo com BRASIL (1988), o vinho de mesa e o vinho fino devem possuir teor alcóólico de 8,6% a 14% (v v<sup>-1</sup>). Estratégias para a produção de vinho com menos álcool são indispensáveis para inverter uma tendência nas últimas décadas, onde a concentração média de etanol no vinho aumentou (DE ORDUNA, 2010). Esta tendência tem sido impulsionada em grande parte pela preferência do consumidor por estilos de vinho de uvas maduras que são ricas em açúcar (JONES et al., 2005). Vinhos produzidos com altos níveis de etanol podem impactar negativamente a saúde humana, devido às preocupações ligadas ao consumo excessivo do álcool (ATHES et al., 2004) e à qualidade do vinho (RODRIGUES et al., 2016).

## **1.1. TEOR DE FERRO EM VINHO**

A determinação da composição elementar de vinhos é uma questão muito interessante e útil, pois é uma importante fonte para ingestão alimentar de certos elementos que podem ser essenciais como Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, Zn, entre outros. No entanto, uma atenção especial deve ser dada a outros elementos que são encontrados no vinho como, por exemplo, As, Cd, Cr, Hg e Pb, devido às suas potenciais toxicidades. A presença desses íons potencialmente nocivos é regulamentada pelas leis de proteção à saúde (AZCARATE et al., 2015; VRČEK et al., 2011).

O Fe é um elemento abundante na crosta terrestre e desempenha um papel importante em sistemas ambientais, industriais e biológicos (PEÑA; DE SOUZA; BERTOTTI, 2014). Esse mineral é necessário para que a hemoglobina funcione e transporte o oxigênio para todas as células do organismo humano. Um dos primeiros sinais da falta de Fe são o cansaço e a fadiga. Uma carência de Fe na alimentação interfere com o controle da temperatura corporal, aumenta a queda de cabelo e abaixa a capacidade imunológica, tornando o indivíduo mais vulnerável a infecções. Porém, o excesso desse mineral também pode ter efeitos nocivos à saúde e causar uma doença chamada hemocromatose (EUFIC, 1999), que causa complicações tais como insuficiência cardíaca, disfunção hipofisária e gonadal, diabetes mellitus, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, entre outras (SOUZA; CARVALHO-FILHO; CHEBLI, 2001).

No vinho a faixa de concentração de Fe característica é de 0,5-25 mg L<sup>-1</sup> (FERREIRA et al., 2007), e teores acima de 10 mg L<sup>-1</sup> resultam em turbidez e em alterações na cor, e podem afetar negativamente as características organolépticas do vinho (RIGANAKOS; VELTSISTAS, 2003).

Como o Fe em altas concentrações induz à formação de turbidez e sedimentação, muitas vinícolas estão adicionando ferrocianeto de potássio para eliminar significativamente a concentração deste elemento e de outros metais, que também participam do processo de geração de turbidez. O uso deste agente complexante apresenta risco de uma possível transformação de algum excesso em cianeto de hidrogênio, um composto altamente tóxico ao organismo humano, que é capaz de inibir a atividade da enzima citocromo-oxidase, que é fundamental para que as células consumam o gás oxigênio transportado pelo sangue. O íon cianeto provoca a parada da respiração celular, fazendo com que a pessoa morra por asfixia, mesmo que seu sangue esteja saturado de oxigênio (BENÍTEZ et al., 2002).

O teor natural de Fe no mosto varia de acordo com as quantidades presentes no solo, na uva e, também, outra possível fonte de contaminação inclui o modo com que é feita a colheita da uva, transporte, fermentação, e das condições dos tanques de armazenamento. Dessa forma a concentração de Fe em vinho pode ser superior a 20 mg L<sup>-1</sup> (RIGANAKOS; VELTSISTAS, 2003). RIGANAKOS et al. (2003) determinaram o teor de Fe em vinhos utilizando dois métodos espectrofotométricos

de absorção molecular na região do visível, sendo um deles baseado no método do tiocianato e o outro baseado no método que emprega o Nitro-PAPS (2-(5-nitro-2-piridilazo)-5-[N-n-(3-sulfopropil)amino]-fenol). Os mesmos pesquisadores realizaram a referida determinação por espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS), para comparação dos resultados, e os teores determinados para Fe variaram de  $0,73 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$  a  $9,68 \pm 0,08 \text{ mg L}^{-1}$ , e concluíram que os métodos propostos foram rápidos, precisos, simples, relativamente baratos, podendo ser usado para todos os tipos de vinho (branco, rosado e tinto). ÁLVAREZ et al. (2007) utilizaram a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), e determinaram os teores de vários metais (Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr e Zn) para vários vinhos finos. As concentrações de Fe variaram de 0,69 a  $3,55 \text{ mg L}^{-1}$ , e foi observada a tendência da existência de uma correlação entre a origem geográfica dos vinhos com o teor de íons metálicos.

## 1.2. TEOR DE POLIFENÓIS EM VINHOS

Polifenóis são uma classe de substâncias que são característicos de uvas e produtos relacionados, tal como o vinho. O conhecimento da relação entre a qualidade do vinho e a sua composição fenólica é um dos principais desafios na investigação enológica (KENNEDY, 2008). Polifenóis também são importantes do ponto de vista taxonômico. Os padrões de algumas classes de flavonoides, tais como antocianinas, estão sob rigoroso controle genético, e sua distribuição varia consideravelmente entre os diferentes cultivares de uva (REVILLA et al., 2001). Esses compostos desempenham um papel importante no crescimento e reprodução das vinhas e são conhecidos como substância fungitóxicas, antibacterianas e antiviróticas, fornecendo defesa a situações adversas ou estressantes (IGNAT; VOLF; POPA, 2011; STANGARLIN et al., 2011).

As antocianinas são compostos fenólicos que dependendo do pH e em alguns casos, agentes complexantes, podem contribuir com diversas cores, tais como vermelho, púrpura e azul (MAZZA; BROUILLARD, 1987). Elas são consideradas um

dos principais pigmentos naturais nos alimentos de origem vegetal, incluindo o vermelho dos vinhos (ANDERSON et al., 1970; HE et al., 2012).

Na natureza existe uma ampla variedade de compostos fenólicos que podem ser identificados, sendo que mais de dez mil compostos já foram relatados (PÉREZ-TORTOSA et al., 2012; NAIR; PANNEERSELVAM; GOPI, 2012) .

A composição de polifenóis totais em vinho depende de vários fatores, como a variedade de uva e sua maturidade, fatores ambientais em que as vinhas são expostas (clima e solo), tecnologia de vinificação e das condições de fermentação e de envelhecimento (FANG et al., 2008). Práticas pré-fermentativas, como a adição de SO<sub>2</sub> e ácido ascórbico antes do esmagamento da uva, fermentação alcoólica e a inoculação de diferentes cepas de levedura também podem influenciar os níveis de compostos fenólicos durante o processo de vinificação (SAUCIER, 2010).

Polifenóis são classificados em várias classes, dentre os quais se destacam os ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, óleos voláteis fenólicos, entre outros (LU et al., 2011). Um dos compostos fenólicos mais importantes do vinho é o resveratrol, o qual é encontrado nas cascas de uva e apresenta atividade bioquímica, atua como inibidor da agregação plaquetária e coagulação, exibe ação anti-inflamatória, regula o metabolismo lipoprotéico e age como quimiopreventivo (MORAES; LOCATELLI, 2010).

PORGALI et al. (2012) utilizaram a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa para a determinação simultânea de 14 compostos fenólicos em vinhos tintos, utilizando-se detector de fluorescência, e o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (FC) foi utilizado para a determinação de polifenóis totais. Os teores de polifenóis variaram de 1836,5 ± 40,5 a 3466,9 ± 54,4 mg AG L<sup>-1</sup> (AG = ácido gálico), sendo observada uma diferença significativa entre os valores dos teores de polifenóis totais determinados pelo método de Folin-Ciocalteu e pela técnica cromatográfica de HPLC. A razão para essa discrepância pode ser devido ao fato do reagente de Folin-Ciocalteu não ser seletivo para os compostos fenólicos, e poder reagir com muitas outras substâncias orgânicas não fenólicas (açúcares, proteínas, ácido ascórbico, entre outras) e, também, com substâncias inorgânicas (Fe<sup>2+</sup>, metabissulfito de sódio, fosfito, entre outras) (PORGALI; BÜYÜKTUNCEL, 2012).

REBELO et al. (2013) realizaram um estudo comparativo entre a capacidade antioxidante e os teores polifenóis totais em vinho, determinados pelos métodos da captura do radical (2,2-azinobis-[3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico]) (ABTS<sup>+</sup>) e Folin-Ciocalteu. As concentrações de polifenóis totais variaram de  $250 \pm 0,03$  a  $2280 \pm 0,06$  mg AG L<sup>-1</sup> quando determinadas pelo método de Folin Ciocalteu, enquanto que pelo método de ABTS<sup>+</sup> as referidas concentrações variaram de  $56 \pm 0,001$  a  $1090 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup>. Esses valores indicaram que em comparação com os resultados obtidos pelo método de ABTS<sup>+</sup>, aqueles obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu superestimaram a capacidade antioxidante dos diferentes tipos de vinho, assim como foi observado e justificado por (PORGALI; BÜYÜKTUNCEL, 2012)).

### **1.3. COMPLEXAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS COM POLIFENÓIS.**

Os polifenóis apresentam sítios de ligação que possibilitam a formação de complexos com alguns íons metálicos de transição (Figura 4), e os teores de metais em vinho podem variar devido a este efeito de complexação (HIDER; LIU; KHODR, 2001).

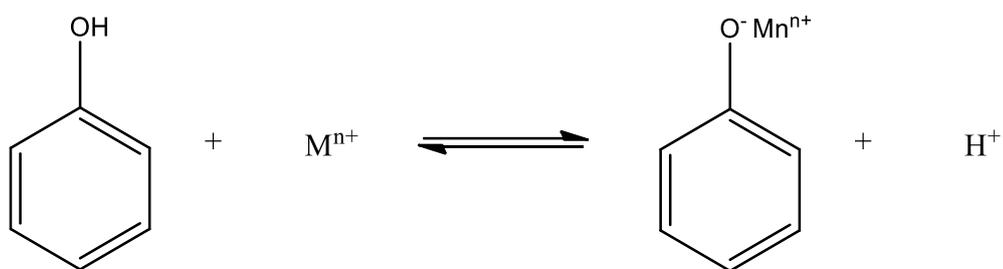
As videiras produzem muitos compostos orgânicos que formam complexos com metais, tais como fitoquelatinas, fenóis simples, e polifenóis, inclusive os taninos (ERNST, 1996). Considerando que concentrações relativamente elevadas de polifenóis estão presentes na uva, a quelação com metais tóxicos ou essenciais é biologicamente relevante (KAAL; NIEROP; VERSTRATEN, 2005).

