

ANTOCIANINAS EM UVAS DE VARIEDADES VINÍFERAS¹

WELLINGTON BRESSAN², MARCO ANTÔNIO A. CESAR³ e
LUIZ GONZAGA DO PRADO FILHO⁴

RESUMO - Estudou-se, neste trabalho, na vindima de 1979, a ocorrência das antocianinas em variedades de uvas tintas, Bonarda, Merlot, Barbera D'ASTI, Gamay-Beaujolais, Cabernet Franc, Pinot Noir e Canaiolo, cultivadas na região vitivinícola de Bento Gonçalves, RS. A separação das antocianinas foi estudada por cromatografia em camada delgada unidimensional, e as concentrações, expressas em malvidina-3 monoglicosídeo (mg/l). As variedades estudadas somente apresentaram antocianinas-3-monoglicosídeos, comprovando, portanto, pertencerem à espécie *Vitis vinifera*. Essa identificação é de grande valia para a detecção de fraudes em vinhos finos tintos. A variedade "Pinot Noir" apresentou maior concentração, 764,12 mg/l; e a Canaiolo, 501,49 mg/l, a de menor concentração. Houve, contudo, uma variação entre as variedades estudadas, o que indica a possibilidade de seleção de variedades pela intensidade de cor, para a elaboração de vinhos tintos.

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, uvas tintas, vinhos tintos.

ANTHOCYANINS FROM VINIFERA GRAPES VARIETIES

ABSTRACT - The occurrence of anthocyanins in varieties of red grapes, Bonarda, Merlot, Barbera D'Asti, Gamay-Beaujolais, Cabernet Franc, Pinot Noir and Canaiolo grown in Brazil, harvested in Bento Gonçalves, RS, Brazil, during the 1979's vintage, were studied. The separation was performed by thinlayer monodimensional chromatography. Results were expressed as malvidin-3-monoglucoside (mg/l). The varieties only presented anthocyanins-3-monoglucoside, which confirm its identification as *Vitis vinifera*. Knowledge of this, may help in the detection of wine adulteration. "Pinot Noir" presented higher level in Total Anthocyanin, 764,12 mg/l, and Canaiolo, 501,49 mg/l, lower. A variation on anthocyanins concentrations among varieties was observed, indicating that it is possible to select varieties by the color intensity for red wine elaboration.

Index terms: red grapes, red wine, *Vitis vinifera*.

INTRODUÇÃO

A cor é um dos atributos de importância na avaliação dos vinhos. Ela é devida à presença de pigmentos denominados antocianinas, que são compostos polifenólicos, e ocorrem na natureza sob a forma de heterosídeos, ou seja, ligados a açúcares (Harborne 1964). Quando ocorre apenas uma glicosidação, são denominados antocianinas monoglicosídeos; e com duas ligações com açúcares, antocianinas diglicosídeos.

A qualidade e o "bouquet" do vinho dependem muito da variedade de uva da qual é elaborado. Aquelas que produzem os vinhos finos são provenientes da espécie *Vitis vinifera*, que se caracteriza por possuir apenas antocianinas monoglicosídeos (Ribéreau-Gayon 1953, Ribéreau-Gayon et al. 1955, Rankine et al. 1958, Bergeret 1961, Somers 1966, Somaatmadja & Powers 1963, Puissant & Léon 1967, Feduchy 1972, Sakellariades & Luh 1974 e Wulf & Nagel 1978).

Os países produtores de vinhos têm desenvolvido métodos de controle para distinguir os vinhos elaborados com variedades viníferas dos elaborados de híbridos e americanas ou suas misturas. Essa diferenciação é baseada na identificação das antocianinas, com a finalidade de controlar a produção interna, exportação, importação, e detectar fraudes.

As antocianinas são constituintes de muita importância para o vinho, pois além de lhes dar o aspecto essencial, intervêm nas características gustativas e nas transformações durante o envelheci-

¹ Aceito para publicação em 10 de agosto de 1988. Parte da Tese de Mestrado apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Caixa Postal 9, CEP 13400 Piracicaba, SP.

² Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS), Caixa Postal 151, CEP 35700 Sete Lagoas, MG.

³ Eng. - Agr., Prof. - Assist., Dr., Escola Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz", USP, Caixa Postal 9, CEP 13400 Piracicaba, SP.

