



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ANÁLISE MULTIPARAMÉTRICA DA QUALIDADE DOS FRUTOS,
MOSTOS E VINHOS DE JABUTICABA**

GILMARA APARECIDA CORRÊA FORTES

GOIÂNIA 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANÁLISE MULTIPARAMÉTRICA DA QUALIDADE DOS FRUTOS,
MOSTOS E VINHOS DE JABUTICABA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suzana da Costa Santos

Goiânia
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

F738a Fortes, Gilmara Aparecida Corrêa.
Análise multiparamétrica da qualidade dos frutos, mostos e
vinhos de jabuticaba [manuscrito] / Gilmara Aparecida Corrêa
Fortes. – 2012.
xv, 51 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suzana da Costa Santos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Instituto de Química, 2012.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras, siglas e tabelas.
Apêndices.

1. Jabuticaba – Análise. 2. Mostos. 3. Vinhos. I. Título.

CDU: 582.776.2:543

Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar a minha vida e iluminar o meu caminho.

À Profa. Dra. Suzana da Costa Santos, pelos preciosos ensinamentos, pela disponibilidade em me orientar, pela paciência e compreensão e principalmente, pelo exemplo de dedicação e seriedade para com a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri, pelas contribuições com as análises estatísticas.

À minha mãe Marly Barbosa Corrêa Fortes e ao meu pai Gilmar Alves Fortes, pelo amor incondicional, por todo o apoio, dedicação, sensatez, abdicção, pelo encorajamento nos momentos difíceis e por toda a educação a mim prestada.

À minha irmã Cristina, pela amizade e pela palavra sincera.

Ao Deomar Plácido da Costa, pelo carinho, companheirismo, dedicação e pela ajuda com as análises estatísticas.

A todos os professores e funcionários do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, pelas contribuições para minha formação.

Às colegas do laboratório, Sara Santiago, Géssica, Alessandra, Danielle, Eliane, pela amizade, ajuda e companheirismo.

À fazenda Jabuticabal, pela disponibilidade das amostras e contribuições para a pesquisa.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que contribuíram para esta conquista, muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	vii
Lista de Siglas	viii
Resumo	ix
Abstract	x
1. Introdução	1
1.1. <i>Myrciaria cauliflora</i>	1
1.2. Amadurecimento da jabuticaba	3
1.3. Fermentação de jabuticabas	5
1.4. Envelhecimento de vinhos tintos	7
2. Objetivos	10
3. Materiais e Métodos	11
3.1. Amostras de jabuticabas, mostos e vinhos	11
3.2. Preparação dos Extratos	11
3.2.1. Extração de compostos fenólicos	11
3.2.2. Extração de açúcares e ácidos orgânicos	12
3.3. Quantificação dos fenóis, açúcares, ácidos orgânicos	12
3.3.1. Quantificação de Fenóis Totais	12
3.3.2. Quantificação de Taninos	12
3.3.3. Quantificação de Antocianinas Totais Monoméricas	13
3.3.4. Índice de Cor e Tonalidade	13
3.3.5. Idade Química	14
3.3.6. Quantificação por RMN de ¹ H	14
3.3.7. Quantificação de açúcares redutores	16
3.3.8. Quantificação de sólidos dissolvidos	16
3.3.9. Acidez total e pH	16
3.4. Análise Estatística	16
4. Resultados e Discussão	18
4.1. Amadurecimento da Jabuticaba	18
4.2. Análise da fermentação da jabuticaba	21
4.3. Análise do envelhecimento de vinhos de jabuticabas	30
5. Considerações Finais	40
6. Referências Bibliográficas	41
Apêndices	50

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Myrciaria cauliflora</i> adulta, flores, frutos verde e maduro em detalhe.	1
Figura 2. Jabuticabina (1), ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético (2), cianidina 3-glicosídeo (3) e delfinidina 3-glicosídeo (4).	1
Figura 3. Exemplos das duas classes de taninos, condensados e hidrolisáveis.	8
Figura 4. Estruturas de duas moléculas originadas nas reações de polimerização de antocianinas. Piranocianidina (1), Dímero de malvidina-3-O-glicosídeo (2).	9
Figura 5. Variação de fenóis totais, tonalidade, índice de cor, taninos e antocianinas durante a fermentação da jabuticaba.	21
Figura 6. Cátion flavilium	22
Figura 7. Variação de açúcares, álcoois e ácido cítrico durante a fermentação da jabuticaba.	23
Figura 8. Concentração de ácido acético, ácido succínico e metanol durante a fermentação da jabuticaba.	24
Figura 9. Evolução da fermentação do mosto da jabuticaba através de espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz). Sinais: 1, sacarose; 2, α -glicose; 3, frutose; 4, β -glicose; 5, ácido cítrico; 6, ácido succínico; 7, ácido acético; 8, etanol; 9, metanol; 10, glicerol.	25
Figura 10. Gráfico gerado pela PCA dos parâmetros físico-químicos, constituintes fenólicos, açúcares e ácidos dos mostos de jabuticaba. As amostras foram agrupadas em dois grupos: I (●), II (■). ^a Eixos referentes aos scores das amostras. ^b Eixos referentes aos scores dos componentes, as variáveis discriminantes estão representadas pelos vetores.	26
Figura 11. Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos dos quatorze dias de fermentação da jabuticaba. O grupo 1 (●) representa as amostras dos quatro primeiros dias de fermentação e o grupo 2 (■) representa as amostras do quinto dia ao décimo quarto dia.	27
Figura 12. Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos dos vinhos de jabuticaba analisados. Grupo I (■) é formado pelos vinhos dos anos 2001, 2002, 2003, 2006, o grupo II (●), pelos vinhos 2005, 2007 e 2008 e o grupo III (◆) representa os vinhos 2009 e 2010.	35
Figura 13. A - eixos 1 e 2, B – eixos 1 e 3 dos gráficos gerados pela PCA. Variáveis: parâmetros físico-químicos, constituintes fenólicos, ácidos e álcoois de vinhos de jabuticabas (2001 a 2010). As amostras foram agrupadas em três grupos: I (■), II (●), III (◆). ^a Eixos referentes aos scores das amostras. ^b Eixos referentes aos scores dos componentes, as variáveis discriminantes estão representadas pelos vetores.	36

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Cálculos das concentrações relativas dos compostos no mosto por espectroscopia de RMN de ^1H .	15
Tabela 2. Deslocamentos químicos dos compostos quantificados por espectroscopia de RMN de ^1H ^a .	15
Tabela 3. Médias ^a dos valores de peso fresco (g), concentração de açúcar redutor (g glicose/100g de peso seco) e acidez total (g ac. cítrico/100g de peso seco) nas jabuticabas inteiras e suas partes separadas durante quatro estágios de maturação.	18
Tabela 4. Médias das concentrações ^a de antocianinas, taninos e fenóis totais (mg/g de peso seco) no fruto de jabuticaba e suas partes separadas durante quatro estágios de desenvolvimento.	19
Tabela 5. Açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, fenóis, acidez total e parâmetros de cor nos agrupamentos da fermentação da jabuticaba ^a .	27
Tabela 6. Sumário da análise de Correlação Canônica dos ácidos orgânicos, álcoois, acidez total, pH e compostos fenólicos e variáveis de cor com suas variáveis canônicas.	29
Tabela 7. Médias (n=3) $\pm$ d.p. dos resultados de acidez total (g de ácido acético/L) e pH	31
Tabela 8. Médias (n=3) $\pm$ d.p. das concentrações dos compostos presentes em vinhos de jabuticaba por RMN H^1	32
Tabela 9. Médias (n=3) $\pm$ d.p. das concentrações dos compostos fenólicos e características cromáticas dos vinhos de jabuticaba.	34
Tabela 10. Médias $\pm$ desvio padrão das variáveis avaliadas para vinhos de jabuticaba para os três grupos obtidos na análise de agrupamentos.	38
Tabela 11. Sumário da análise de Correlação Canônica de etanol, antocianinas, taninos, pH, acidez total, ácido cítrico e idade química.	39