BAI et al. (2004) indicaram que todos os metais de transição podem formar complexos com um flavonoide em particular (rutina), e ESPARZA et al. (2004) realizaram um estudo em amostras de vinhos da variedade de uva (*Vitis vinífera*), as quais foram obtidas a partir de um período de 0-345 dias do processo de vinificação para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn, bem como também para a determinação polifenóis totais e antocianinas. Uma boa correlação foi encontrada para Fe e Cu com polifenóis totais e antocianinas, de modo que à medida que os teores de polifenóis ou antocianinas aumentaram, as concentrações de metais diminuíram, dando origem a uma correlação inversa. Esse comportamento pode ser explicado

possivelmente devido ao fato desses metais participarem de reações de condensação com os taninos e as antocianinas.

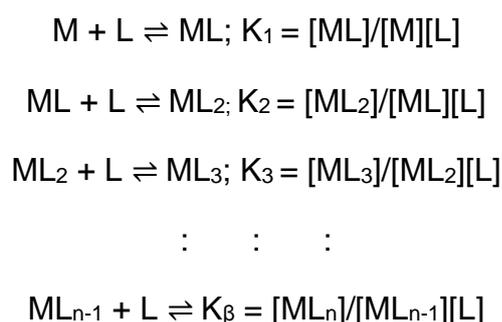
BIMPILAS et al. (2015) realizaram um estudo da variação da concentração compostos fenólicos e do conteúdo de íons metálicos em vinho para as variedades de uva Merlot e Syrah, provenientes da Grécia, durante a etapa de vinificação de fermentação alcoólica e armazenamento. A correlação inversa encontrada entre os metais e os compostos fenólicos foi semelhante à encontrada por ESPARZA et al. (2004).

Na Figura 4 é apresentada uma reação geral do processo de quelação entre um composto fenólico e íons metálicos.



**Figura 4.** Reação de complexação de um composto fenólico com um íon metálico.

ANDJELKOVIC et al. (2006) realizaram um estudo para a determinação da capacidade de formação de complexos entre compostos fenólicos e íons Fe. O mecanismo da formação do quelato foi determinado a partir de um método espectrofotométrico e as constantes de ligação dos complexos foram calculadas. O referido estudo possibilitou observar que o Fe tem um grande potencial de formação de complexos com compostos fenólicos. PERRON; BRUMAGHIM (2009) enumeraram diversas constantes de ligação de compostos fenólicos com Fe nos estados de oxidação  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ . As referidas constantes de ligação foram definidas como sendo uma constante de equilíbrio K, de um ou mais compostos fenólicos que se ligam a um íon de Fe, Várias constantes de equilíbrio ( $K_1$ ,  $K_2$  e  $K_3$ ) surgem de acordo com os vários ligantes de polifenóis que são coordenados a um centro de Fe. Exemplo para um íon metálico qualquer é ilustrado na Figura 5.



**Figura 5.** Reações de um íon metálico, M, com um ligante monodentado, L. Em que  $K_\beta$  é a constante de estabilidade global do complexo (ANDRADE, 2010).

O produto das constantes de equilíbrio individuais é referido como a constante de estabilidade global do complexo,  $\beta$  (PERRON; BRUMAGHIM, 2009). Na Tabela 1 estão dispostas as constantes de estabilidade para alguns complexos de Fe com compostos fenólicos (PERRON; BRUMAGHIM, 2009)

**Tabela 1.** Constantes de estabilidade para a formação de complexos de  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  com compostos fenólicos como ligantes.

Composto	Fe <sup>n+*</sup>	Log K <sub>1</sub>	Log K <sub>2</sub>	Log K <sub>3</sub>	Log $\beta$
1,2-di-hidroxinaftaleno-4-sulfonato	2	8,99	7,5		16,49
	3	19,84	15,11		34,95
1,2-di-hidroxinaftaleno-6-sulfonato	3	19,88	14,47	9,87	44,22
Ácido 2,3-di-hidroxibenzóico	3	7,7	4,0	24	35,7
2,3-Di-hidroxi-N,N-dietil tereftalamida	3	16,22	14,32	11,48	42,02
2,3-Di-hidroxi-N,N-dimetilbenzamida	3	17,8	13,9	8,5	40,2
	3				39,8
2,3-Di-hidroxi-N,N'-dimetil-tereftalamida	3	16,37	14,40	10,91	41,68

**Continuação Tabela 1.**

<b>Composto</b>	<b>Fe<sup>n+</sup>*</b>	<b>Log K<sub>1</sub></b>	<b>Log K<sub>2</sub></b>	<b>Log K<sub>3</sub></b>	<b>Log β</b>
2,3-Di-hidroxi-N,N-dipropil-tereftalamida	3	16,0	15,17	11,97	43,14
	3	14,85	8,9		23,75
Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético					
	3				43,9
3,4-Dihidroxi flavona	3	20,87			
4-nitrocatecol	3	18,29	14,17	9,2	41,66
Catequina	3	21,8	15,7	9,9	47,4
Catecol	2	7,95	5,55		13,5
	2	8,4			
	3	20,01	14,69	9,06	43,76
Enterobactina	3				49
Ácido Gálico	2	7,0			
	3	14	8,5	5	27,5
Ácido Gálico	3	11,15	8,53	4,42	24,09
Metil-Galato	3	12,4	11,7	9,93	34,03
N-Propil-galato	2	9,1			
Ácido Protocatecuico	3	19,50	14,32	8,70	42,52
Quercetina	2	9,44	3,86		13,3
	3				44,2
Rutina	3				44,1

\* Fe<sup>n+</sup> = Fe<sup>2+</sup> ou Fe<sup>3+</sup>

As constantes de estabilidade relativamente elevadas para os complexos de íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  com compostos fenólicos apresentadas na Tabela 1, indicam que a existência de uma forte tendência de que polifenóis formem complexos com íons de Fe, sendo esse um dos fatores determinantes para a realização da determinação deste metal em amostras de vinho neste trabalho de dissertação, para a avaliação da existência ou não de uma relação entre a concentração total dos íons desse metal com o teor de polifenóis totais.

Sabendo que os polifenóis são capazes de formar complexos com vários metais, ESCUDERO et al. (2014) desenvolveram um estudo para chegar a uma melhor compreensão da estabilidade química de complexos  $\text{Fe}^{3+}$ -quercetina derivados do vinho, em um modelo de digestão *in vitro* que simulou as condições gastrointestinais. Os resultados demonstraram que o complexo é substancialmente estável, mesmo quando submetido às condições que simulam àquelas que ocorrem no estômago. Embora o complexo tenha sido parcialmente degradado durante o processo de digestão, uma recuperação de 41 a 45% foi observada.

SCHMIDT et al. (2013) destacaram que poucos pesquisadores têm investigado a respeito da importância da complexação de íons metálicos com polifenóis e enfatizaram a importância desse tipo de estudo.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a existência ou não de uma relação entre as concentrações total de íons Fe com a concentração de polifenóis totais, pH e teor alcoólico em amostras de diferentes tipos de vinho.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a concentração total de íons Fe em amostras de diferentes tipos de vinho, empregando-se um procedimento de análise direta por F AAS;
- b) Determinar a concentração de polifenóis totais pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu;
- c) Avaliar a existência de uma relação entre a concentração total de íons Fe com a concentração de polifenóis totais, pH e teor alcoólico para os diferentes tipos de vinhos analisados, empregando-se os métodos de análise de componentes principais (ACP) e de análise de conglomerados.

## 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 3.1. AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram analisadas 45 amostras de vinhos adquiridas no comércio da região de Maringá, Paraná - Br. Deste total, 8 (18%) foram referentes a vinhos tintos de mesa, 9 (20%) vinhos finos brancos, 7 (15%) vinhos tintos finos suaves, 11 (24%) vinhos tintos finos meio secos e 9 (20%) vinhos tintos finos secos. As características das amostras são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Características das amostras de vinho adquiridas no comércio da região de Maringá, Paraná - Br.

Amostra	Tipo de Vinho	Tipo de Uva	Procedência
1	Branco	SB	RS - Brasil
2	Branco	SB	RS - Brasil
3	Branco	SB	RS - Brasil
4	Branco	SB	RS - Brasil

**Continuação Tabela 2.**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Procedência</b>
5	Branco	SB	RS - Brasil
6	Branco	Mistura	Chile
7	Branco	SB	RS - Brasil
8	Branco	Mistura	RS - Brasil
9	Branco	SB	RS - Brasil
10	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
11	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
12	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
13	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
14	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
15	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
16	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
17	Tinto de Mesa	Mistura	RS - Brasil
18	Tinto de Mesa	Mistura	Itália
19	Tinto Suave	CS	RS - Brasil
20	Tinto Suave	M	RS - Brasil
21	Tinto Suave	CS	RS - Brasil
22	Tinto Suave	CS	PR – Brasil
23	Tinto Suave	M	RS - Brasil
24	Tinto Suave	CS	RS - Brasil
25	Tinto Suave	M	RS - Brasil
26	Tinto Meio Seco	CS	RS - Brasil
27	Tinto Meio Seco	CS	RS - Brasil

**Continuação Tabela 2.**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Procedência</b>
28	Tinto Meio Seco	M	RS - Brasil
29	Tinto Meio Seco	M	RS - Brasil
30	Tinto Meio Seco	M	RS - Brasil
31	Tinto Meio Seco	CS	RS - Brasil
32	Tinto Meio Seco	M	Urugay
33	Tinto Meio Seco	M	Argentina
34	Tinto Meio Seco	CS	Argentina
35	Tinto Meio Seco	CS	Chile
36	Tinto Meio Seco	CS	Urugay
37	Tinto Seco	CS	RS - Brasil
38	Tinto Seco	M	RS - Brasil
39	Tinto Seco	CS	RS - Brasil
40	Tinto Seco	CS	RS - Brasil
41	Tinto Seco	M	RS - Brasil
42	Tinto Seco	CS	Chile
43	Tinto Seco	CS	Argentina
44	Tinto Seco	CS	RS - Brasil
45	Tinto Seco	M	RS - Brasil

\* CS, *Carbernet Sauvignon*; S, *Sauvignon Blanc* ; M *Merlot*; RS, Rio Grande do Sul.