⁴ Eng. - Agr., Prof. - Adjunto, Escola Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz".

mento. A cor do vinho se transforma durante a maturação e envelhecimento, conferindo-lhe uma idéia de sua idade.

Também, o seu conhecimento pode levar à identificação da variedade e à avaliação da adstringência dos vinhos (Stasunas 1956, Rankine et al. 1958 e Boubals et al. 1968). Vinhos que se apresentam altamente coloridos, provenientes de variedades de uvas muito tintas, tendem a ser mais adstringentes que os vinhos normais (Puissant & Léon 1967 e Diaz et al. 1975 c).

Dada a ausência de dados sobre a ocorrência das antocianinas nas variedades de uvas viníferas cultivadas no Brasil e a importância decorrente do seu conhecimento, o presente trabalho visou o seu estudo em cultivares da região vitivinícola de Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas como material cultivares de uvas tintas, *Vitis vinifera*, vindima 1979, da região vitivinícola de Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul. As variedades foram: Bonarda, Merlot, Barbera D'Asti, Gamay-Beaujolais, Cabernet Franc, Canaiolo e Pinot Noir.

As amostragens foram efetuadas ao acaso, em vinhedos industriais, tomando-se cinco amostras de três cachos por variedade, totalizando quinze cachos, sendo lavados, secos, acondicionados em sacos de plástico, identificados, e armazenados a -20°C . Após o descongelamento, as bagas foram retiradas dos cachos, procedendo-se à obtenção do mosto, por esmagamento, do qual tomaram-se amostras para as análises de brix refratométrico, acidez total e obtenção dos extratos antociânicos.

A obtenção dos extratos e a separação cromatográfica foram efetuadas segundo Diaz et al. (1975 a, b, c) como descrito a seguir:

Preparo do extrato antociânico I

O preparo do extrato foi realizado tomando-se 25 ml do mosto clarificado e filtrado, precipitando-se as antocianinas pela adição de 10 ml de acetato de chumbo neutro a 10% e ajustando-se o pH a 8,0 - 8,5 com hidróxido de sódio.

O precipitado formado foi lavado com 10 ml de água destilada, por agitação com um bastão de vidro, por três vezes, seguindo-se lavagens com 10 ml de metanol e 10 ml de acetona, centrifugando-se a 3.000 rpm por dez minutos, após cada lavagem; a seguir foi seco a vácuo (37°C), e os pigmentos, extraídos com a mistura metanol a 50% e solução de ácido clorídrico 4 N, em sucessivas

extrações. A solução obtida foi centrifugada a 3.000 rpm por dez minutos, obtendo-se sobrenadante que, concentrado a vácuo a 37°C , foi reduzido ao volume de 5 ml. A seguir, completou-se o volume a 10 ml com etanol a 96°C GL, obtendo-se assim o extrato para análise.

Preparo das placas para cromatografia

Como suporte, utilizou-se sílica-gel (tipo 60, Merck), misturando-se 35 g a 37 g de sílica em 75 ml a 80 ml de água, agitando-se até obter uma mistura homogênea, que foi aplicada sobre cinco placas de 20 cm x 20 cm. A espessura da camada utilizada foi de 0,50 mm.

As placas, a seguir, foram secas à temperatura ambiente por uma hora, e ativadas a 110°C , por trinta minutos, sendo, após, resfriadas e colocadas em dessecador, e utilizadas após 72 horas.

Separação cromatográfica das antocianinas monoglicosídeo

A separação efetuou-se aplicando-se 0,4 ml do extrato antociânico I, em faixas de 12 cm - 13 cm de comprimento e largura de 3 mm - 4 mm, sobre a placa de sílica-gel.

O solvente utilizado foi uma mistura de álcool amílico normal - ácido acético-água, na proporção 4:15:1, e o desenvolvimento foi por cinco horas.

Identificação dos antocianinas monoglicosídeo

Os pigmentos separados no desenvolvimento dos cromatogramas foram observados a luz ultravioleta (365 nm), verificando-se a formação de uma banda arroxeadada não fluorescente, relativa aos pigmentos 3-monoglicosídeos. Essa banda relativa aos pigmentos 3-monoglicosídeos não apresenta a fluorescência.