LISTA DE SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

ATM – Antocianinas Totais Monoméricas

ACC – Análise de Correlação Canônica

DAA – Dias Após a Antese

d. p. – Desvio Padrão

FD – Fator de Diluição

FT – Fenóis Totais

AA – Análise de Agrupamentos

IC – Índice de Cor

IQ – Idade Química

MM – Massa Molar

PCA – Análise de Componentes Principais

PC – Componente Principal

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

T – Tonalidade

VC – Variável Canônica

RESUMO

Parâmetros químicos foram monitorados durante o amadurecimento, fermentação e envelhecimento do vinho de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), através de RMN de ^1H , ensaios espectrofotométricos e métodos usuais de análise. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), análise de componentes principais (PCA), análise de agrupamentos (AA) e análise de correlação canônica (ACC). Para identificar o período de colheita ideal para vinificação avaliou-se o desenvolvimento da jabuticaba. A acidez total diminuiu 70,5%, enquanto que os açúcares redutores aumentaram cerca de três vezes na polpa até a fase madura. Níveis de antocianinas cresceram subitamente nas cascas atingindo 22,0 mg/g de peso seco na maturação completa. Taninos e fenóis totais não mostraram diferenças significativas nos seus níveis entre os estágios maduro e muito maduro. A PCA e a AA da fermentação indicaram a formação de dois grupos, o primeiro inclui os mostos dos quatro primeiros dias de fermentação, caracterizados por maiores teores de frutose, glicose, antocianinas e índice de cor (19,90 g/kg; 36,95 g/kg; 177,88 mg/L e 8,6). O segundo grupo foi formado pelos mostos do quinto ao décimo quarto dia de fermentação, classificados pelo maior conteúdo de etanol, glicerol, metanol e ácido acético (75,02; 3,13; 0,19 e 0,99 g/kg) além de maior tonalidade e pH (1,25 e 3,49). A análise de correlação canônica confirmou a influência dos álcoois (etanol, metanol e glicerol), ácidos orgânicos (ácidos cítrico, acético e succínico), pH e acidez titulável na extração e estabilidade das antocianinas e copigmentos. A análise multivariada dos vinhos tintos de jabuticabas dos anos 2001 a 2010 indicou a formação de três grupos, Grupo I: vinhos 2001, 2002, 2003 e 2006, caracterizados pelas variáveis idade química 1 e 3, tonalidade (1,02; 0,89, 1,83), acetaldeído e álcoois (0,04 e 0,24 g/L). Grupo II: vinhos 2005, 2007 e 2008 discriminados pelos menores conteúdos de álcoois superiores (amílico, isoamílico e isobutílico, 0,14 g/L). Grupo III: vinhos 2009 e 2010, classificados por maiores teores de metanol, ácido acético e ácido láctico (0,12; 1,23; 0,35 g/L), e maior pH (3,96). A análise de correlação canônica apontou que as variáveis de idade química se relacionam negativamente com antocianinas, pH e acidez total, comprovando a importância do pH e acidez total na estabilidade e polimerização das antocianinas.

ABSTRACT

Chemical parameters were monitored during the jabuticaba's development, fermentation and ageing of its wine, by quantitative ^1H NMR, spectrophotometric assays and standard methods of analysis. Data collected were analysed by variance (ANOVA), principal components (PCA), hierarchical cluster (HCA) and canonical correlation analyses (CCA). Jabuticaba's development was analysed in order to identify the optimal harvest period for winemaking. Total acidity decreased 70.5%, whereas reducing sugars increased about threefold in pulps up until the full ripe stage. Anthocyanin levels underwent a sharp increase in the skins reaching 22.0 mg/g at complete maturation. Tannins and total phenols showed no significant differences in their levels between ripe and full ripe stages. The PCA and HCA distinguished two sample groups, the first comprised of samples from the first four days of fermentation characterized by high levels of fructose, glucose, anthocianins and colour intensity (19.90 g/kg; 36.95 g/kg; 177.88 mg/L and 8.6). The second cluster consisted of samples from days 5 to 14 with higher levels of ethanol, glycerol, methanol, acetic acid (75.02; 3.13; 0.19 and 0.99 g/kg), hue and pH (1.25 and 3.49). The canonical correlation analysis confirmed the influence of alcohols (ethanol, methanol and glycerol), organic acids (citric, succinic and acetic acids), pH and titratable acidity on the extraction and stability of anthocyanins and copigments. Three clusters were identified by the multivariate statistical analysis of red wine samples from 2001 to 2010. Cluster I, wines from 2001, 2002, 2003 and 2006, was characterized by chemical age 1 and 3, hue (1.02; 0.89; 1.83), acetaldehyde and alcohols (0.04 and 0.24 g/L). The wines from 2005, 2007 and 2008 formed the second cluster and presented the lowest content of superior alcohols (0.14 g/L). The third cluster was comprised by wines from 2009 and 2010, which contained higher levels of methanol, acetic and latic acids (0.12; 1.24; 0.35 g/L), and the highest pH (3.96). The canonical correlation analysis revealed that chemical age 1, 2 and 3 correlate negatively with anthocyanins, pH and titratable acidity, confirming the importance of pH and acidity in the anthocyanins stability and polimerization.

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Myrciaria cauliflora* (Myrtaceae)

A jabuticabeira é uma árvore nativa do Brasil, que pode ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio Grande do Sul, mas é nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo que ocorrem os maiores cultivos (Donadio, 1983). Dentre as espécies conhecidas destacam-se *Myrciaria cauliflora* (DC) O. Berg, *M. jaboticaba* (Vell) O. Berg e *M. trunciflora* O. Berg, que produzem frutos apropriados tanto para a indústria como para consumo “in natura” (Lorenzi *et al.*, 2006).

A *M. cauliflora* (figura 1) é uma frutífera que tem sua origem desconhecida, tendo sido descrita em 1828 a partir de material cultivado. É uma árvore semidecídua, de 3-6 metros de altura (Lorenzi *et al.*, 2006); seus frutos apresentam 3-4 cm de diâmetro com 1-4 sementes grandes e ficam suportados diretamente sobre os troncos e ramos principais da planta. São globosos, de polpa suculenta de sabor doce e levemente adstringente, envolto por uma casca roxo-escura (Reynertson *et al.*, 2006).



Figura 1. *Myrciaria cauliflora* adulta, flores, frutos verde e maduro em detalhe.

Esta espécie é rica em compostos fenólicos, Reynertson e colaboradores (2006) já relataram a presença de dois depsídeos: jabuticabina (1), ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético (2) e duas antocianinas: cianidina 3-glicosídeo (3) e delfinidina 3-glicosídeo (4) (figura 2).

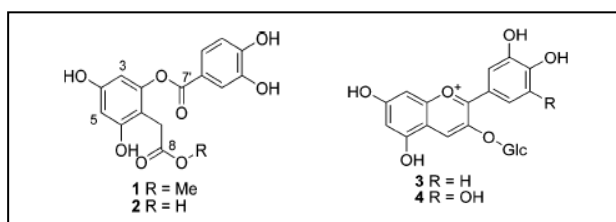


Figura 2. Jabuticabina (1), ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético (2), cianidina 3-glicosídeo (3) e delfinidina 3-glicosídeo (4).

Os polifenóis são compostos antioxidantes, cujas propriedades advêm essencialmente da sua capacidade de quelação de metais de transição, captura de radicais livres, inibição enzimática e ainda ativação de proteínas de defesa (Williams *et al.*, 2004).

Frutas coloridas são uma fonte potencialmente rica em nutrientes antioxidantes e acredita-se que desempenham um papel importante na prevenção de muitas doenças inflamatórias (Arts e Hollman, 2005). As antocianinas são substâncias responsáveis pela pigmentação dessas frutas, e atuam como antioxidantes, anti-inflamatórios e quimiopreventivos de doenças mutagênicas e câncer (Reynertson *et al.*, 2006).

Vários relatos têm descrito a atividade antioxidante da jabuticaba, que é atribuída principalmente ao alto teor de antocianinas e flavonóides em sua casca (Reynertson *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2011; Haminiuk *et al.*, 2011).

O decocto da casca da jabuticaba é usado tradicionalmente no tratamento para hemoptise, tosse, bronquite, asma, diarreia e disenteria (Reynertson *et al.*, 2006). O extrato etanólico dos frutos mostraram efeito inibitório contra *K. pneumoniae* (Haminiuk *et al.*, 2011); enquanto que extratos das folhas foram eficazes contra bactérias orais e espécies de *Candida* (Macedo-Costa *et al.*, 2009; Souza-Moreira *et al.*, 2010).

Reynertson e colaboradores (2008) pesquisaram a atividade antioxidante de quatorze espécies de Myrtaceas, os resultados revelaram que o extrato de *Myrciaria cauliflora* se mostrou o mais ativo em ensaio de DPPH em relação às outras espécies analisadas.

Além de suas atividades biológicas, a jabuticaba têm sido usada para produzir compotas, licores, destilados e vinhos, como uma alternativa para evitar perdas pós-colheita (Agostini *et al.*, 2009). Na última década, a produção de vinho de jabuticaba tem crescido e o sucesso entre os consumidores aumentou. Desde o ano 2000, a Vinícula Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia-GO, investe nesta produção (Vinícola Jabuticabal, 2012).

As bebidas fermentadas apresentam-se como alternativas no desenvolvimento de tecnologias para a obtenção de produtos derivados com maior período de vida útil e maior valor agregado (Muniz *et al.*, 2002). A transformação do fruto em vinho tinto, além de garantir benefícios econômicos, também promove um aproveitamento efetivo dos compostos com atividade antioxidante, pois o fruto inteiro é utilizado.