### **3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES**

Os reagentes utilizados foram de alto grau de pureza, e as soluções foram preparadas utilizando-se água ultrapura obtida por destilação e purificação em

sistema Milli-Q®. Os recipientes foram descontaminados em banho de HNO<sub>3</sub> 10% (v v<sup>-1</sup>) por 24 h e enxaguados com água ultrapura. As soluções de HNO<sub>3</sub> foram preparadas a partir desse reagente ultrapuro, obtido por subdestilação de HNO<sub>3</sub> 65% (Merck) em um sistema de destilação de ácidos (DuoPur, Milestone). Como soluções de referência foram empregadas soluções de ácido gálico (AG): 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 11,0; 13,0; 15,0; 17,0 e 19,0 mg L<sup>-1</sup>, preparadas a partir de sucessivas diluições de uma solução padrão de AG 100 mg L<sup>-1</sup> (Sigma aldrich). Soluções padrão de Fe: 0,50; 1,00; 3,00; 5,00 e 8,00 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas em meio de HNO<sub>3</sub> 1% (v v<sup>-1</sup>) e 11% (v v<sup>-1</sup>) de etanol, as quais foram obtidas por diluições de uma solução padrão de Fe 1000 mg L<sup>-1</sup> (Specsil, QuimLab, São Paulo, Brasil).

### **3.3.DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU**

Para a determinação dos polifenóis totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu adaptado de GOMES DA COSTA et al. (2009), para o qual uma alíquota de 0,050 mL da amostra de vinho foi misturada com 0,100 mL de reagente de Folin-Ciocalteu, 2 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% (m v<sup>-1</sup>), completando-se o volume para 10,0 mL com água ultrapura em um tubo graduado de polipropileno de fundo cônico (Corning®). As soluções foram agitadas durante 15 s e deixadas em repouso durante 30 min em temperatura ambiente. As absorvâncias foram medidas em um espectrofotômetro UV-Vis (UVmini-1240, Shimadzu®) no comprimento de onda de 650 nm em uma cubeta de vidro com caminho óptico de 1,0 cm.

O ácido gálico (AG) foi utilizado como padrão para o preparo das soluções da curva analítica (0 – 19,0 mg AG L<sup>-1</sup>), e os resultados foram expressos como miligrama de AG por litro de vinho (mg AG L<sup>-1</sup> de vinho).

### **4.4.DETERMINAÇÃO DE Fe NAS AMOSTRAS DE VINHO POR F AAS**

As amostras foram analisadas diretamente e o método de ajuste de matriz foi utilizado para a obtenção da curva analítica. O referido procedimento de calibração é

o método oficial recomendado pela União Européia (1990) para determinação de Fe em amostras de vinho (ACETO et al., 2002).

As medidas para determinação de Fe foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama (Varian® SpectrAA-240FS, Austrália), instalado no COMCAP (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa) da Universidade Estadual de Maringá, equipado com uma lâmpada de arco de deutério para a correção do sinal de fundo, empregando-se uma chama do tipo ar/acetileno. Como fonte de radiação, foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco monoelementar de Fe (Varian®). As condições instrumentais empregadas para a determinação de Fe por F AAS estão apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Condições instrumentais para a determinação de Fe por F AAS.

Parâmetros	
Comprimento de onda	248,3 nm
Largura da fenda espectral	0,2 nm
Corrente de operação da lâmpada	10 mA
Vazão da chama ar/acetileno	13,5 L min <sup>-1</sup> / 2 L min <sup>-1</sup>
Aquisição do sinal de absorvância	Altura de pico

Todas as amostras foram analisadas empregando-se o processo de introdução contínua.

Para as determinações dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) do método, foram utilizadas as equações 2 e 3 apresentadas abaixo:

$$LOD = \frac{3s}{b} \quad \text{Equação 2}$$

$$LOQ = \frac{10s}{b} \quad \text{Equação 3}$$

Nas quais:

$s$  = desvio padrão da média de dez medidas de absorvância obtidas para dez soluções do branco analítico;

$b$  = coeficiente angular da curva analítica (sensibilidade do método analítico).

#### **4.5. DETERMINAÇÃO DO pH**

As medidas de pH foram realizadas em triplicata pelo método potenciométrico, utilizando-se um eletrodo combinado de vidro calibrado com soluções tampão pH 4,00, pH 7,00 e pH 11,00, à temperatura ambiente. As determinações de pH foram efetuadas diretamente nas amostras de vinho.

#### **4.6. TEOR ALCOÓLICO**

Os valores de teor alcoólico (% v v<sup>-1</sup>) foram obtidos a partir da informação contida nos rótulos das garrafas das diferentes amostras de vinho analisadas.

## **4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

### **4.7.1. ANÁLISES DE CONGLOMERADOS**

Os diagramas de dispersão de conglomerados foram obtidos a partir do software de estatística Statgraphic® Centurion XVI, versão 16.01.03 (32-bits).

### **4.7.2. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS EMPREGANDO ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP)**

Foram analisadas 45 amostras de vinhos de 2 tipos (mesa e fino), de 2 cores (tinto e branco) e de 3 variedades de uva (Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon e Merlot). Dessa forma, uma matriz denominada X foi construída, contendo 4 variáveis: Fe, Polifenóis Totais, pH e teor alcoólico. A análise exploratória foi realizada com 3 classes: tipo de vinho, cor e variedade de uva.

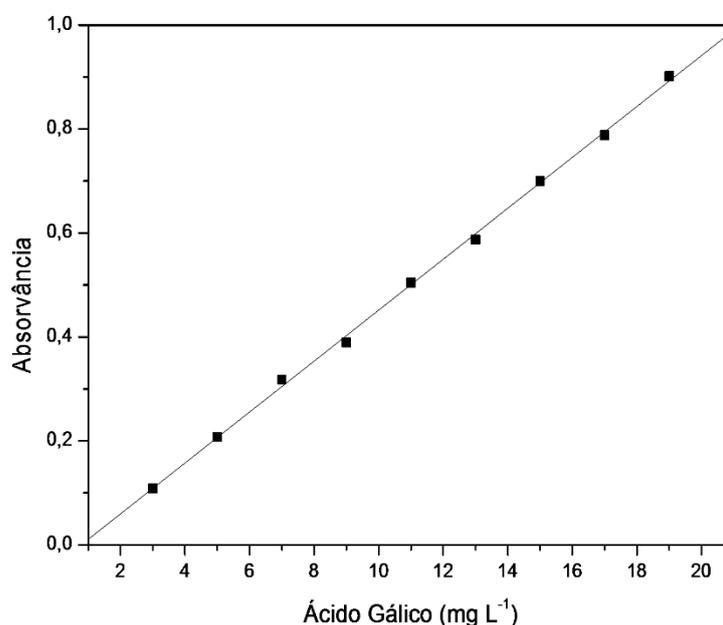
A matriz X foi autoescalorada e o algoritmo da decomposição dos valores singulares (SDV) foi executado para encontrar os scores e os loadings da ACP.

As análises de componentes principais foram realizadas empregando-se o software de estatística Statgraphic® Centurion XVI, versão 16.01.03 (32-bits).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1.DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU

As determinações dos teores de polifenóis totais em amostras de diferentes tipos de vinho foram realizadas pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Na Figura 6 está representada a curva analítica obtida por calibração externa (3,00 a 19,00 mg L<sup>-1</sup> AG). O coeficiente de correlação (r) obtido para a curva analítico foi superior a 0,999, demonstrando linearidade adequada para ser empregada nas determinações para a qual ela foi obtida, pois conforme a ANVISA (2003), o coeficiente de correlação de uma curva analítica deve ser  $\geq 0,98$  para a que a referida curva apresente linearidade analiticamente aceitável para ser aplicada em uma determinação.



**Figura 6.** Curva analítica obtida para a determinação dos teores de polifenóis totais em amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

Na Tabela 4 são apresentadas as figuras de mérito obtidas a partir da curva analítica empregada para a determinação dos teores de polifenóis totais pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

**Tabela 4.** Figuras de mérito obtidas para a determinação do teor de polifenóis totais em amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

Figura de mérito	Valores
Equação da curva de regressão linear	$A = 0,04898.C_{AG} - 0,03825^*$
Coeficiente de correlação (r)	0,9994
Sensibilidade ( $L\ mg^{-1}$ )	0,04898

\* A = absorvância;  $C_{AG}$  = concentração de ácido gálico ( $mg\ L^{-1}$ ).

A partir da equação da curva de regressão linear apresentada na Tabela 4 foram determinados os teores de polifenóis totais em diferentes tipos de vinho, cujos valores das concentrações são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Teores de polifenóis totais determinados para diferentes tipos de amostras de vinho pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

Amostra	Tipo de Vinho	Tipo de Uva	Polifenóis Totais ( $mg\ AG\ L^{-1}$ )	RSD (%)
1	Branco	SB	$442,3 \pm 20$	4,57
2	Branco	SB	Não detectado	
3	Branco	SB	$49,27 \pm 1,2$	2,36
4	Branco	SB	$550,3 \pm 22$	4,05
5	Branco	SB	$1371 \pm 29$	2,14

**Continuação Tabela 5.**

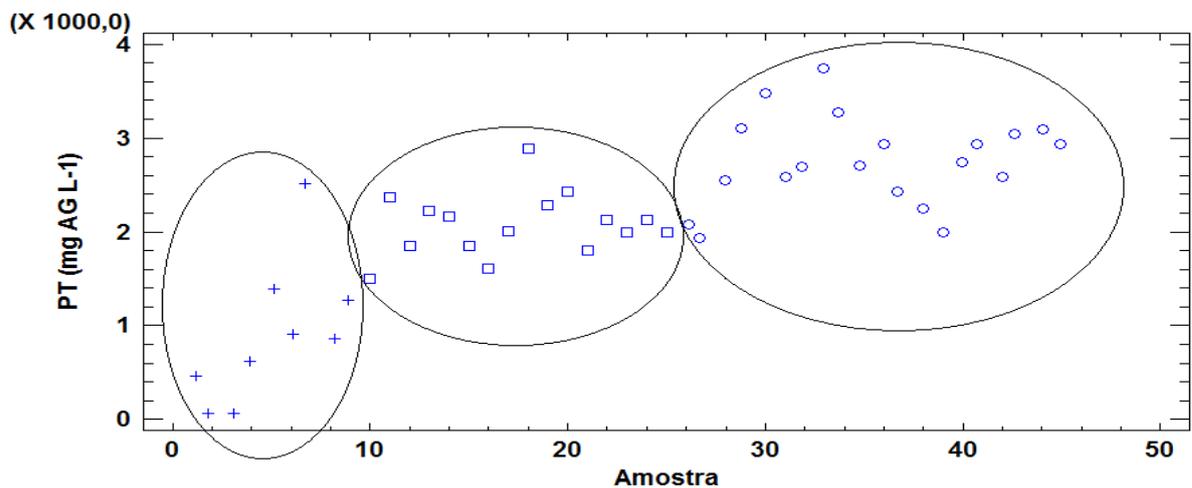
<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Polifenóis Totais (mg AG L<sup>-1</sup>)</b>	<b>RSD (%)</b>
6	Branco	Mistura	821,1 ± 17	2,02
7	Branco	SB	2557 ± 89	3,47
8	Branco	Mistura	936,8 ± 32	3,40
9	Branco	SB	1286 ± 50	3,93
10	Tinto de Mesa	Mistura	1497 ± 13	0,84
11	Tinto de Mesa	Mistura	2363 ± 66	2,80
12	Tinto de Mesa	Mistura	1850 ± 67	3,63
13	Tinto de Mesa	Mistura	2227 ± 36	1,63
14	Tinto de Mesa	Mistura	2166 ± 42	1,94
15	Tinto de Mesa	Mistura	1847 ± 51	2,79
16	Tinto de Mesa	Mistura	1610 ± 30	1,86
17	Tinto de Mesa	Mistura	2002 ± 40	2,00
18	Tinto de Mesa	Mistura	2886 ± 65	2,24
19	Tinto Suave	CS	2282 ± 35	1,56
20	Tinto Suave	M	2424 ± 20	0,82
21	Tinto Suave	CS	1803 ± 25	1,40
22	Tinto Suave	CS	2128 ± 63	2,98
23	Tinto Suave	M	1996 ± 50	2,53
24	Tinto Suave	CS	2132 ± 67	3,16
25	Tinto Suave	M	1992 ± 59	2,99
26	Tinto Meio Seco	CS	2047 ± 48	2,36