Obtenção do extrato das antocianinas monoglicosídeo

Realizada a identificação dos pigmentos, separou-se, com espátula, a zona correspondente aos monoglicosídeos, raspando-a.

Os pós obtidos são tratados com a mistura de etanol 99,5% e ácido clorídrico 2 N (90:10) durante três horas. O resíduo sólido é separado por filtração em Buchner. O filtrado é concentrado a vácuo até 5 ml, protegido da luz, completando-se o volume a 10 ml com etanol 96%.

Determinação da concentração das antocianinas monoglicosídeo

Toma-se 1 ml do extrato de monoglicosídeo, e completa-se o volume a 10 ml com ácido clorídrico 0,1 N (pH = 1,0), efetuando-se a leitura das absorbâncias a 520 nm, em espectrofotômetro Colemann Junior II, as quais foram utilizadas nos cálculos da concentração.

A determinação da concentração das antocianinas-3-monoglicosídeos (mg/l) foi realizada segundo Niketic-Aleksic & Hrazdina 1972.

Cálculo da concentração das antocianinas monoglicosídeos e totais

Com os dados obtidos da leitura da absorbância das amostras, efetuou-se a determinação quantitativa, as antocianinas monoglicosídeos, expressas em malvinina-3-monoglicosídeo, segundo Niketic-Aleksic & Hrazdina (1972).

$$\text{Concentração (g/l)} = \frac{\text{Absorbância} \times \text{P} \times \text{M} \times \text{f}}{\text{E}}$$

onde:

E = absorbância molar da malvidina-3-monoglicosídeo (28.000)

PM = peso molecular da malvidina-3-monoglicosídeo (529)

f = fator de diluição da amostra.

Na análise dos resultados obtidos, utilizou-se a análise da variância paramétrica, segundo esquema de experimento inteiramente casualizado segundo Pimentel-Gomes 1977.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seleção de variedades procedentes de diferentes espécies pode ser efetuada pela identificação das antocianinas (Ribéreau-Gayon 1953, Ribéreau-Gayon et al. 1955, Feduschy 1972 e Bergeret 1961).

Os dados contidos na Tabela 1 mostram os resultados obtidos para as antocianinas totais e 3-monoglicosídeo no mosto de uva. A análise da variância (Tabela 2) destes dados evidenciou uma significância entre as diferentes variedades, ao nível de 5% de probabilidade. Os mesmos resultados foram comprovados pelo teste de Tukey, como pode ser visto na Tabela 3, que apresenta a comparação das diferentes variedades quanto ao teor médio de antocianinas. A Fig. 1 dá uma indicação do teor médio de antocianinas-3-monoglicosídeos das diferentes variedades.

Dentro das condições do trabalho, a variedade que apresentou maior teor médio de antocianina total foi a "Pinot Noir", 764,12 mg/l; e a de menor concentração foi a "Canaiolo", 501,48 mg/l, como se observa na Tabela 3. Esses dados podem dar uma indicação da intensidade de coloração do vinho elaborado com estas variedades, quando observadas as mesmas condições de vinificação, como refere Puissant & Léon 1967 e Diaz et al. 1975 c.

A separação cromatográfica das antocianinas das diferentes variedades de uva e a avaliação da sua concentração, poderão ser utilizadas para a seleção clonal, visando o potencial de cor e a

TABELA 1. Resultados obtidos para brix, acidez total, antocianinas 3-monoglicosídeo, 3,5-diglicosídeo, e totais para as variedades viníferas.

Variedades	Local	Brix do mosto	Acidez total meq/de mosto	Concentração de antocianinas				Totais mg/de mosto
				3-monoglicosídeo*		3,5-diglicosídeo**		
				Absorbância	mg/de mosto	Absorbância	mg/de mosto	
Bonarda	S. Valentin	18,5	156	0,27572	520,9	-	-	520,9
		18,0	159	0,26201	495,0	-	-	495,0
		18,1	157	0,26360	498,0	-	-	498,0
		18,3	157	0,26440	499,5	-	-	499,5
		18,4	156	0,27084	511,7	-	-	511,7
Merlot	Linha Leopoldina	19,8	118	0,37572	709,8	-	-	709,8
		19,5	119	0,36552	690,6	-	-	690,6
		19,5	119	0,36653	692,5	-	-	692,5
		19,7	118	0,37469	707,9	-	-	707,9
		19,7	118	0,36051	681,1	-	-	681,1
Barbera D'Asti	S. Valentin	16,5	109	0,31247	590,3	-	-	590,3
		16,5	108	0,31876	602,2	-	-	602,2
		18,1	94	0,34486	651,5	-	-	651,5

TABELA 1. Continuação.