Quaisquer frutos que contenha umidade suficiente, açúcar e outros nutrientes para as leveduras podem servir como matéria-prima para a produção de vinhos (Silva *et al.*, 2008). Porém, de acordo com a Lei nº 7.678 (Brasil, 1988), a denominação

“vinho” é reservada apenas para bebidas provenientes de uva, para fermentados alcoólicos originados de outras matérias-primas que não seja a uva, deve-se indicar o nome da fruta, como “vinho de jabuticaba” (Silva *et al.*, 2008).

1.2 Amadurecimento da jabuticaba

A qualidade do vinho é afetada diretamente pela composição das frutas, que por sua vez é influenciada por vários fatores extrínsecos, tais como condições climáticas, solo e maturação do fruto (Gómez-Míguez *et al.*, 2007).

Na literatura já existem relatos sobre a determinação da composição química da jabuticaba cultivada em solos com características diferentes (Duarte *et al.*, 2012), e a importância do monitoramento do amadurecimento de frutas e suas consequências na qualidade da bebida derivada (Romero e Baker, 2000; Conde *et al.*, 2007; Fadda e Mulas, 2010).

Os padrões geralmente utilizados como indicadores de maturidade estão relacionados com a escolha de fatores que sejam mensuráveis, tais como tamanho, acidez titulável, conteúdo de sólidos solúveis, coloração da casca, amido e teor de açúcar (Fadda e Mulas, 2010).

Tendo como parâmetro as plantas, o fenótipo maduro é a soma das mudanças bioquímicas e fisiológicas que ocorrem durante o desenvolvimento dos frutos, tornando-os comestíveis e desejáveis para os animais dispersantes de sementes (Giovannoni, 2001). Para os seres humanos, a mudança na coloração é um dos critérios mais importantes para julgar o grau de maturidade e a qualidade dos frutos. Meletti (2000) descreve que a coloração das jabuticabas em geral quando atingem a maturidade é roxo-escura intensa.

Estudos realizados por Corrêa e colaboradores (2007), apontam que as jabuticabas apresentam padrão climatérico de amadurecimento e a enzima peroxidase pode ser um bom marcador de desenvolvimento para essa fruta.

O período de amadurecimento das jabuticabas pode variar de 45 a 65 dias dependendo da região de cultivo (Barros *et al.*, 1996). No entanto, as frutas podem completar a maturação em 35 dias durante uma estação quente e seca com irrigação adequada e boas condições de solo (Andersen e Andersen, 1989) .

Durante o desenvolvimento dos frutos ocorrem mudanças em sua composição, muitos dos solutos produzidos durante os primeiros dias de crescimento tem sua concentração reduzida devido ao aumento de água. No entanto, alguns desses

compostos não são simplesmente diluídos, mas de fato reduzidos, em virtude de o próprio fruto utilizá-los em seu metabolismo de crescimento (Conde *et al.*, 2007).

A celulose é o carboidrato estrutural predominante nas jabuticabas, em seguida aparecem hemicelulose e pectina, respectivamente. Os carboidratos estruturais se encontram na casca, polpa e sementes e são acumulados principalmente durante a fase rápida de crescimento do fruto, há cerca de 37 dias após a floração (Magalhães *et al.*, 1996a).

As mudanças mais significativas que ocorrem durante o desenvolvimento das jabuticabas aparecem quando os frutos encontram-se no final de seu período de crescimento. Este coincide com o início do período de amadurecimento, em que são observados rápido aumento do volume do fruto, diminuição do conteúdo de clorofila e aumento das antocianinas, além da transformação do amido em açúcares solúveis (Barros *et al.*, 1996; Magalhães *et al.*, 1996b).

Os açúcares solúveis são acumulados no fruto mesmo após atingir seu tamanho máximo. O excesso de açúcar na polpa da jabuticaba pode estar associado à rápida deterioração e fermentação do fruto, contribuindo para o curto período de vida pós-colheita (Barros *et al.*, 1996). Além disso, a solubilização de pectinas durante o amadurecimento está diretamente relacionado com a perda de firmeza do fruto (Magalhães *et al.*, 1996a).

As antocianinas são os compostos fenólicos que mais aumentam durante a fase de maturação do fruto. Estes compostos absorvem luz visível e são responsáveis por muitas das cores vistas em tecidos vegetais, que vão do vermelho ao azul. As antocianinas são antocianidinas covalentemente associados com uma ou mais moléculas de açúcar (Conde *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos estão diretamente relacionados com as características organolépticas dos vinhos, como cor, adstringência, sabor (Fanzone *et al.*, 2011). Eles são uma classe ecologicamente importante de metabólitos secundários, expressa em todas as plantas superiores e são influenciados por diferentes vias metabólicas (Hudec *et al.*, 2007). A enzima-chave para o metabolismo fenólico é fenilalanina-amônia-liase (PAL), e sua atividade pode variar muito com o estágio de desenvolvimento da planta (Hudec *et al.*, 2007).

Benoit e colaboradores (2000) afirmam que condições de estresse pode aumentar a síntese de PAL nas plantas. De fato, muitos compostos fenólicos estão envolvidos na proteção de plantas como inibidores biológicos ativos do crescimento de outros sistemas vivos (Conde *et al.*, 2007).

A compreensão de como e quando vários destes componentes se acumulam no fruto é de importância crucial para ajustar práticas de cultivo do fruto e, assim, modificar o tipo de vinho (Conde *et al.*, 2007). No entanto, não há informações sobre a concentração de fenóis totais e taninos durante o crescimento e amadurecimento de jabuticabas.

1.3 Fermentação de jabuticabas

A primeira etapa da vinificação consiste na colheita de frutos de alta qualidade, certificando-se que estão em condições ideais de maturação. A segunda etapa consiste na fermentação, que deve ser monitorada para a obtenção de um produto de alta qualidade.

Na elaboração do vinho, os dois principais açúcares de fruta, glicose e frutose, são convertidos em etanol pela ação das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, liberando dióxido de carbono e calor (Conde *et al.*, 2007; Buratti *et al.*, 2011).

A fermentação de vinhos é um processo de catabolismo anaeróbico de compostos orgânicos presentes no substrato (Stanbury *et al.*, 1995). Durante a fermentação é observada a existência de diferentes fases. A primeira delas configura a chamada fase de latência, e representa um período em que as leveduras implantadas estão se adaptando às novas condições do ambiente, isto é, estão respondendo aos desafios apresentados por níveis elevados de açúcar no mosto (Hornsey, 2007).

Mais tarde, o período de latência é substituído por uma curta fase do ciclo de crescimento em que as células tornam-se metabolicamente ativas novamente, e iniciam a divisão celular. Em condições normais de vinificação, este curto período de crescimento acelerado leva a um período de crescimento exponencial, em que a atividade de divisão celular atinge o seu apogeu (tempo de geração). Esta é a chamada fase "Logarítmica" de crescimento, em que é alcançado a máxima produção de etanol. A liberação de CO₂ cria um movimento tumultuoso que serve para dispersar os nutrientes dissolvidos. O fim da fermentação é marcado pelo decréscimo na produção de etanol (Hornsey, 2007).

As diferentes linhagens de leveduras podem promover a produção de vinhos com características distintas (Guimarães, 2006). Algumas vinícolas tem suas leveduras colhidas a partir do final da fermentação anterior, são as chamadas leveduras selvagens, esse processo é considerado artesanal, e a fonte de fermento endógeno representa um inóculo altamente heterogêneo. Porém, na maioria das adegas

modernas, o mosto é inoculado com uma cultura asséptica de uma selecionada cepa de *S. Cerevisiae*, e são chamadas de "cultura de iniciante", (Hornsey, 2007).

É importante salientar que as leveduras não produzem somente etanol, mas também uma variedade de produtos secundários que contribuem significativamente para as propriedades sensoriais dos vinhos (Lambrechts e Pretorius, 2000). Como resultado do metabolismo secundário envolvido na fermentação tem-se polissacarídeos, lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos (Lima *et al.*, 2001), glicerol, ésteres, acetais, álcoois superiores, ácidos orgânicos, entre outros (Romano *et al.*, 1996).

Na vinificação clássica de vinhos tintos, a maceração é um elemento chave para a extração e estabilização das antocianinas e proantocianidinas, que se difundem no mosto a partir das partes sólidas da fruta (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003).

As antocianinas são extraídas com alguma rapidez durante a vinificação, atingindo um máximo de concentração no mosto após alguns dias, diminuindo depois lentamente, enquanto que a extração das proantocianidinas continua durante toda a maceração, é a chamada curtimenta (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003).

Os fatores que influenciam a quantidade de compostos fenólicos no vinho são inúmeros, mas além de fatores agrônômicos, ligados à qualidade do fruto, a tecnologia enológica empregada é de fundamental importância para garantir a extração satisfatória desses compostos (Lee *et al.*, 2008; Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003; Bautista-Ortín *et al.*, 2007).