**Continuação Tabela 5**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Polifenóis Totais (mg AG L<sup>-1</sup>)</b>	<b>RSD (%)</b>
27	Tinto Meio Seco	CS	1927 ± 31	1,61
28	Tinto Meio Seco	M	2547 ± 9,2	0,36
29	Tinto Meio Seco	M	3094 ± 27	0,86
30	Tinto Meio Seco	CS	3479 ± 34	0,99
31	Tinto Meio Seco	M	2570 ± 29	1,11
32	Tinto Meio Seco	M	2667 ± 90	3,40
33	Tinto Meio Seco	M	3724 ± 161	4,31
34	Tinto Meio Seco	CS	3254 ± 89	2,74
35	Tinto Meio Seco	CS	2712 ± 109	4,03
36	Tinto Meio Seco	CS	2918 ± 96	3,30
37	Seco	CS	2404 ± 53	2,22
38	Seco	M	2207 ± 33	1,51
39	Seco	CS	1991 ± 91	4,56
40	Seco	CS	2745 ± 55	2,02
41	Seco	M	2911 ± 3,9	0,13
42	Seco	CS	2553 ± 81	3,17
43	Seco	CS	3041 ± 100	3,28
44	Seco	CS	3068 ± 19	0,61
45	Seco	M	2911 ± 123	4,22

*\*(média ± desvio padrão; n = 3). CS, Carbernet Sauvignon; S, Sauvignon Blanc ; M Merlot.*

Pode-se observar pela Tabela 5 que os teores de polifenóis totais determinados para as amostras de vinho analisadas, variaram de  $49,27 \pm 1,2$  a  $3724 \pm 161$  mg AG L<sup>-1</sup>, coincidindo com os teores relatados na literatura (PORGALI; BÜYÜKTUNCEL, 2012; REBELO et al., 2013) . Quanto ao tipo de vinho, verificou-se que os teores de polifenóis totais variaram de formas distintas, e para uma melhor visualização dessa observação foi obtido um diagrama de dispersão de conglomerados (Figura 7), o qual agrupou os tipos de vinho em função do grau de similaridade das concentrações de polifenóis determinadas para os mesmos. De modo geral, menores distâncias estão associadas a um elevado grau de similaridade, enquanto que maiores distâncias indicam o comportamento oposto.



**Figura 7.** Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados, em função das similaridades das concentrações de polifenóis totais (PT). Legenda: + *Vinho branco*; □ *Vinhos tintos de mesa e suave*; O *Vinhos tintos secos e meio secos*.

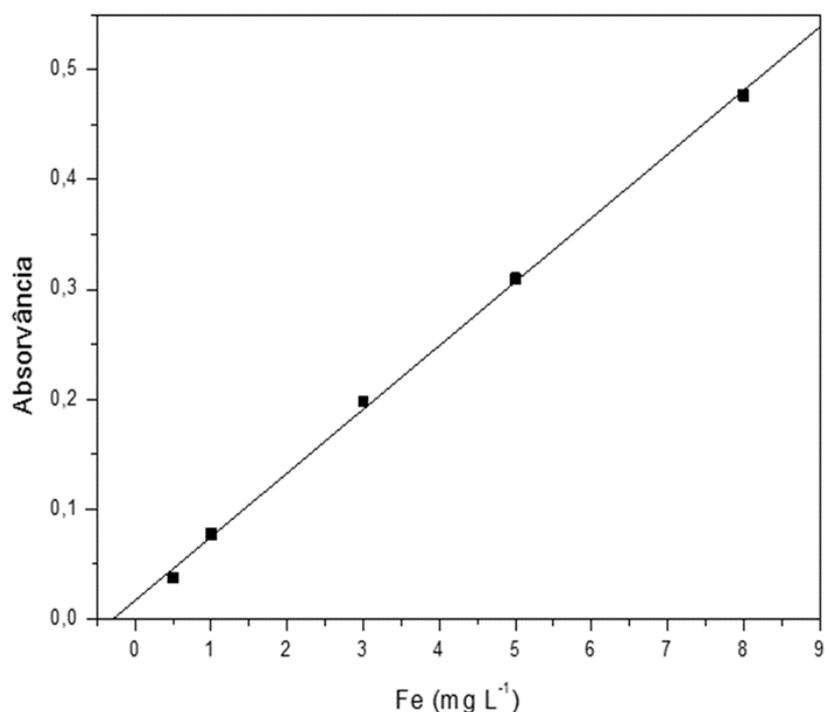
De acordo com o diagrama de dispersão, os vinhos analisados podem ser classificados em três grupos distintos: grupo dos vinhos brancos, dos vinhos tintos suaves e de mesa e dos vinhos tintos secos e meio secos, conforme apresentado na Figura 7.

Para o grupo dos vinhos brancos foram observados os menores teores de polifenóis totais, os quais variaram de  $49,27 \pm 1,2$  a  $2557 \pm 89$  mg AG L<sup>-1</sup>. A obtenção desses valores relativamente mais baixos de concentração, em comparação aos outros tipos de vinhos analisados podem ser devidos à técnica de vinificação utilizada na fabricação do vinho branco fino, na qual o mosto é obtido por maceração sem a presença das cascas das uvas e, dessa forma, a extração dos polifenóis não é tão efetiva quanto na vinificação do vinho tinto, na qual o mosto é obtido por maceração envolvendo a presença das cascas das uvas, conforme descrito por DE TORRES et al. (2015).

Para o grupo dos vinhos tintos de mesa e suaves, os teores de polifenóis totais variaram de  $1497 \pm 13$  a  $2886 \pm 65$  mg AG L<sup>-1</sup>, e para o grupo dos vinhos tintos secos e tintos meio secos, os referidos teores variaram de  $1927 \pm 31$  a  $3724 \pm 161$  mg AG L<sup>-1</sup>.

## **5.2. DETERMINAÇÃO DE FERRO NAS AMOSTRAS DE VINHO POR F AAS**

As determinações dos teores de Fe em amostras de diferentes tipos de vinho foram realizadas pelo procedimento de análise direta por F AAS. Na Figura 8 é apresentada a curva analítica obtida pelo método de calibração externa empregando-se o procedimento de calibração de ajuste de matriz. A resolução da ANVISA (2003) estipula que o coeficiente de correlação linear (r) de uma curva analítica deve ser  $\geq 0,98$ , e pelo método de calibração empregado para a realização das determinações de Fe, foi possível a obtenção de uma curva com  $r > 0,999$  para a faixa de concentrações considerada (0,50 a 8,00 mg L<sup>-1</sup> de Fe).



**Figura 8.** Curva analítica obtida pelo método de ajuste de matriz para a determinação de Fe em amostras de vinho por F AAS.

Algumas figuras de mérito determinadas para o método analítico empregado na determinação de Fe em amostras de diferentes tipos de vinho por F AAS, são sendo apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 6.** Figuras de mérito obtidas para a determinação de Fe em amostras de vinho analisadas de forma direta por F AAS, empregando-se o procedimento de calibração de ajuste de matriz.

Figuras de mérito	Resultados
Equação da curva de regressão linear	$A = 0,06114C_{Fe} + 0,02174^*$
Coeficiente de correlação (r)	0,9996
LOD (mg L <sup>-1</sup> )	0,037
LOQ (mg L <sup>-1</sup> )	0,123
Sensibilidade (L mg <sup>-1</sup> )	0,06114

\* A = absorvância;  $C_{Fe}$  = concentração de ferro ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Com relação às figuras de mérito do método analítico empregado neste trabalho para a determinação de Fe por F AAS utilizando-se análise direta, foram obtidos valores de LOD e LOQ iguais a  $0,037 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,123 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente, os quais foram suficientemente baixos para possibilitar a determinação de Fe por F AAS nas amostras de vinho analisadas. Os valores dos teores de Fe determinados para as amostras de vinho analisadas são apresentados na Tabela 7.

CATARINO et al. (2003) analisaram os teores de Cu e Fe em vinhos e aguardentes por análise direta utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama e , obtiveram valores de LOD e LOQ para Fe em vinho iguais a  $0,21 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,51 \text{ mg L}^{-1}$  , respectivamente. ROBSON (2009) avaliou a aplicação de processos de extração de alguns metais, dentre eles, o Fe, em amostras de vinho, empregando-se o procedimento de extração em fase sólida, utilizando carvão ativo e resina de troca iônica como adsorventes e a técnica de F AAS para a realização das determinações. Para Fe, os valores de LOD e LOQ obtidos foram iguais a  $0,040 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,132 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente, ou seja, valores próximos aos limites obtidos neste trabalho para a determinação do referido elemento.

**Tabela 7.** Teores de Fe determinados para amostras de diferentes tipos de vinho por F AAS, empregando-se análise direta e procedimento de calibração por ajuste de matriz.