Variedades	Local	Brix do mosto	Acidez total meq/de mosto	Concentração de antocianinas				Totais mg/de mosto
				3-monoglicosídeo*		3,5-diglicosídeo**		
				Absorbância	mg/de mosto	Absorbância	mg/de mosto	
Gamay-Beaujolais	EMBRAPA	17,7	96	0,32239	609,1	-	-	609,1
		20,0	97	0,36653	692,5	-	-	692,5
		20,5	96	0,31785	600,5	-	-	600,5
		21,0	94	0,32698	617,8	-	-	617,8
		18,0	97	0,27084	511,7	-	-	511,7
		19,2	97	0,28400	536,6	-	-	536,6
		19,8	96	0,29243	552,5	-	-	552,5
Cabernet Franc	EMBRAPA	19,8	80	0,37059	700,2	-	-	700,2
		19,8	83	0,37572	709,8	-	-	709,8
		20,0	80	0,38616	729,6	-	-	729,6
		19,0	86	0,32514	614,3	-	-	614,3
		19,1	86	0,33442	631,8	-	-	631,8
Canaïolo	S. Valentin	15,0	114	0,25415	480,2	-	-	480,2
		16,8	110	0,27327	516,3	-	-	516,3
		15,0	120	0,26440	499,5	-	-	499,5
		17,0	98	0,27572	520,9	-	-	520,9
		16,5	109	0,25964	490,5	-	-	490,5
Pinot Noir	EMBRAPA	18,9	116	0,43180	815,8	-	-	815,8
		17,4	120	0,33348	630,0	-	-	630,0
		20,1	110	0,44010	831,5	-	-	831,5
		18,1	117	0,37670	711,8	-	-	711,8
		19,7	113	0,44010	831,5	-	-	831,5

* Expresso em malvidina-3-monoglicosídeo

** Não detectado.

TABELA 2. Resultados para análise de variância, em experimento inteiramente casualizado, Teste F.

Variedades	Antocianinas					
	3-monoglicosídeo		3,5-diglicosídeo		Totais	
	Teste F	C.V.	Teste F	C.V.	Teste F	C.V.
Viníferas.	23,45*	7,47	-	-	23,45*	7,47

C.V. = Coeficiente de variação.

* = Significância ao nível de 5% de probabilidade.

caracterização das variedades, como verificado por Stasunas 1956, Rankine et al. 1958 e Boubals et al. 1968.

As variedades estudadas apresentaram, na composição dos seus mostos, somente anocianinas 3-monoglicosídeos, indicando que elas pertencem à espécie *Vitis vinifera*, visto que esta característica lhe é específica (Ribéreau-Gayon 1953, Ribé-

reau-Gayon et al. 1955, Rankine et al. 1958, Bergeret 1961, Somaatmadja & Powers 1963, Somers 1966, Puissant & Léon 1967, Sakella, Riades & Luh 1974 e Wulf & Nagel (1978).

Dentre as variedades de uvas tintas cultivadas, muitas ainda não se apresentam bem caracterizadas, recebendo a mesma variedade diferentes denominações. A identificação das antocianinas das va-

TABELA 3. Comparação das médias de antocianinas 3-monoglicosídeo, 3,5-diglicosídeo e totais para as variedades viníferas, pelo Teste de Tukey.