É de conhecimento que em alguns processos de vinificação são empregadas enzimas de maceração. As paredes das células da casca dos frutos são uma barreira que limitam a liberação de polifenóis para o mosto durante a fermentação. Enzimas de maceração podem ajudar na extração de compostos fenólicos e, ao mesmo tempo, modificar a estabilidade, o sabor e a estrutura de vinhos tintos, porque não são apenas as antocianinas que são liberadas, mas também taninos que estão presentes nas cascas e sementes (Bautista-Ortín *et al.*, 2007).

A adição de SO₂ também é documentada para promover uma extração efetiva de compostos fenólicos. Gambuti e colaboradores (2007) relatam que o uso combinado de SO₂ e enzimas pectolíticas resultaram em vinhos com maior intensidade de cor, maior quantidade de fenóis totais e antocianinas livres e estáveis.

Como durante a maceração as partes sólidas do fruto ficam em contato com o mosto, esse tempo de contato também já foi investigado. Alguns autores (Bautista-Ortín *et al.*, 2007; Gambuti *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008) concordam que esse

parâmetro depende das características do fruto e que durante algum tempo essa extração é bem efetiva, mas depois os compostos fenólicos extraídos não são muito significativos.

Parâmetros enológicos podem afetar significativamente o conteúdo fenólico em vinhos. No entanto, é difícil escolher uma prática que consiga aumentar as propriedades sensoriais e saudáveis de vinho tinto correlacionados ao padrão de polifenóis (Gambutti *et al.*, 2007).

Como a maioria das bebidas, os vinhos de frutas não precisam apenas estar em conformidade com a legislação vigente (Silva *et al.*, 2008), mas também devem alcançar altos padrões de qualidade para competir no mercado. Portanto, o monitoramento da fermentação é fundamental para detectar problemas que possam afetar a qualidade do produto final (Buratti *et al.*, 2011).

Para avaliar a qualidade dos vinhos é muito utilizado técnicas como teor alcoólico, sólidos solúveis, acidez total, pH (Pereira *et al.*, 2005), além de técnicas espectrais para quantificar fenóis totais (Ginjom *et al.*, 2011), antocianinas monoméricas (Wrolstad *et al.*, 2005; Ivanova *et al.*, 2011), taninos (Mercurio *et al.*, 2010) e para medir a intensidade da cor e tonalidade (Ivanova *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) tem sido utilizada na análise de misturas complexas como o vinho (Kosir e Kidric, 2002; Amaral e Caro, 2005; Son *et al.*, 2009). E apresenta vantagens sobre outras técnicas clássicas, já que fornece uma caracterização rápida, não invasiva, a amostra não necessita de um tratamento laborioso e é possível detectar simultaneamente um grande número de compostos orgânicos (Amaral e Caro, 2005; Clark *et al.*, 2006).

1.4 Envelhecimento de vinhos tintos

Depois da fermentação, o vinho continua sofrendo transformações e o monitoramento das reações que ocorrem durante o envelhecimento dos vinhos também é de fundamental importância para investigar as condições que afetam sua qualidade (Somers e Evans, 1977; Mercurio *et al.*, 2007).

Antocianinas são compostos instáveis que passam por uma série de reações de degradação. Sua estabilidade é altamente variável dependendo de sua estrutura e a composição da matriz em que elas existem (Wrolstad *et al.*, 2005).

Uma vez extraídas, a concentração de antocianinas já começa a diminuir no final da fermentação, provavelmente devido a sua adsorção pelas leveduras. No envelhecimento, as reações de polimerização, condensação, oxidação e precipitação

podem estar envolvidas no desaparecimento das antocianinas livres (Boido *et al.*, 2006; Chinnici *et al.*, 2011).

Nas condições de pH do vinho, as antocianinas podem existir sob várias formas de equilíbrio, sendo principalmente a forma de cátion flavílio que corresponde a uma coloração vermelha e outras formas hidratadas incolores (Atanasova *et al.*, 2002; Mercurio *et al.*, 2007). A cor do vinho tinto jovem é em grande parte devido à presença de antocianinas em sua forma de cátion flavílio. No entanto, em condições de vinho original, apenas uma pequena porcentagem da concentração total de antocianinas existem sob essa forma (Somers e Evans, 1977).

A intensidade de cor e cromaticidade resultante destes pigmentos estão diretamente relacionadas com as suas formas de equilíbrio, e dependem das interações moleculares com outros compostos que atuam como copigmentos, como é o caso dos flavan-3-óis (Mateus, 2009).

Os flavan-3-óis constituem uma grande classe de compostos que engloba os já famosos taninos do vinho. Os taninos vegetais constituem um grande número de compostos fenólicos, que se dividem em duas classes : os taninos hidrolisáveis e as proantocianidinas ou taninos condensados (figura 4) (Melo e Santos, 2003). Os dois tipos de taninos fazem parte da composição das jabuticabas e apresentam a interessante propriedade de formar complexos.

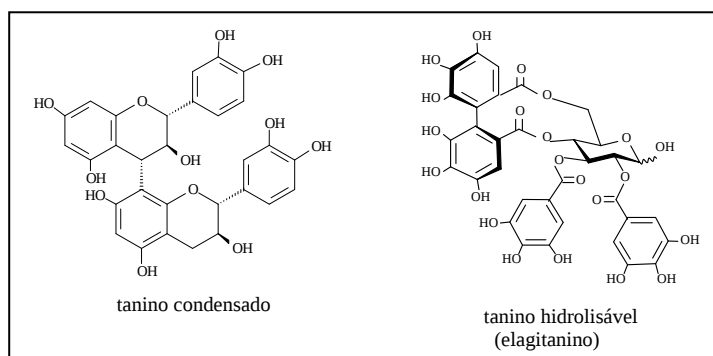


Figura 3. Exemplos das duas classes de taninos, condensados e hidrolisáveis.

Durante o tempo de armazenamento, a cor do vinho tinto jovem muda de vermelho-azulada, para a coloração marrom-avermelhada e a adstringência decresce (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003).

A polimerização de antocianinas resulta em pigmentos mais estáveis (figura 4), que implicam uma mudança na coloração dos vinhos. Os compostos resultantes derivam da condensação direta (Vivar-Quintana *et al.*, 2002) entre antocianinas e

flavanóis e podem envolver o acetaldeído (Atanasova *et al.*, 2002) e/ou o ácido pirúvico (Fulcrand *et al.*, 1998). Também, têm sido relatadas reações de co-polimerização (Fulcrand *et al.*, 1998; Mateus, 2009).

As reações de oxidação do etanol favorecem a produção de acetaldeído. Este apresenta pouco efeito quando em contato apenas com antocianinas, mas um efeito pronunciado quando outros fenóis estão envolvidos, intensificando as reações de polimerização. Com o passar do tempo as grandes moléculas de polímeros precipitam provocando uma redução na cor dos vinhos (Dallas *et al.*, 1996).

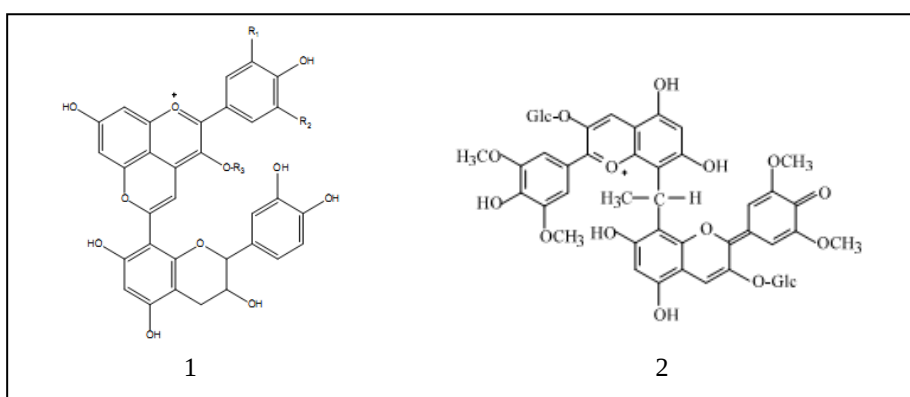


Figura 4. Estruturas de duas moléculas originadas nas reações de polimerização de antocianinas. Piranocianidina (1), Dímero de malvidina-3-O-glicosídeo (2).

A grande diversidade de transformações químicas que ocorre no vinho irá originar novos compostos, mais estáveis, com características físico-químicas diferentes dos compostos fenólicos iniciais, alterando assim as características organolépticas do vinho, principalmente a cor e o sabor (Mateus, 2009). O conhecimento dessas transformações e dos fatores que as favorecem podem possibilitar um maior controle nos tipos de reações de que se tenham interesse que prevaleça durante o envelhecimento dos vinhos (Romero e Bakker, 2000).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

Avaliar a evolução de compostos fenólicos, açúcares redutores e acidez total durante o desenvolvimento e amadurecimento da *Myrciaria cauliflora* no intuito de determinar o período ideal de colheita para a vinificação de jabuticabas.