Amostra	Tipo de Vinho	Tipo de Uva	Fe ( $\text{mg L}^{-1}$ )	RSD (%)
1	Branco	SB	$0,35 \pm 0,003$	0,84
2	Branco	SB	$0,62 \pm 0,003$	4,25
3	Branco	SB	<LQ	
4	Branco	SB	$1,08 + 0,01$	0,88

**Continuação Tabela 7.**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Fe (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>RSD (%)</b>
5	Branco	SB	0,77 ± 0,01	0,95
6	Branco	Mistura	1,30 ± 0,003	0,25
7	Branco	SB	1,11 ± 0,01	1,16
8	Branco	Mistura	1,19 ± 0,02	1,72
9	Branco	SB	0,86 ± 0,01	3,93
10	Tinto de Mesa	Mistura	1,97 ± 0,01	0,51
11	Tinto de Mesa	Mistura	3,06 ± 0,03	1,15
12	Tinto de Mesa	Mistura	2,93 ± 0,06	2,14
13	Tinto de Mesa	Mistura	1,08 ± 0,01	0,89
14	Tinto de Mesa	Mistura	1,73 ± 0,05	2,89
15	Tinto de Mesa	Mistura	1,97 ± 0,04	2,32
16	Tinto de Mesa	Mistura	1,78 ± 0,04	2,56
17	Tinto de Mesa	Mistura	1,96 ± 0,06	3,33
18	Tinto de Mesa	Mistura	4,75 ± 0,04	0,87
19	Tinto Suave	CS	1,70 ± 0,01	0,53
20	Tinto Suave	M	1,44 ± 0,01	0,66
21	Tinto Suave	CS	2,92 ± 0,01	0,49
22	Tinto Suave	CS	2,19 ± 0,03	1,42
23	Tinto Suave	M	3,21 ± 0,01	0,30
24	Tinto Suave	CS	2,01 ± 0,02	0,99
25	Tinto Suave	M	1,98 ± 0,02	0,88
26	Tinto Meio Seco	CS	0,40 ± 0,004	1,14

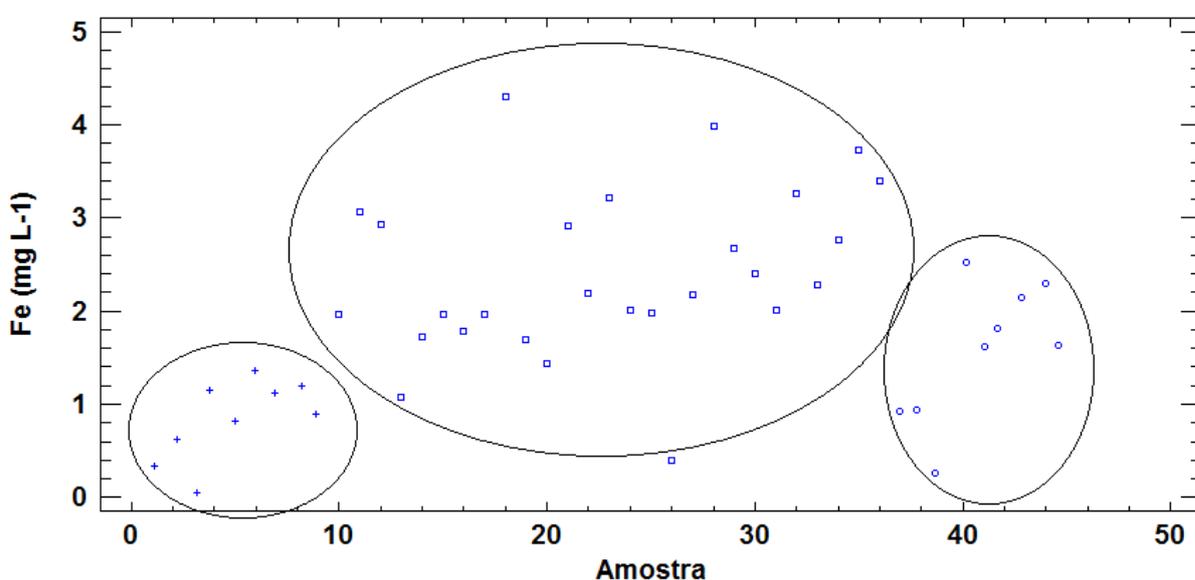
**Continuação Tabela 7.**

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>Fe (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>RSD (%)</b>
27	Tinto Meio Seco	CS	2,18 ± 0,07	3,33
28	Tinto Meio Seco	M	3,98 ± 0,04	1,11
29	Tinto Meio Seco	M	2,67 ± 0,02	0,88
30	Tinto Meio Seco	CS	2,40 ± 0,01	0,17
31	Tinto Meio Seco	M	2,01 ± 0,03	1,52
32	Tinto Meio Seco	M	3,26 ± 0,04	1,16
33	Tinto Meio Seco	M	2,28 ± 0,02	0,80
34	Tinto Meio Seco	CS	2,77 ± 0,01	0,50
35	Tinto Meio Seco	CS	3,73 ± 0,02	0,60
36	Tinto Meio Seco	CS	3,39 ± 0,01	0,38
37	Seco	CS	0,93 ± 0,04	4,43
38	Seco	M	0,88 ± 0,001	0,10
39	Seco	CS	0,19 ± 0,01	4,64
40	Seco	CS	2,48 ± 0,04	1,69
41	Seco	M	1,57 ± 0,01	0,84
42	Seco	CS	1,76 ± 0,04	2,24
43	Seco	CS	2,13 ± 0,003	0,14
44	Seco	CS	2,28 ± 0,03	1,21
45	Seco	M	1,58 ± 0,02	1,22

\*(média ± desvio padrão; n = 3) CS, Carbernet Sauvignon; S, Sauvignon Blanc ; M Merlot.

Conforme pode ser observado pela Tabela 7, os teores de Fe determinados variaram de  $0,19 \pm 0,01$  a  $4,75 \pm 0,04$  mg L<sup>-1</sup>, verificando-se a partir da obtenção destes resultados que as concentrações de Fe para as amostras de vinho analisadas estão dentro da faixa de concentrações apresentadas para Fe para este tipo amostra, conforme relatado na literatura (FERREIRA et al., 2007).

Como uma tentativa de se avaliar a possibilidade classificar os diferentes tipos de vinhos analisados (vinho branco, vinho tinto de mesa, vinho tinto suave, vinho tinto seco e vinho tinto meio seco) em função das similaridades dos teores de Fe apresentados, foi obtido o diagrama de dispersão de conglomerados apresentado na Figura 9.



**Figura 9.** Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados (vinho branco, tinto de mesa, tinto suave, tinto seco e tinto meio seco), em função das similaridades dos teores de Fe determinados para as referidas amostras. Legenda: + Vinhos brancos; □ Vinhos tintos de mesa, finos suaves e meio secos; ○ Vinhos tintos finos secos.

Analisando-se o diagrama de dispersão de conglomerados apresentado na Figura 9, foi possível observar uma tendência do estabelecimento de 3 grupos distintos de vinhos: grupo dos vinhos brancos, dos vinhos tintos de mesa, tintos finos suaves e vinhos tintos fino meio secos e dos vinhos finos tintos secos.

Para o grupo constituído pelos vinhos brancos, foram determinadas as menores concentrações de Fe, as quais variaram de  $0,40 \pm 0,004$  a  $1,30 \pm 0,02$  mg L<sup>-1</sup>. Com relação ao grupo dos vinhos tintos de mesa, tintos finos suaves e tintos finos meio secos, as referidas concentrações variaram de  $0,40 \pm 0,01$  a  $3,98 \pm 0,04$  mg L<sup>-1</sup>, neste grupo a concentração determinada para a amostra 26 pode ser considerada como um resultado discordante dos demais obtidos outros vinhos analisados para este grupo.

Para as nove amostras de vinhos finos tintos secos analisadas, os teores determinados para Fe variaram de  $0,19 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup> a  $2,48 \pm 0,04$  mg L<sup>-1</sup>, conforme apresentado na Tabela 7, indicando que para este grupo foram obtidos os menores teores do referido elemento em relação aos teores determinados para o outro grupo de vinho tinto.

A partir da obtenção dos resultados para as determinações dos teores de Fe contidos nas amostras de vinho analisadas, pode-se observar que o grupo dos vinhos tintos secos, apresentou, em geral, as menores concentrações de Fe.

Com relação à exatidão dos resultados obtidos para as determinações de Fe por F AAS nas amostras de vinho analisadas, a mesma foi avaliada mediante a realização de experimentos de adição e recuperação, cujos resultados estão são apresentados na Tabela 8.

As adições de Fe foram realizadas em três concentrações diferentes em três das amostras de vinho analisadas, para as quais foram determinados teores de Fe iguais a  $1,19 \pm 0,03$ ,  $3,73 \pm 0,02$  e  $4,75 \pm 0,06$  mg L<sup>-1</sup>. A partir das recuperações obtidas não foram observadas interferências causadas por efeito de matriz, considerando-se que as recuperações para Fe variaram de 99 a 106%. Recuperações menores do que 10% foram consideradas como estando associadas a resultados obtidos sem o efeito de interferências.

**Tabela 8.** Recuperações de Fe obtidas pela análise direta de diferentes tipos de vinho (vinho branco, tinto de mesa e tinto meio seco) por F AAS empregando-se o procedimento de calibração de ajuste de matriz (média  $\pm$  desvio padrão; n = 3).

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de vinho</b>	<b>Fe determinado (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Fe adicionado (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Fe obtido (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
8	Branco	1,19 $\pm$ 0,03	0,5	1,71 $\pm$ 0,04	99
8	Branco	1,19 $\pm$ 0,03	1,0	2,26 $\pm$ 0,04	103
8	Branco	1,19 $\pm$ 0,03	2,0	3,37 $\pm$ 0,17	106
18	Tinto de Mesa	4,75 $\pm$ 0,06	0,5	5,24 $\pm$ 0,02	100
18	Tinto de Mesa	4,75 $\pm$ 0,06	1,0	5,79 $\pm$ 0,04	101
18	Tinto de Mesa	4,75 $\pm$ 0,06	2,0	6,81 $\pm$ 0,05	101
35	Tinto Meio Seco	3,73 $\pm$ 0,02	0,5	4,29 $\pm$ 0,06	101
35	Tinto Meio Seco	3,73 $\pm$ 0,02	1,0	4,87 $\pm$ 0,07	103
35	Tinto Meio Seco	3,73 $\pm$ 0,02	2,0	5,82 $\pm$ 0,09	102

### 5.3. VALORES DE pH E TEOR ÁLCOOLICO

Os valores de pH determinados para as amostras de vinhos analisadas são apresentados na Tabela 9. Os valores de porcentagem de álcool foram obtidos a partir da informação descrita nos rótulos das garrafas das amostras de vinhos empregadas para a realização das análises, e são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Valores de pH e de grau alcoólico dos diferentes tipos de amostras de vinho analisadas. CS, Carbernet Sauvignon; S, Sauvignon Blanc ; M Merlot.