Variedades	Antocianinas			s (m)
	3-monoglicosídeo (mg/l)	3,5-diglicosídeo (mg/l)	Totais (mg/l)	
Pinot Noir	764,12	-	764,12	40,40
Merlot	696,38	-	696,38	5,46
Cabernet Franc	677,14	-	677,14	22,81
Barbera	629,12	-	629,12	18,95
Gamay Beaujolais	563,82	-	563,82	19,86
Bonarda	505,02	-	505,02	4,89
Canaiolo	501,48	-	501,48	7,68

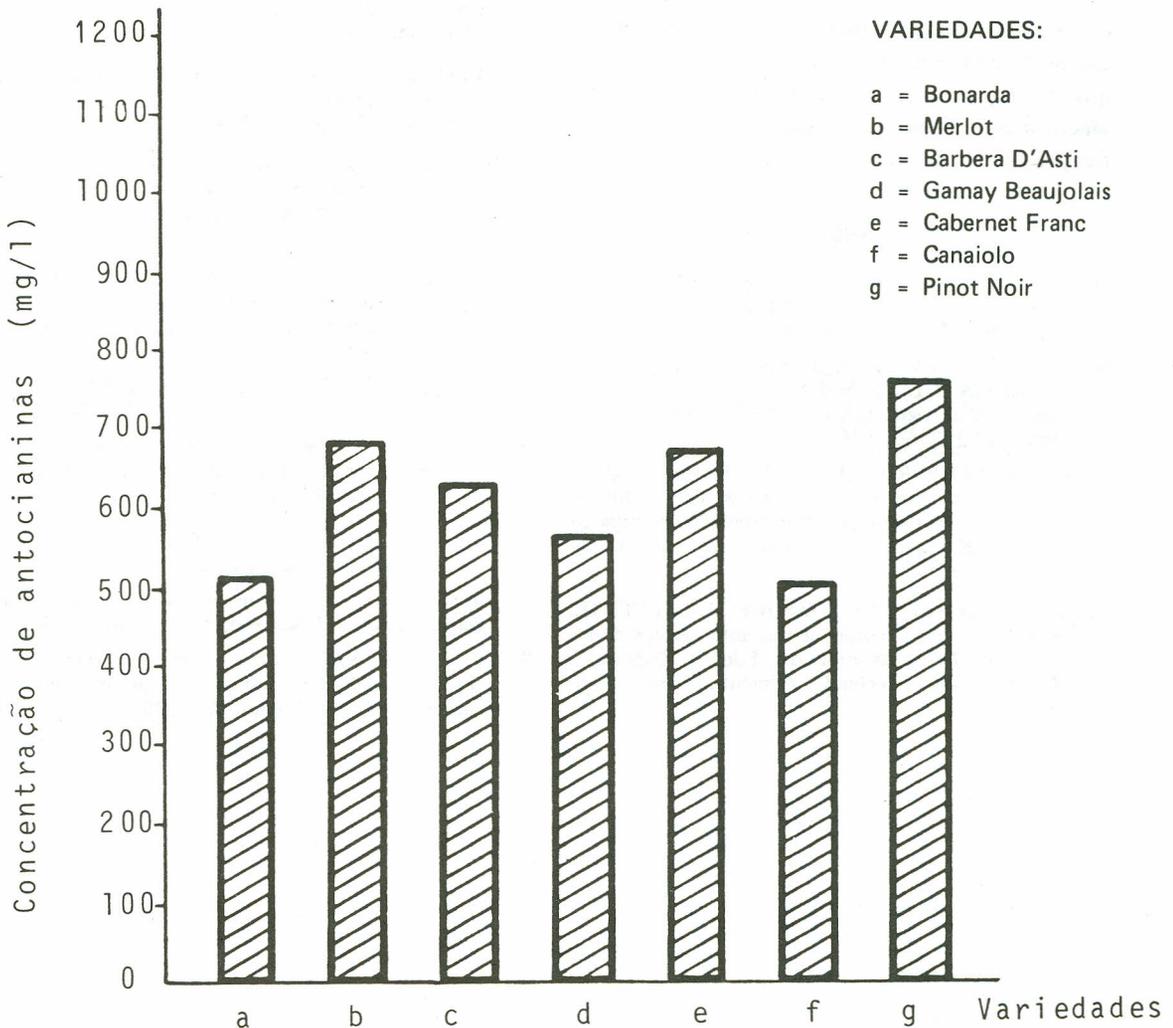


FIG. 1. Histograma das concentrações de antocianinas 3-monoglicosídeo para as variedades viníferas.

riedades de uva poderá constituir um meio para a sua caracterização ao nível de espécie (estudo, este, a ser desenvolvido posteriormente).