Monitorar as transformações que ocorrem nos compostos fenólicos, ácidos orgânicos, álcoois, acidez total, pH e variáveis cromáticas durante a fermentação de jabuticabas e envelhecimento de seu vinho.

Identificar as correlações entre os vários parâmetros de qualidade utilizando métodos quimiométricos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras de jabuticabas, mostos e vinhos

As amostras de jabuticabas, mosto e vinhos foram fornecidas pela Vinícola Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia, Goiás.

A colheita dos frutos foi realizada em quatro estágios de desenvolvimento: 16, 23, 30 e 37 dias após a antese (DAA), sendo 2 kg de cada, que foram obtidos de 10 árvores de 40 anos de idade em set-out/2008.

Os frutos foram lavados com água corrente e separados manualmente em seus componentes: sementes, polpa e casca. Então, aproximadamente 100 g de cada amostra foi misturada com 50 mL de água destilada, homogeneizada com auxílio de um blender portátil e liofilizada. As amostras secas foram armazenadas a -18°C até a análise.

O mosto para o vinho tinto foi preparado com 370 kg de frutos maduros, que foram espremidos e colocados em uma tina de inox (200 litros), adicionaram-se 60 g de metabissulfito de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) e leveduras selvagens (pé de cuba) obtidas previamente a partir das cascas de jabuticabas. Fez-se a correção do açúcar pela adição de sacarose até 22 °Brix. Durante os primeiros quatro dias (96 horas) as cascas e as sementes estiveram em contato com o mosto. Após este tempo o mosto foi separado dos sólidos, sendo bombeado para um barril de inox (3.000 litros). Este barril foi completado com mosto de diversas tintas (todas com frutos advindos do mesmo pomar) e a fermentação se prolongou por mais alguns dias.

Três amostras de mosto foram coletadas durante quatorze dias e armazenadas em freezer até as análises. As amostras descongeladas foram centrifugadas por 10 minutos a 2000 rpm, decantadas e analisadas.

As amostras de vinho tinto (Javine) de 2001 a 2010 foram obtidas diretamente das garrafas armazenadas na vinícola.

3.2 Preparação dos Extratos (Escarpa e González, 2001)

3.2.1. Extração de compostos fenólicos

Pesou-se aproximadamente 1,000 g do fruto liofilizado ou de suas partes separadas em tubo de ensaio, adicionou-se 10 mL de metanol e ácido fórmico (9:1) e deixou-se por 30 minutos em banho de ultra-som a temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se e decantou-se o extrato para um balão de fundo redondo. Adicionou-se ao tubo mais 10 mL e deixou-se por 15 minutos no ultra-som, centrifugou-se e decantou-se o extrato para o mesmo balão. O mesmo procedimento foi repetido mais

duas vezes, utilizando ao todo 40 mL de solvente. Os extratos combinados no balão foram evaporados em rotaevaporador e transferidos para balão volumétrico de 25 mL, o volume foi completado com o mesmo solvente. Os extratos foram preparados em duplicata para todas as amostras.

3.2.2. Extração de açúcares e ácidos orgânicos

Pesaram-se aproximadamente 0,200 g do fruto liofilizado ou de suas partes separadas em tubo de ensaio, adicionaram-se 10 mL de água destilada e deixou-se por 30 minutos em banho de ultra-som a 50 °C. Em seguida, resfriou-se, centrifugou-se e decantou-se o extrato para um balão volumétrico de 25 mL. O mesmo procedimento foi repetido mais duas vezes com 10 e 5 mL de água destilada, deixando-se por 15 minutos no ultra-som em cada etapa. Os extratos foram preparados em duplicata para todas as amostras.

3.3. Quantificação dos fenóis, açúcares, ácidos orgânicos

3.3.1. Quantificação de Fenóis Totais (método de Folin-Ciocalteu, Escarpa e González, 2001)

Diluiu-se com água destilada o extrato, mosto ou vinho na proporção de 1:4. Em balão volumétrico de 25 mL adicionaram-se 0,3 mL da amostra diluída e em seguida 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma–Aldrich). Após 1 minuto acrescentaram-se 4,0 mL de solução de carbonato de sódio 20% e então o volume foi completado com água destilada. Após 30 minutos realizou-se a leitura da absorbância a 750 nm em espectrômetro Beckman DU-70. Construiu-se uma curva de calibração com ácido tânico como padrão (0,8 a 2,0 mg/mL; $y = 0,02489 + 0,26459x$; $r^2 = 0,9984$) e os resultados foram apresentados como concentração de ácido tânico equivalente, sendo em mg/g para os frutos e suas partes separadas e em g/L para os mostos e vinhos. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

3.3.2. Quantificação de Taninos (Waterman e Mole, 1994)

Transferiu-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1,0 mL de amostra (extrato, mosto, vinho) para tubo de ensaio. Então, adicionou-se 2,0 mL da solução de albumina bovina sérica (1,0 mg/mL), após agitação a solução foi deixada em repouso por 15 minutos a temperatura ambiente e em seguida, centrifugada por 15 minutos a 2000 rpm. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi dissolvido em 4,0 mL de solução de SDS/trietanolamina/isopropanol e acrescentou-se 1,0 mL do reagente

cloreto férrico, as soluções foram misturadas. No intervalo de 15 a 30 minutos as absorbâncias foram lidas a 510 nm em espectrômetro Beckman DU-70.

Um branco foi preparado com a solução de SDS/trietanolamina/isopropanol e reagente cloreto férrico. Elaborou-se uma curva de calibração com ácido tânico como padrão (0,3 a 0,8 mg/mL; $y = 2,76074x - 0,62834$; $r^2 = 0,99849$) e os resultados foram apresentados como concentração de ácido tânico equivalente, sendo em mg/g para os frutos e suas partes separadas e, em g/L, para os mostos e vinhos. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

3.3.3. Quantificação de Antocianinas Totais Monoméricas - ATM (método do pH diferencial, Reynertson *et al.*, 2008)

De cada extrato, mosto ou vinho transferiram-se 0,5 mL para dois balões volumétricos de 25 mL; completou-se um dos balões com solução tampão pH 1,0 e outro com solução tampão pH 4,5. As soluções permaneceram em repouso por 15 minutos ao abrigo da luz e realizaram-se as leituras das absorbâncias a 520 e 700 nm para cada uma em espectrômetro Beckman DU-70. As concentrações de antocianinas foram expressas como cianidina-3-glicose em mg/g para os frutos e suas partes separadas e, em mg/L, para os mostos e os vinhos, calculadas de acordo com a equação 1 ou 2, respectivamente:

$$\text{Concentração de antocianinas (mg/g)} = A \cdot MM \cdot FD / \epsilon \cdot b \quad (1)$$

$$\text{Concentração de antocianinas (mg/L)} = A \cdot MM \cdot FD \cdot 1000 / \epsilon \cdot b \quad (2)$$

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1,0 - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 4,5$$

$$MM = 449 \text{ g/mol (massa molar da cianidina-3-glicose)}$$

$$FD = \text{fator de diluição (50)}$$

$$\epsilon = 26.900 \text{ L/mol/cm (coeficiente de extinção da cianidina-3-glicose)}$$

$$b = 1 \text{ cm}$$

3.3.4. Índice de Cor e Tonalidade (Somers e Evans, 1977)

Pipetou-se 0,5 mL de cada mosto e vinho em balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com água destilada. As soluções diluídas foram deixadas em repouso por 15 minutos e ao abrigo da luz. Então, fez-se a leitura das absorbâncias a 420, 520 e 620 nm em espectrômetro Beckman DU-70 usando cubeta de vidro de 10 mm de caminho óptico. Os resultados foram calculados para cubetas de 1 mm e amostra não diluída. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. O índice de cor (IC) e a tonalidade (T) foram calculados através das seguintes equações:

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad (3)$$

$$T = A_{420} / A_{520} \quad (4)$$

3.3.5. Idade Química (Somers e Evans, 1977; Heredia *et al.*, 1997)

De cada amostra de vinho transferiu-se 10 mL para quatro tubos de ensaio. No primeiro adicionou-se 0,02 g de metabissulfito de potássio, no segundo 0,1 mL de acetaldeído, no terceiro 0,1 mL de ácido clorídrico 1 mol/L e no quarto não adicionou-se reagente. Em seguida, realizou-se a leitura da absorbância a 520 nm para cada tubo em espectrômetro Beckman DU-70. As Idades Químicas (IQ) 1, 2 e 3 foram determinadas pelas equações abaixo:

$$IQ\ 1 = A_{SO_2} / A_{CH_3CHO} \quad (5)$$

$$IQ\ 2 = A_{SO_2} / A_{HCl} \quad (6)$$

$$IQ\ 3 = A_{SO_2} / A_{520} \quad (7)$$

3.3.6. Quantificação de álcoois, ácidos orgânicos e açúcares por RMN de 1H

Os ácidos orgânicos, açúcares e álcoois contidos no mosto foram quantificados seguindo procedimento descrito por Clark *et al.*, 2006. Para isto, as amostras centrifugadas de mosto (0,95 mL) foram misturadas com 0,05 mL de D_2O .