Amostra	Tipo de Vinho	Tipo de Uva	pH	Álcool, %
1	Branco	SB	3,53	10,1
2	Branco	SB	3,54	11,5
3	Branco	SB	3,63	11,5
4	Branco	SB	3,37	11,0
5	Branco	SB	3,03	12,5
6	Branco	Mistura	3,08	12,0
7	Branco	SB	3,34	12,5
8	Branco	Mistura	3,19	13,0
9	Branco	SB	3,09	13,0
10	Tinto de Mesa	Mistura	3,36	10,0
11	Tinto de Mesa	Mistura	3,39	10,5
12	Tinto de Mesa	Mistura	3,26	10,0
13	Tinto de Mesa	Mistura	3,17	10,5
14	Tinto de Mesa	Mistura	3,24	10,0
15	Tinto de Mesa	Mistura	3,19	10,5
16	Tinto de Mesa	Mistura	3,25	10,0
17	Tinto de Mesa	Mistura	3,49	9,50
18	Tinto de Mesa	Mistura	3,48	12,0
19	Tinto Suave	CS	3,69	12,0
20	Tinto Suave	M	3,52	12,0
21	Tinto Suave	CS	3,75	12,5

**Continuação Tabela 9.**

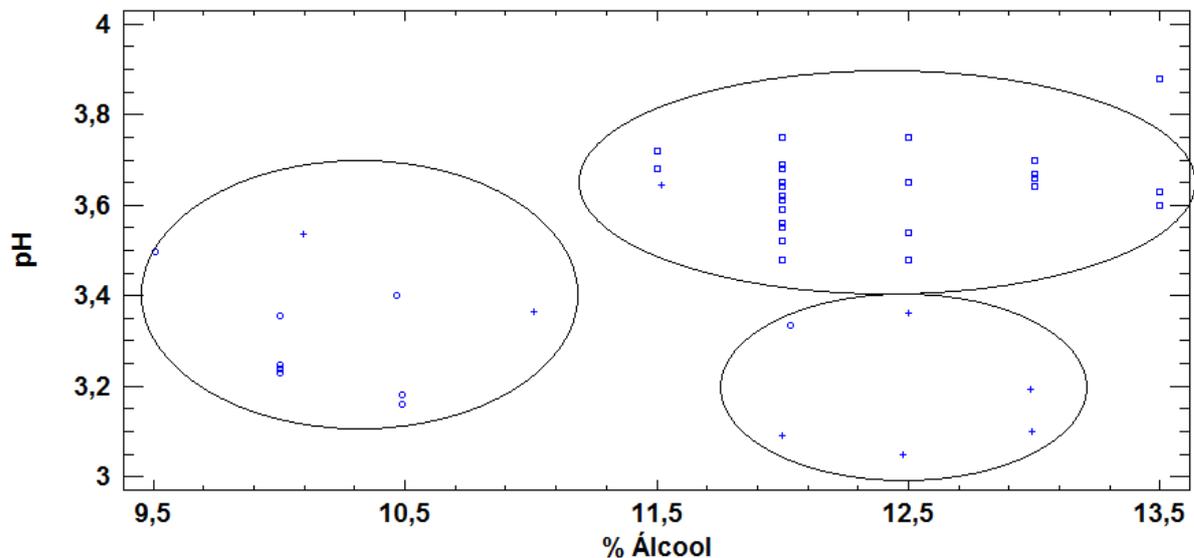
<b>Amostra</b>	<b>Tipo de Vinho</b>	<b>Tipo de Uva</b>	<b>pH</b>	<b>Álcool, %</b>
22	Tinto Suave	CS	3,56	12,0
23	Tinto Suave	M	3,65	12,5
24	Tinto Suave	CS	3,64	12,0
25	Tinto Suave	M	3,61	12,0
26	Tinto Meio Seco	CS	3,75	12,0
27	Tinto Meio Seco	CS	3,72	11,5
28	Tinto Meio Seco	M	3,33	12,0
29	Tinto Meio Seco	M	3,55	12,0
30	Tinto Meio Seco	CS	3,54	12,5
31	Tinto Meio Seco	M	3,68	11,5
32	Tinto Meio Seco	M	3,55	12,0
33	Tinto Meio Seco	M	3,88	13,5
34	Tinto Meio Seco	CS	3,63	13,5
35	Tinto Meio Seco	CS	3,48	12,5
36	Tinto Meio Seco	CS	3,62	12,0
37	Seco	CS	3,70	13,0
38	Seco	M	3,65	12,0
39	Seco	CS	3,59	12,0
40	Seco	CS	3,68	12,0
41	Seco	M	3,65	12,0
42	Seco	CS	3,60	13,5
43	Seco	CS	3,67	13,0

Continuação Tabela 9.

Amostra	Tipo de Vinho	Tipo de Uva	pH	Álcool, %
44	Seco	CS	3,64	13,0
45	Seco	M	3,66	13,0

Conforme pode ser observado pela Tabela 9, os valores de pH determinados variaram de 3,03 a 3,88, verificando-se a partir da obtenção desses resultados que a concentração de íons hidrônio para amostras de vinho analisadas estão dentro da faixa de pH apresentadas para este tipo de amostra, conforme relatado na literatura (MAZON, 2013). Com relação aos teores de álcool apresentados, pode-se observar que estão de acordo com a recomendação de BRASIL (1988), a qual indica que para vinhos de mesa e vinhos finos, o teor alcóolico deve variar de 8,6 a 14% (v v<sup>-1</sup>).

Para se avaliar a existência ou não de uma relação entre as variáveis pH e teor alcóolico, foi obtido um diagrama de dispersão de conglomerados (Figura 10).



**Figura 10.** Diagrama de dispersão de conglomerados obtido para os diferentes tipos de vinho analisados (vinho branco, tinto de mesa, tinto suave, tinto seco e tinto meio seco), em função das similaridades de pH e teor Álcool (%). Legenda: O Vinhos tintos de mesa; + Vinhos brancos finos; □ Vinhos tintos finos.

Analisando-se o diagrama de dispersão de conglomerados apresentado na Figura 10, foi possível observar uma tendência do estabelecimento de 3 grupos distintos: grupo dos vinhos tintos de mesa, dos vinhos finos brancos e dos vinhos tintos finos. FOGAÇA, DAUDT e DORNELES (2007) observaram que vinhos que tem um pH mais elevado são produzidos a partir de uvas com altos teores relativos de potássio. A relação observada no estabelecimento dos grupos tintos de mesa e dos tintos finos pode ser explicada principalmente em termos da concentração de ácido tartárico, que é responsável pela acidez nos vinhos, e em presença de teores mais altos de etanol a precipitação do bitartarato de potássio é favorecida devido a diminuição da polaridade do meio o que determina a elevação do pH de vinhos com teores alcoólicos mais altos (RIZZON, LUIZ A.; ZANUZ; MIELE, 1998)

#### **5.4. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS EMPREGANDO ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP)**

A análise exploratória de dados empregando a análise de componentes principais (ACP) consiste em representar as coordenadas das amostras analisadas em outro sistema de eixos cartesianos. As coordenadas das variáveis denominadas concentração de Fe, concentração de Polifenóis Totais, pH e concentração de Álcool foram representadas em um outro sistema de eixos cartesianos mais apropriado para a análise dos dados. Essas quatro variáveis originais geraram mediante realização de suas combinações lineares, quatro componentes principais. Essas componentes são obtidas em ordem decrescente de máxima variância. A componente principal 1 com variância acumulada de 50,15%, contém uma variância menor que a componente principal 2 (76,25%), que por sua vez apresenta uma menor variância que a componentes principal 3 (92,00%) e, assim por diante, conforme apresentado na Tabela 10.

**Tabela 10.** Porcentagens de variância acumulada obtidas pela análise de componentes principais (ACP).

<b>Número da componente</b>	<b>% de Variância acumulada</b>
PC1	50,15
PC2	76,25
PC3	92,00
PC4	100,00

Para construção do diagrama de ACP foram consideradas as componentes com menores porcentagens de variância acumulada, componentes PC1 e PC2. As componentes principais PC1 e PC2 têm as seguintes equações respectivamente:

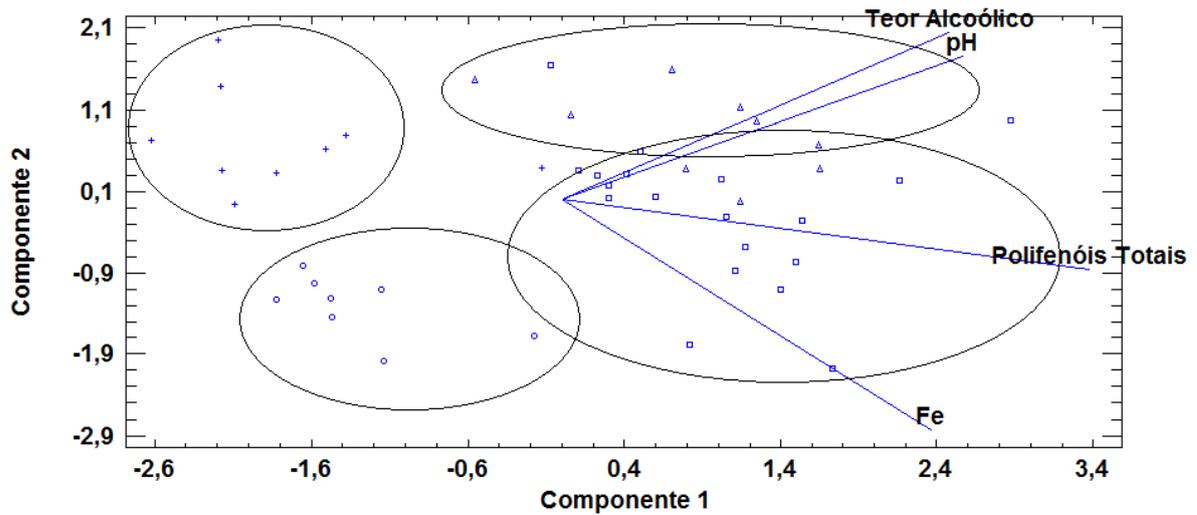
$$PC1 = 0,6191[PT] + 0,4343[Fe] + 0,4706[pH] + 0,4545 [TA]$$

$$PC2 = -0,2133[PT] -0,7070[Fe] + 0,4378 [pH] + 0,5127[TA]$$

\* PT = Polifenóis Totais , TA = Teor Alcoólico.

\*\* Os valores das variáveis na equação são normalizados pela subtração de suas médias dividindo pelo desvio padrão.

A partir da aplicação das equações PC1 e PC2 para os valores normalizados das variáveis foi obtido uma opção gráfica para visualização da dispersão dos resultados em duas dimensões. A Figura 11 mostra a separação obtida para as amostras (scores) e a influência das variáveis (loadings) sobre a separação.