Os dados referentes a brix e acidez total, contidos na Tabela 1, indicam que as variedades se encontravam maduras.

CONCLUSÕES

1. As variedades Cabernet Franc, Merlot, Pinot Noir, Gamay-Beaujolais, Bonarda, Barbera e Canaiolo possuem somente antocianinas 3-monoglucosídeos, confirmando pertencerem à espécie *Vitis vinifera*.

2. O conhecimento da composição das variedades de uvas em antocianinas permite a detecção de fraudes em vinhos, de variedades viníferas, quando da mistura das mesmas com variedades americanas de híbridos. Também permite a classificação e identificação das variedades em espécie.

REFERÊNCIAS

- BERGERET, J. Sur la séparation des pigments anthocyaniques du vin par chromatographie circulaire de papier. *Bull. Soc. Chem. Fr.*, 121:344-7, 1961.
- BOUBALS, D.; TRAVEL, P.; BOURZEIX, M.; KOVAC, V.; GIOSANUT. Étude des différentes couleurs de baies chez la vigne (*Vitis vinifera*). *Annis. Technol. Agric.*, 17:257-60, 1968.
- DIAZ, L.S.; FERRERO, J.H.; GASQUE, F.; LAFUENTE, B. Detección de antocianinas diglicosidos en zumos de uva tintos por cromatografía en capa de silicagel. *R. Agroquim. Technol. Aliment.*, 15(2): 265-73, 1975a.
- DIAZ, L.S.; FERRERO, J.H.; GASQUE, F.; LAFUENTE, B. Estudio de los componentes antocianicos de los zumos de los cepas hídricos "Edo" y "Siñorito". *R. Agroquim. Technol. Aliment.*, 15(4):530-8, 1975b.
- DIAZ, L.S.; GASQUE, F.; LAFUENTE, B. Estudio de los componentes antocianicos de uvas de variedad tintas cultivadas en el levante español. *R. Agroquim. Technol. Aliment.*, 15(13):409-414, 1975c.
- FEDUCHY, E. Les antocyanes, nature, caractéristiques et dosage. *Bull. O.I.V.*, 495:423-33, 1972.
- HARBORNE, J.B. Plant phenols. XI. The structure of acylated anthocyanins. *Phytochemistry*, 3:151-60, 1964.
- NIKETIC-ALEKSIC, G.K. & HRAZDINA, G. Quantitative analysis of the anthocyanin, content in grape juices and wines. *Fd. Sci. Technol.*, 5: 163-5, 1972..
- PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. 4.ed. Piracicaba, Nobel, 1977. 468p. 1977.
- PUISSANT, A. & LEÓN, H. La matière colorante des grains de certains cépages cultivés en Anjou en 1965. *Anns. Technol. Agric.*, 16:217-25, 1967.
- RANKINE, B.C.; KEPNER, R.E.; WEBB, A.D. Comparison of anthocyan pigments of vinifera grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, 9: 105-10, 1958.
- RIBÉREAU-GAYON, J. Différenciation des matières colorantes des raisins et des vins des cépages français et hybrides. *C.R. Acad. Agric. France*, 39:800-7, 1953.
- RIBÉREAU-GAYON, J.; SUDRAUD, P.; DURQUETY, P.M. Relation entre génétique et la nature chimique des pigments anthocyaniques de la baie sans le genre *Vitis* *Rev. Gén. Bot.*, 62:667-74, 1955.
- SAKELLARIADES, H.C. & LUH, B.S. Anthocyanins in Barbera grapes. *J. Fd. Sci.*, 39: 329-33, 1974.
- SOMAATMADJA, D. & POWERS, J.J. Anthocyanins. IV. Anthocyanin pigments of Cabernet sauvignon grapes. *J. Fed. Sci.*, 28:617-22, 1963.
- SOMERS, T.C. The anthocyanins of *Vitis vinifera*, variety shiraz. *J. Sci. Fed. Agri.c.*, 17:215-19, 1966.
- STASUNAS, V.J. Anthocyan pigments of Zinlandel grapes and wine. *J. Sci. Fed. Agric.*, 7:165-70, 1956.
- WULF, L.W. & NAGEL, E.W. High - pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 29(1):42-9, 1978.