Para a quantificação dos mesmos compostos nos vinhos utilizou-se procedimento descrito por Berregi *et al.*, 2003. As amostras centrifugadas de vinho tiveram seu pH ajustado para 3; então, misturou-se 0,6 mL das amostras e de soluções de padrões a 0,1 mL de solução de ácido gálico a 0,1% (padrão interno) em D_2O . Uma gota da solução de TMSP-2,2,3,3- D_4 0,1% (Sodium-3-trimethylsilyl-propionate) foi adicionada às amostras e às soluções padrão como referência do $\delta = 0.00$ ppm.

Os espectros foram obtidos em aparelho de Ressonância Magnética Nuclear Bruker Avance III – 500, operando a 500,13 MHz para 1H . Os parâmetros utilizados foram: janela espectral de 16 ppm, foram coletados 64 K pontos de dados, com 48 varreduras, reciclados com atraso de 1s e ângulo do pulso de 90° , com tempo de aquisição de 4,06 s a temperatura fixa de $25^\circ C$. A análise dos dados foi realizada com o programa TOPSPIN 2.1 (Bruker BioSpin Corp., MA, EUA). Na tabela 1 estão apresentados os cálculos efetuados para obtenção das concentrações dos compostos presentes na fermentação. Os espectros foram integrados tendo a água como referência (Clark *et al.*, 2006).

Tabela 1. Cálculos das concentrações relativas dos compostos no mosto por espectroscopia de RMN de ^1H .

Composto/integral/ deslocamento químico (δ)	H^1	Mols relativos	Massa molar (g/mol)	Massa (g)	Concentração (g/kg) x 1000
Sacarose (a) 5,24 ppm	1	a/1	342,3	(a/1) x 342,3	((a/1) x 342,3)/total
Água (b) 4,68 ppm	2	b-f/2	18,02	(b-f/2) x 18,02	((b-f/2) x 18,02)/total
Frutose (c) 3,92-4,08 ppm	2	c-a/2	180,2	(c-a/2) x 180,2	((c-a/2) x 180,2)/total
Glicerol (d) 3,37-3,42 ppm	4	d/4	92,09	(d/4) x 92,09	((d/4) x 92,09)/total
Metanol (e) 3,20 ppm	3	e/3	32,0	(e/3) x 32,0	((e/3) x 32,0)/total
β -glicose (f) 3,08 ppm	0,64	f/0,64	180,2	(f/0,64) x 180,2	((f/0,64) x 180,2)/total
Ácido cítrico (g) 2,60-2,83 ppm	4	g/4	192,13	(g/4) x 192,13	((g/4) x 192,13)/total
Ácido succínico (h) 2,49 ppm	4	h/4	118,09	(h/4) x 118,09	((h/4) x 118,09)/total
Ácido acético (i) 1,92 ppm	3	i/3	60,05	(i/3) x 60,05	((i/3) x 60,05)/total
Etanol (j) 1,02 ppm	3	j/3	46,07	(j/3) x 46,07	((j/3) x 46,07)/total
Total				Total (g)	1000

Na análise dos vinhos utilizou-se ácido gálico ($\delta^1\text{H}$: 7,14 ppm) como referência para integração e para os cálculos, os deslocamentos químicos dos compostos analisados estão expressos na tabela 2. Curvas de calibração foram elaboradas para o etanol e o ácido cítrico, pois os dois componentes estavam em concentrações muito elevadas. Concentrações de etanol: 5 a 15%; $y = 0,00527x - 0,00383$; $r^2 = 0,99998$ e ácido cítrico: 2 a 10 g/L; $y = 4,54563x + 1,07141$; $r^2 = 0,99751$.

Tabela 2 . Deslocamentos químicos dos compostos quantificados por espectroscopia de RMN de ^1H ^a.

Composto	$\delta^1\text{H}$ em ppm (multiplicidade, assinalamento) ^b	no de ^1H
3-metil-1-butanol	0.87 (d, CH_3)	6
2-metil-1-propanol	0.88 (d, CH_3)	6
etanol	1.17 (t, C_2H_3)	3
ácido láctico	1.40 (d, C_3H_3)	3
ácido acético/acetatos	2.08 (s, C_2H_3)	3
ácido succínico	2.65 (s, $\text{C}_2\text{H}_2 + \text{C}_3\text{H}_2$)	4
ácido cítrico	2.80 (d, $\text{C}_2,4\text{H}$); 2.95 (d, $\text{C}_2,4\text{H}$)	4
metanol	3.35 (s, C_1H_3)	3
glicerol	3.55 (m, C_2H_2)	2
acetaldeído	9.44 (s, C_1H)	1

^aOs desvios químicos foram determinadas a pH 3,0 e expressos como valores relativos aos do TMSP, a 0 ppm. ^bs =singlete, d = dubleto, t = tripleto e m = multipeto.

3.3.7. Quantificação de açúcares redutores (método do ácido 3,5 dinitrossalicílico (ADNS), Miller, 1959)

Os extratos dos frutos foram inicialmente diluídos na proporção de 5:100. Uma alíquota 3,0 mL foi transferida para tubo de ensaio contendo 3,0 mL de solução de: ADNS 1%, fenol 0,2%, sulfito de sódio 0,05% e NaOH 1%. A mistura foi deixada por 15 minutos em banho de água fervente. Após o desenvolvimento da cor adicionou-se 1,0 mL da solução de tartarato de sódio e potássio a 40%. Retirou-se do banho, resfriou-se a mistura e mediu-se a absorbância a 540 nm em espectrômetro Beckman DU-70. Uma curva de calibração foi preparada com glicose como padrão (0,1 a 0,6 mg/mL; $y = 4,29056x - 0,16133$; $r^2 = 0,99954$), os resultados foram apresentados como g glicose/100 g do fruto ou polpa seca.

3.3.8. Quantificação de sólidos dissolvidos

Para quantificar a porcentagem de açúcares nos mostos ($^{\circ}$ BRIX) foi utilizado o refratômetro de Abbe DR-A1 (Atago Corp., LTD, Japão) à temperatura ambiente. Após as leituras os resultados foram corrigidos para a temperatura de calibração do refratômetro.

3.3.9. Acidez total e pH

A acidez total foi determinada por titulometria, com solução de hidróxido de sódio $\pm 0,01$ mol/L para os frutos e $\pm 0,1$ mol/L para os mostos e vinhos, utilizou-se alíquota de 1,0 mL para cada amostra e indicador azul de bromotimol. O ponto de viragem foi indicado pela mudança de coloração da solução de amarelo para azul. A acidez total foi expressa em g de ácido cítrico /100 g de fruto seco e g de ácido tartárico /100 mL de mosto ou vinho.

O pH de mostos e vinhos foi determinado utilizando-se pHmetro Ingold pH-206 com ajuste de temperatura para 20 $^{\circ}$ C e calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

3.4. Análise estatística

Foram realizadas análises de variância para comparar as médias dos dados químicos das amostras de frutos usando o procedimento SAS GLM. Todos os dados foram avaliados para a homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Hartley. Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, foi aplicado o teste de Tukey para comparação entre as médias. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para estabelecer interrelação entre os indivíduos e parâmetros físico-químicos, compostos fenólicos, álcoois, açúcares e ácidos orgânicos. A Análise de Agrupamentos (AA) foi realizada para estudar as similaridades das amostras nas bases da distribuição dos constituintes. A técnica do vizinho mais próximo pelo algoritmo de Benzécri (Benzécri, 1980) foi aplicada para verificar esta similaridade e os agrupamentos hierárquicos foram formados de acordo com o Método de Variância Mínima de Ward (Ward, 1963). Também foi realizada análise de correlação canônica (ACC) para estabelecer relação entre um conjunto de variáveis relacionadas à cor do vinho e outro conjunto com variáveis físico-químicas.

Os programas estatísticos utilizados foram: o *Système Portable d'Analyse des Données Numériques/SPAD.N*, versão 5.0 (Lebart *et al.*, 2001), *Kyplot*, versão 2.0 beta (Yoshioka, 1997-2000) e *SAS* (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento e amadurecimento da jabuticaba

Publicado como: Fortes G.A.C., Naves S.S., Godoi F.F.F., Duarte A.R., Ferri P.H. and Santos S.C., Assessment of a Maturity Index in Jabuticaba Fruit by the Evaluation of Phenolic Compounds, Essential Oil Components, Sugar Content and Total Acidity . American Journal of Food and Technology, v. 6, p. 974-984. 2011.