**Figura 11.** Análise de componentes principais (ACP) para os tipos de vinho: Branco, Tinto de Mesa, Tinto Meio Seco e Tinto Seco. Legenda: + Vinhos brancos finos; O Vinhos tintos de mesa; □ Vinhos tintos finos suaves e meio secos; Δ Vinhos tintos finos secos.

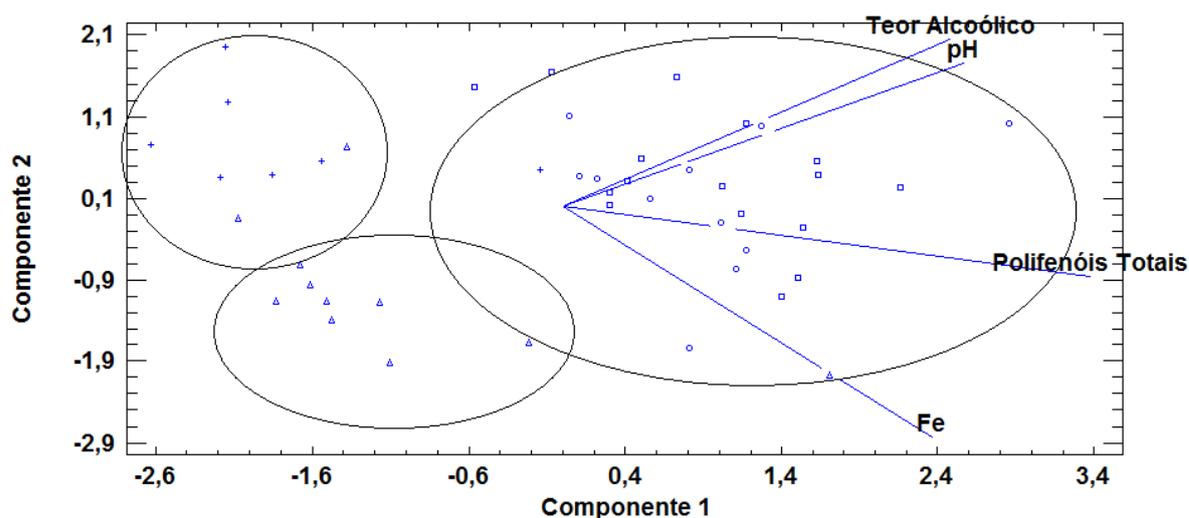
Pela análise dos scores apresentados na Figura 11, nota-se uma tendência da formação de quatro grupos distintos: Grupo dos vinhos brancos, dos vinhos tintos de mesa, dos vinhos tintos suaves e meio secos e dos tintos secos.

A influência das variáveis (loadings) para os grupos dos vinhos brancos e dos vinhos tintos suaves e meio secos indicam a existência de uma tendência de que vinhos com maiores teores de Fe tenham um teor de Polifenóis Totais relativamente mais altos, isso mostra a existência de uma relação direta que possivelmente é justificada em função da formação de complexos entre o Fe e os compostos fenólicos (HIDER; LIU; KHODR, 2001).

É observado também que entre as medidas para as amostras dos grupos dos vinhos tintos de Mesa e dos Vinhos Tintos Secos a relação estabelecida entre Fe e Polifenóis Totais é inversa, ou seja, quanto mais compostos Fenólicos menores o teor de Fe nessas amostras o que está de acordo com os trabalhos de ESPARZA et al. (2004) e BIMPILAS et al. (2015) que justificam esse fato ocorrer possivelmente por metais participarem de reações de condensação com taninos e antocianinas.

Neste trabalho foi observada a existência de uma relação direta bem como também a relação inversa entre Fe e compostos fenólicos.

Outro fato que se pode se observar a partir das variáveis (loadings) é a separação ocorrida entre os vinhos tintos de mesa e os vinhos tintos finos, de acordo com o pH e teor alcoólico.



**Figura 12.** Análise de componentes principais (ACP) para os diferentes tipos de uva. Legenda: + Sauvignon Blanc, Δ Mistura, O Merlot e □ Cabernet Sauvignon.

Em conformidade com os scores apresentados na Figura 12 foram estabelecidos três diferentes grupos em relação ao tipo de uva. O grupo da uva Sauvignon Blanc que tem valores de Fe e Polifenóis Totais relativamente baixos devido a este tipo de uva estar associada aos processos de vinificação do vinho branco fino, o qual não é utilizado às cascas das uvas, tornando a extração de compostos fenólicos ineficiente (DE TORRES et al., 2015). O grupo formado por amostras de vinhos que tem sua fabricação a partir de uma mistura de diferentes tipos de uvas da espécie *Vitis labruscas* são constituídos pelos vinhos de mesa que sofrem separação de acordo com as variáveis (loadings) pH e porcentagem Álcool.

O grupo que é constituído pelas variedades Cabernet Sauvignon e Merlot sofre separação de acordo com as variáveis (loadings) que são responsáveis pela separação dos vinhos finos. As variáveis estudadas neste trabalho não foram

suficientes para diferenciar os vinhos finos de acordo com os tipos de uva Cabernet Sauvignon e Merlot.

## **6. CONCLUSÕES**

Os valores de teores de Fe, Polifenóis Totais e de pH determinados para as 45 amostras de vinho analisadas, apresentaram-se concordantes com as respectivas faixas de valores reportadas na literatura para amostras de vinho.

A partir das concentrações determinadas de Fe e Polifenóis Totais para as diferentes amostras analisadas, observou-se que para os vinhos brancos e tintos finos secos foi obtida uma relação direta entre as referidas concentrações, e que para os vinhos de mesa e vinhos finos suaves e meio secos, foi obtida uma relação inversa.

Também foi possível observar uma diferenciação entre os vinhos do tipo de uva Sauvignon Blanc dos demais vinhos de outros tipos de uva. No entanto, não foi possível a observação de qualquer diferenciação entre os vinhos produzidos a partir das uvas Cabernet Sauvignon e Merlot, a partir da análise das relações entre as concentrações de Fe e Polifenóis Totais, teor alcoólico e pH.

As variáveis pH e teor alcoólico foram responsáveis pela diferenciação entre os vinhos de mesa e os vinhos finos, indicando que no caso dos vinhos finos, a concentração de compostos fenólicos observada está associada a um maior teor alcoólico.

## 7. REFERÊNCIAS

ACETO, M.; ABOLLINO, O.; BRUZZONITI, M. C.; MENTASTI, E.; SARZANIN, C.; MALANDRINO, M. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, n. 2, p. 126-133, 2002.

ÁLVAREZ, M.; MORENO, I. M.; JOS, Á.; CAMEÁN, A. M.; GUSTAVO GONZÁLEZ, A. Differentiation of 'two Andalusian DO 'fino' wines according to their metal content from ICP-OES by using supervised pattern recognition methods. **Microchemical Journal**, v. 87, n. 1, p. 72-76, 2007.

ÁLVAREZ, M.; MORENO, I. M.; PICHARDO, S.; CAMEÁN, A. M.; GUSTAVO GONZÁLEZ, A. Mineral profile of "fino" wines using inductively coupled plasma optical emission spectrometry methods. **Food Chemistry**, v. 135, n. 1, p. 309-313, 2012.

ANDERSON, D. W.; GUEFFROY, D. E.; WEBB, A. D.; KEPNER, R. E. Identification of acetic acid as an acylating agent of anthocyanin pigments in grapes. **Phytochemistry**, v. 9, n. 7, p. 1579-8, 1970.

ANDJELKOVIC, M.; VAN CAMP, J.; DE MEULENAER, B.; DEPAEMELAERE, G.; SOCACIU, C.; VERLOO, M.; VERHE, R. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 23-31, 2006.

ANDRADE, F. P. D. **Equilíbrio de complexação**. Universidade Federal de São João Del Rei - Campus Centro Oeste Dona Lindu (CCO/UFSJ) 2010.

ANVISA; SANITÁRIA, A. N. D. V. **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.**: D.O.U- Diário Oficial da União; Pode executivo, de 02 de junho de 2003. "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; , 2003.

ATHES, V.; LILLO, M. P. Y.; BERNARD, C.; PEREZ-CORREA, R.; SOUCHON, I. Comparison of experimental methods for measuring infinite dilution volatilities of aroma compounds in water/ethanol mixtures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 2021-2027, 2004.

AZCARATE, S. M.; MARTINEZ, L. D.; SAVIO, M.; CAMIÑA, J. M.; GIL, R. A. Classification of monovarietal Argentinean white wines by their elemental profile. **Food Control**, v. 57, n., p. 268-274, 2015.

BAI, Y.; SONG, F. R.; CHEN, M. L.; XING, J. P.; LIU, Z. Q.; LIU, S. Y. Characterization of the rutin-metal complex by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1147-1151, 2004.

BARBA, L. M. **Curso de vinho: Vinhos da Espanha**. Brasil: Folio, 2007

BARNABÉ, D. **Produção de vinho de uvas dos cultivares niágara rosada e bordô: análises físico-químicas, sensorial e recuperação de etanol a partir do bagaço**. (Doutorado). Agronomia, Uneso, 2006.

BENÍTEZ, P.; CASTRO, R.; ANTONIO SANCHEZ, P. J.; BARROSO, C. G. Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning. **Food Research International**, v. 35, n. 8, p. 785-791, 2002.

BIMPILAS, A.; TSIMOGIANNIS, D.; BALTA-BROUMA, K.; LYMPEROPOULOU, T.; OREOPOULOU, V. Evolution of phenolic compounds and metal content of wine during alcoholic fermentation and storage. **Food Chemistry**, v. 178, n., p. 164-171, 2015.

BOSCHETTI, W. **Estratégias analíticas para determinação sequencial de metais em vinhos por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua por chama** (Mestrado). Departamento de Química, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre, 2012. 77 p.

BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, p. 67-87, 2001.

BRASIL. **Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Complementação de padrões de identidade e qualidade para cerveja, vinho, vinho de frutas, fermentado de cana, saquê, filtrado doce, hidromel, jeropiga, mistela, sidra, vinagre**. : 1974, 109p p.

BRASIL. **Receita Federal Lei nº 7.678, de 08 de novembro de 1988** 1988.

CASTILHOS, M. B. M. D. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VINHOS TINTOS A PARTIR DE UVAS CULTIVADAS NO NOROESTE PAULISTA** (Mestrado). Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Unesp, 2012.

CATARINO, S.; PINTO, D.; CURVELO-GARCIA, A. S. Validação e Comparação de Métodos de Análise em Espectrofotometria de Absorção Atômica com Chama Para Doseamento de Cobre e Ferro em Vinhos e Aguardentes. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 18, n., p. 65-76, 2003.

CATARINO, S.; CURVELO-GARCIA, A. S.; SOUSA, R. B. D. Revisão: elementos contaminantes nos vinhos. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 23, n., p. 3-19, 2008.