Para este estudo foram coletados frutos em quatro estágios de desenvolvimento e maturação, sendo assim classificados: verdes (16º DAA), de vez (23º DAA), maduros (30º DAA) e muito maduros (37º DAA). Os pesos médios dos frutos frescos mostram uma evolução do 16º ao 30º DAA, aumentando até 7,67 g (Tabela 3) e depois reduzindo-se para 5,02 g, o que pode ser devido à perda de água. Um padrão de crescimento semelhante foi observado em frutos, como mirtilo, ameixa e uvas (Fadda e Mulas, 2010).

Tabela 3. Médias^a dos valores de peso fresco (g), concentração de açúcar redutor (g glicose/100g de peso seco) e acidez total (g ácido cítrico/100g de peso seco) nas jabuticabas inteiras e suas partes separadas durante quatro estágios de maturação.

DAA ^b	Peso médio fresco	Açúcar Redutor		Acidez Total
	Fruto	Polpa	Fruto	Fruto
16	2,51 ± 0,14 C	32,52 ± 0,55 aD	33,51 ± 0,19 aC	15,46 ± 0,22 A
23	4,77 ± 0,14 B	56,57 ± 2,48 aC	42,24 ± 0,83 bB	13,36 ± 0,11 B
30	7,67 ± 0,09 A	66,21 ± 0,08 aB	43,55 ± 0,80 bB	7,14 ± 0,11 C
37	5,02 ± 0,35 B	88,92 ± 0,13 aA	48,06 ± 0,07 bA	4,56 ± 0,03 D

^a Os valores são as médias ± d.p. (n=3). ^b Dias após a antese. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Os carboidratos não estruturais da jabuticaba são constituídos principalmente de açúcares redutores e se acumulam principalmente nas polpas (Barros *et al.*, 1996; Lima *et al.*, 2011). Como mostrado na Tabela 3, a quantidade de açúcares na polpa aumentou quase três vezes entre 16º e 37º DAA, enquanto que a variação para o fruto inteiro foi de apenas 43,4% no mesmo período. O teor máximo de açúcar na polpa ao 37º DAA foi muito semelhante aos resultados obtidos por Barros e colaboradores (1996) para a espécie *M. jaboticaba*.

Os ácidos succínico e cítrico são os ácidos orgânicos mais abundantes nas jabuticabas (Jham *et al.*, 2007), também foram detectados os ácidos málico, oxálico e acético, porém em menor quantidade (Lima *et al.*, 2011). Ao longo do desenvolvimento

da jabuticaba, os valores de acidez total caíram em 70,5% (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados em duas variedades de jabuticaba (Sabará e Açú Paulista), na qual os ácidos succínico e cítrico reduziram em 71,3% na polpa durante a maturação (Jham *et al.*, 2007). O mesmo ocorreu com o mirtilo, que apresentou uma redução de 70% da acidez titulável (Fadda e Mulas, 2010).

A proporção açúcar/ácido aumentou durante o desenvolvimento do fruto de 2,17 (16 DAA) para 10,5 (37 DAA). Esta relação pode ser usada como um índice de maturidade, o qual mede a qualidade do fruto para fins industriais.

As antocianinas são compostos fenólicos responsáveis pela cor do fruto. Elas se acumulam na casca da jabuticaba (Tabela 4), enquanto que a polpa da fruta é esbranquiçada. Seu aumento de cerca de cinquenta vezes na casca entre 16^o e 37^o dias é devido à produção de cianidina-3-glicose (Reynertson *et al.*, 2008) e petunidina-3-glicose (Montes *et al.*, 2005). Um estudo anterior sobre *M. jaboticaba* mostrou um aumento de cerca de quarenta e oito vezes no conteúdo de antocianinas quando o fruto passou de verde para maduro (Magalhães *et al.*, 1996b). Outras frutas também revelaram o mesmo aumento drástico nos níveis de pigmentos durante o amadurecimento, como mirtilo, oxicoco e romã (Fadda e Mulas, 2010; Vvedenskaya e Vorsa, 2004; Kulkarni e Aradhya, 2005).

Os valores de antocianinas totais das jabuticabas maduras (5,94 e 12,0 mg/g) foram superiores aos de *M. cauliflora* cultivada nos Estados Unidos da América (2,78 mg/g) (Reynertson *et al.*, 2008). Fatores climáticos, tais como a temperatura, podem ser responsáveis por essa diferença. A acumulação de antocianina é influenciada pela temperatura do ar, principalmente pela variação de temperatura entre o dia e a noite (Treutter, 2010). Como já foi relatado para os morangos, dias quentes e noites frescas aumentam a produção de pelargonidina e cianidina (Wang e Zheng, 2001).

Tabela 4. Médias das concentrações^a de antocianinas, taninos e fenóis totais (mg/g de peso seco) no fruto de jabuticaba e suas partes separadas durante quatro estágios de desenvolvimento.

DAA	Antocianinas				Taninos				Fenóis Totais			
	Sem.	Polpa	Casca	Fruto	Sem.	Polpa	Casca	Fruto	Sem.	Polpa	Casca	Fruto
16	0,84aA	0,42aA	0,43aD	0,56aD	7,75 aA	4,02 aA	7,27 aA	8,16 aA	18,0cA	13,7dA	34,2aA	24,2bA
23	0,70cA	0,58cA	2,16aC	1,34bC	6,61aB	3,90 aB	6,78 aB	7,20 aB	16,3cC	12,3dB	33,2aA	18,5 bB
30	0,57cA	0,45cA	12,5aB	5,94bB	6,97aB	3,15 aB	7,21 aB	7,06 aB	16,6bAB	6,8 dC	32,9aA	14,9cC
37	0,31cA	0,63cA	22,0aA	12,0bA	7,33aAB	3,12 aAB	7,44 aAB	6,88 aAB	17,0bAB	6,3dC	33,4aA	12,7cC

^a Valores são as médias (n=3). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Níveis de antocianinas em jabuticabas maduras são de importância crucial para a produção de vinho, uma vez que maiores quantidades de antocianinas extraídas dos

frutos irão melhorar as propriedades de cor e antioxidante do vinho (Tuberoso *et al.* 2007). A concentração de antocianina pode ser ainda outro parâmetro para o índice de maturidade, já que o seu nível cresce até maturação completa.

Taninos totais (condensados e hidrolisáveis) acumulam principalmente nas sementes e cascas, tendo cerca do dobro do conteúdo de taninos da polpa em todas as fases (Tabela 4). Quando o fruto passa de verde para de vez ocorre uma redução nos teores de taninos nas sementes (14,7%) e nas cascas (6,7%). Entretanto, nas últimas etapas da maturação os teores de taninos das sementes e cascas aumentam e chegam a níveis próximos dos iniciais. Esta tendência difere dos taninos encontrados nas cascas e sementes de uva, que geralmente apresentam declínio durante toda a etapa de amadurecimento (Obrique-Slier *et al.*, 2010).

A concentração de taninos na polpa da jabuticaba diminuiu continuamente em todas as etapas, principalmente entre as fases de vez e madura (19,2%). Este decréscimo no teor de taninos da polpa e do fruto inteiro é comum em outros frutos, tais como mirtilio e caqui (Fadda e Mulas, 2010; Del Bubba *et al.*, 2009), e pode ser devido à complexação dos taninos com pectinas solúveis formadas durante a maturação dos frutos (Magalhães *et al.*, 1996a).

Os outros fenóis da jabuticaba (ácidos fenólicos, depsídeos e flavonóides) (Reynertson *et al.*, 2006) somados aos taninos e antocianinas são dosados no ensaio de fenóis totais. As cascas contêm duas vezes mais fenóis do que as sementes e cinco vezes mais que a polpa no fruto muito maduro. Estudo feito com jabuticabas das variedades Sabará e Paulista mostrou a mesma tendência de concentração de fenóis totais, principalmente, nas cascas e em seguida nas sementes na proporção de 1,4:1 (Lima *et al.*, 2008). Tendência oposta foi observada para as variedades de uva Carménère e Cabernet Sauvignon em que o conteúdo de fenóis totais foi cerca de quinze vezes maior em comparação com sementes e cascas (Obrique-Slier *et al.*, 2010).

Durante a maturação do fruto os teores de fenóis tanto das sementes quanto das cascas não apresentaram alteração significativa, o que difere da polpa que teve uma redução de 45% da fase de vez para a madura. Já o fruto inteiro apresentou uma diminuição mais regular durante todo o desenvolvimento, tendo ao final uma concentração 52,4% menor de fenóis totais. Esta tendência de redução de fenóis totais durante o desenvolvimento do fruto foi observado também para romã, mirtilio e oxicoco (Kulkarni e Aradhya, 2005; Fadda e Mulas, 2010; Vvedenskaya e Vorsa, 2004).