DE ORDUNA, R. M. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1844-1855, 2010.

DE TORRES, C.; SCHUMACHER, R.; ALAÑÓN, M. E.; PÉREZ-COELLO, M. S.; DÍAZ-MAROTO, M. C. Freeze-dried grape skins by-products to enhance the quality of white wines from neutral grape varieties. **Food Research International**, v. 69, n., p. 97-105, 2015.

ERNST, W. H. O. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. **Applied Geochemistry**, v. 11, n. 1-2, p. 163-167, 1996.

ESCUADERO, L. B.; FUSARI, C. M.; ALTAMIRANO, J. C.; CAMARGO, A. B.; WUILLOUD, R. G. Stability of Iron-Quercetin Complexes in Synthetic Wine under In Vitro Digestion Conditions. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 10, p. C1933-C1938, 2014.

ESPARZA, I.; SALINAS, I.; CABALLERO, I.; SANTAMARIA, C.; CALVO, I.; GARCIA-MINA, J. M.; FERNANDEZ, J. M. Evolution of metal and polyphenol content over a 1-year period of vinification: sample fractionation and correlation between metals and anthocyanins. **Analytica Chimica Acta**, v. 524, n. 1-2, p. 215-224, 2004.

EUFIC. Ferro – a carência mais comum. **FOOD TODAY**, v., n., p., 1999.

FANG, F.; LI, J.-M.; ZHANG, P.; TANG, K.; WANG, W.; PAN, Q.-H.; HUANG, W.-D. Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. **Food Research International**, v. 41, n. 1, p. 53-60, 2008.

FERREIRA; FERREIRA, H.; DE JESUS, R.; SANTOS, J.; BRANDAO, G.; SOUZA, A. Development of method for the speciation of inorganic iron in wine samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 602, n. 1, p. 89-93, 2007.

FERREIRA, S. L. C.; SOUZA, A. S.; BRANDAO, G. C.; FERREIRA, H. S.; DOS SANTOS, W. N. L.; PIMENTEL, M. F.; VALE, M. G. R. Direct determination of iron and manganese in wine using the reference element technique and fast sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 699-702, 2008.

FOGAÇA, A. D. O.; DAUDT, C. E.; DORNELES, F. Potássio em uvas II: análise peculiar e sua correlação com o teor de potássio em uvas viníferas. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 27, n., p. 597-601, 2007.

FONTOIN, H.; SAUCIER, C.; TEISSEDE, P. L.; GLORIES, Y. Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. **Food Quality and Preference**, v. 19, n. 3, p. 286-291, 2008.

GOMES DA COSTA, A. M.; NOGAMI, E. M.; VISENTAINER, J. V.; DE SOUZA, N. E.; GARCIA, E. E. Fractionation of Aluminum in Commercial Green and Roasted Yerba Mate Samples (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) and in Their Infusions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 196-200, 2009.

GRINDLAY, G.; MORA, J.; GRAS, L.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 691, n. 1-2, p. 18-32, 2011.

HE, F.; LIANG, N. N.; MU, L.; PAN, Q. H.; WANG, J.; REEVES, M. J.; DUAN, C. Q. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1571-1601, 2012.

HIDER, R. C.; LIU, Z. D.; KHODR, H. H. Metal chelation of polyphenols. In: Lester, P. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, 2001. v. Volume 335, p.190-203.

HOUAISS, I.. **Minidicionário Houaiss da língua portuguesa**: Editora Objetiva 2004, v.2

IGNAT, I.; VOLFF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

JONES, G. V.; WHITE, M. A.; COOPER, O. R.; STORCHMANN, K. Climate change and global wine quality. **Climatic Change**, v. 73, n. 3, p. 319-343, 2005.

KAAL, J.; NIEROP, K. G. J.; VERSTRATEN, J. M. Retention of tannic acid and condensed tannin by Fe-oxide-coated quartz sand. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 287, n. 1, p. 72-79, 2005.

KALLITHRAKA, S.; BAKKER, J.; CLIFFORD, M. N. Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. **Journal of Sensory Studies**, v. 12, n. 1, p. 25-37, 1997.

KENNEDY, J. A. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. **Ciencia e investigación agraria**, v. 35, n., p. 107-120, 2008.

KOSIR, I. J.; KOCJANCIC, M.; OGRINC, N.; KIDRIC, J. Use of SNIF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of chaptalisation and geographical origin of wines (the example of Slovenian wines). **Analytica Chimica Acta**, v. 429, n. 2, p. 195-206, 2001.

LU, M.; YUAN, B.; ZENG, M.; CHEN, J. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 530-536, 2011.

MAZON, E. M. D. A. **Vinhos brasileiros: teores totais e bioacessibilidade de As, Cd, Cu e Pb, teores de polifenóis totais e avaliação da rotulagem**. (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Unicamp, 2013.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food-products. **Food Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 207-225, 1987.

MORAES, V. D.; LOCATELLI, C. Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. **Evidencia**, v. 10, n., p. 57-68, 2010.

NAIR, V. D.; PANNEERSELVAM, R.; GOPI, R. Studies on methanolic extract of Rauvolfia species from Southern Western Ghats of India – In vitro antioxidant properties, characterisation of nutrients and phytochemicals. **Industrial Crops and Products**, v. 39, n., p. 17-25, 2012.

NEIDI, G. P.; LUÍSA, H. R. H. Vinho e Saúde: uma revisão. **Infarma**, v. 16, n., p. 1-12, 2004.

NOMURA, C. S.; SILVA, C. S. D.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, v. 31, n., p. 104-113, 2008.

OIV. **State of the vitiviniculture world market: 2015**, Acessado em 25/06/2015 " [www.oiv.int/oiv/files/EN\\_Press\\_release\\_OIV\\_2010\\_2011\\_2014.pdf](http://www.oiv.int/oiv/files/EN_Press_release_OIV_2010_2011_2014.pdf) " p.

ORTÍN, A. B. B. **Técnicas enológicas para la obtención de vinos de monastrell de alto contenido polifenólico**. Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología Universidad de Murcia, 2005.

PEÑA, R. C.; DE SOUZA, A. P. R.; BERTOTTI, M. Determination of Fe(III) in wine samples using a ruthenium oxide hexacyanoferrate modified microelectrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 731, n., p. 49-52, 2014.

PÉREZ-TORTOSA, V.; LÓPEZ-ORENES, A.; MARTÍNEZ-PÉREZ, A.; FERRER, M. A.; CALDERÓN, A. A. Antioxidant activity and rosmarinic acid changes in salicylic

acid-treated *Thymus membranaceus* shoots. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 362-369, 2012.

PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 53, n. 2, p. 75-100, 2009.

PINEAU, B.; TROUGHT, M. C. T.; STRONGE, K.; BERESFORD, M. K.; WOHLERS, M. W.; JAEGER, S. R. Influence of fruit ripeness and juice chaptalisation on the sensory properties and degree of typicality expressed by Sauvignon Blanc wines from Marlborough, New Zealand. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 17, n. 3, p. 358-367, 2011.

PORGALI, E.; BÜYÜKTUNCEL, 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, n. 1, p. 145-154, 2012.

REBELO, M. J.; REGO, R.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA, M. C. Comparative study of the antioxidant capacity and polyphenol content of Douro wines by chemical and electrochemical methods. **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 566-573, 2013.

REIS, L. I. P. D. **Análise Quimiométrica dos Parâmetros que Influenciam a Cor nos Vinhos Tintos**: Universidade de Aveiro  
2007.

REVILLA, E.; GARCÍA-BENEYTEZ, E.; CABELLO, F.; MARTÍN-ORTEGA, G.; RYAN, J.-M. A. Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. **Journal of Chromatography A**, v. 915, n. 1-2, p. 53-60, 2001.

REYNOLDS, A.; CLIFF, M.; GIRARD, B.; KOPP, T. G. Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 3, p. 235-240, 2001.

RIGANAKOS, K. A.; VELTSISTAS, P. G. Comparative spectrophotometric determination of the total iron content in various white and red Greek wines. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 637-643, 2003.

RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MIELE, A. EVOLUÇÃO DA ACIDEZ DURANTE A VINIFICAÇÃO DE UVAS TINTAS DE TRÊS RÉGIÕES VITÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 18, n., p. 179-183, 1998.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Correção do mosto da uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha. **Ciência Rural**, v. 35, n., p. 450-454, 2005.

ROBSON; DE, M.; JESUS. **Desenvolvimento de método analítico para a determinação de cádmio em vinho e estudo preliminar de especiação de cádmio, ferro, manganês, zinco e cobre em vinho.**

. 2009.

RODRIGUES, A. J.; RAIMBOURG, T.; GONZALEZ, R.; MORALES, P. Environmental factors influencing the efficacy of different yeast strains for alcohol level reduction in wine by respiration. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 65, n., p. 1038-1043, 2016.

ROSADO, A. R. D. S. **Evolução de Parâmetros Físicos, Químicos e Controlo Microbiológico em Vinhos Brancos e Tintos da Adega Cooperativa de Palmela.** (Mestrado). Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa, 2013.

SANTIN; BORDIGNON, L.; MORAES, G. Polifenóis totais e outras características físico-químicas de amostras de vinhos Merlot produzidos na região Meio-Oeste de Santa Catarina. **Evidencia**, v. 9, n., p. 43-49, 2010.

SARNI-MANCHADO, P.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 42-47, 1999.

SAUCIER, C. How do wine polyphenols evolve during wine ageing? **Cerevisia**, v. 35, n. 1, p. 11-15, 2010.

SCHMIDT, M. A.; GONZALEZ, J. M.; HALVORSON, J. J.; HAGERMAN, A. E. Metal mobilization in soil by two structurally defined polyphenols. **Chemosphere**, v. 90, n. 6, p. 1870-1877, 2013.

SEEGER, T. S.; ROSA, F. C.; BIZZI, C. A.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A. Feasibility of dispersive liquid-liquid microextraction for extraction and preconcentration of Cu and Fe in red and white wine and determination by flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 105, n. 0, p. 136-140, 2015.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R. E.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. D. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n., p. 351-355, 2007.

SOUZA, A. F. M. D.; CARVALHO-FILHO, R. J.; CHEBLI, J. F. Hemocromatose hereditária: relato de caso e revisão da literatura. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 38, n., p. 194-202, 2001.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. T., M. V. ;; PORTZ, R. L. S.-E., K. R. F. 4;; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

UNIÃO EUROPEIA, E. Commission Regulation No. 2676/90 of 17 September 1990. **Official Journal**, v. L272, n., p. 1-192, 1990.

VRČEK, I. V.; BOJIĆ, M.; ŽUNTAR, I.; MENDAŠ, G.; MEDIĆ-ŠARIĆ, M. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 354-361, 2011.