Para a produção de vinho, a maturidade tem um efeito considerável na futura extração de compostos fenólicos e de cor durante a vinificação. Em termos gerais, a extração de antocianinas e proantocianidinas é significativamente maior quando as frutas estão maduras (Canals *et al.*, 2005).

4.2 Análise da fermentação da jabuticaba

Fortes, G. A. C., Naves, S. S., Ferri, P. H., Santos, S. C. Evaluation of Chemical Changes During Jabuticaba Fermentation by ^1H NMR Spectroscopy and Chemometric Analyses. Journal of Brazilian Chemical Society, 2012. (no prelo)

A produção do vinho de jabuticaba começa com a fermentação, onde as jabuticabas são esmagadas, sem triturar as sementes, e o mosto fica em contato com as cascas e sementes nos primeiros quatro dias, esta etapa é chamada de maceração. Após esta etapa o mosto é transferido para um barril de inox (descuba) onde a fermentação continua, mas sem a presença das cascas e sementes. Os teores de compostos fenólicos, açúcares, acidez e pH foram analisados durante os 14 primeiros dias de fermentação.

Os compostos fenólicos, especialmente as antocianinas e as proantocianidinas (taninos), são muito importantes para as características cromáticas e sensoriais de vinhos tintos (Busse-Valverde *et al.*, 2011).

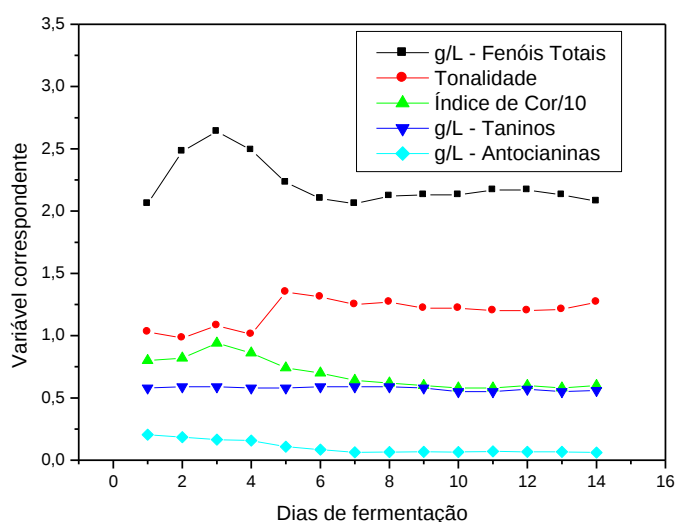


Figura 5. Variação de fenóis totais, tonalidade, índice de cor, taninos e antocianinas durante a fermentação da jabuticaba.

Analisando-se a figura 5, é possível notar que os teores de fenóis totais aumentam progressivamente do primeiro ao terceiro dia. Entretanto, no quarto dia de maceração e na descuba (5º dia) este teor diminuiu, provavelmente devido à queda na quantidade de antocianinas totais monoméricas (ATM) e à precipitação e/ou adsorção dos outros fenóis aos citratos e leveduras mortas (Lubbers *et al.*, 1994). O mesmo perfil foi observado na vinificação de uvas *Vitis vinifera* var. Monastrell (Bautista-Ortín *et al.*, 2007).

As antocianinas são substâncias coloridas formadas por antocianidinas (agliconas), que possuem a estrutura do cátion flavilium (Figura 6), associadas a açúcares e ácidos orgânicos. Esses compostos possuem pouca estabilidade, principalmente quando em contato com o ar, quando ocorrem reações de polimerização e oxidação enzimática (Wrolstad *et al.*, 2005).

A variação das antocianinas durante a fermentação da jabuticaba apresenta um aspecto atípico quando comparado à variação destes compostos na fermentação de uvas *Vitis vinifera*. Para estas, o conteúdo de antocianinas diminui somente após atingir um máximo, que ocorre nos primeiros dias de vinificação (Bautista-Ortín *et al.*, 2007). No entanto, observou-se para as jabuticabas (figura 5 e apêndice 1) apenas um decréscimo ao longo da fermentação, principalmente entre o 4º e o 5º dias, quando se dá a transferência para o tanque de inox. Nesta etapa ocorre uma grande aeração do mosto o que contribui ainda mais para a degradação e polimerização das antocianinas.

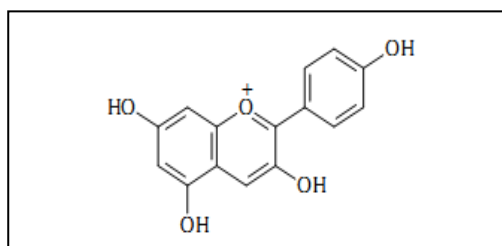


Figura 6. Cátion flavilium.

Os níveis de taninos permaneceram quase constantes durante os 14 dias de fermentação (figura 5 e apêndice 1). Este comportamento difere de resultados para vinhos de uva onde se observa geralmente um aumento contínuo de catequinas e proantocianidinas ao longo da maceração (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003; Koyama *et al.*, 2007).

Durante a fermentação houve 50% de consumo dos açúcares do mosto nas primeiras 96 horas, sendo que a fermentação finalizou no sexto dia (144 horas), quando a concentração de sólidos solúveis (ºBRIX) se estabilizou (Apêndice 1). O

tempo de fermentação depende principalmente da linhagem de levedura que é inoculada no mosto. Um estudo de vinificação da jabuticaba com treze isolados de *Saccharomyces* mostrou que a maioria das cepas finalizou a fermentação em cerca de 5 dias (Guimarães, 2006).

A evolução da fermentação também foi acompanhada por espectroscopia de RMN de ^1H , onde os açúcares, ácidos e álcoois foram quantificados (Apêndice 2, Figuras 7, 8 e 9). Através da ressonância de hidrogênio podemos observar que a proporção de glicose:frutose foi de aproximadamente 2:1 no início da fermentação, semelhante a Guimarães (2006) que constatou uma proporção de 2,4:1 no mosto da jabuticaba antes da fermentação. Comparativamente a sacarose adicionada ao mosto foi consumida mais rapidamente do que os monossacarídeos (Figura 7), demonstrando a eficiência das cepas selvagens em hidrolisar a sacarose.

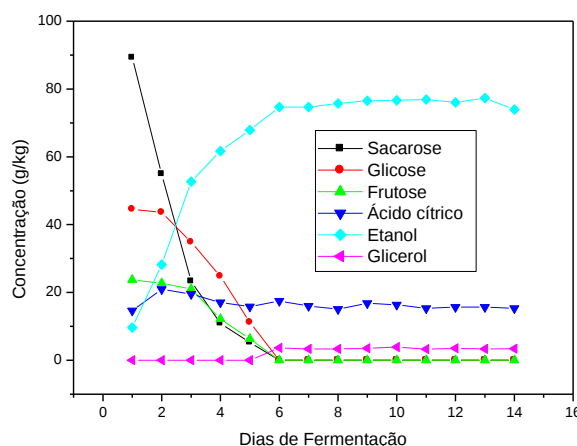


Figura 7. Variação de açúcares, álcoois e ácido cítrico durante a fermentação da jabuticaba.

A concentração de etanol aumentou drasticamente até o sexto dia quando atingiu um patamar com valores de 74 a 77 g/kg (Figura 7) o que comprovou o final da fermentação. Estes valores de aproximadamente 7,5% estão próximos do obtido com as treze linhagens de *Saccharomyces* que foram de 7,7 a 10% (Guimarães, 2006).

Glicerol, produto da fermentação, e metanol, derivado da hidrólise de pectinas, foram detectados somente a partir do sexto dia (Figuras 7 e 8, respectivamente e Apêndice 2), pois nos dias anteriores os sinais dos açúcares estavam se sobrepondo aos sinais destes álcoois. As concentrações de glicerol (Figura 7 e Apêndice 2) estão abaixo do valor normalmente encontrado em vinhos de uva, 0,5 a 1,5% em volume (Guerra e Barnabé, 2005). O glicerol é importante pelo seu sabor doce e untuoso, que confere maior maciez à bebida. Enquanto uma concentração maior de glicerol é

desejável, o teor de metanol está aceitável, pois deve ser mantido abaixo de 0,35 g/L (Silva *et al.*, 2008).

O ácido cítrico foi o ácido orgânico majoritário do mosto (Figura 7 e Apêndice 2), resultado semelhante ao obtido por Guimarães (2006) e que diferente de Jham e colaboradores (2007), que obtiveram ácido succínico como majoritário em duas variedades de jabuticaba. O ácido succínico também é produzido durante a fermentação e sua concentração atingiu um patamar de 1,17 g/kg após o oitavo dia de fermentação (Figura 8 e Apêndice 2). Quantidades elevadas de ácido succínico conferem ao vinho um gosto amargo e salgado (Duarte *et al.*, 2010).

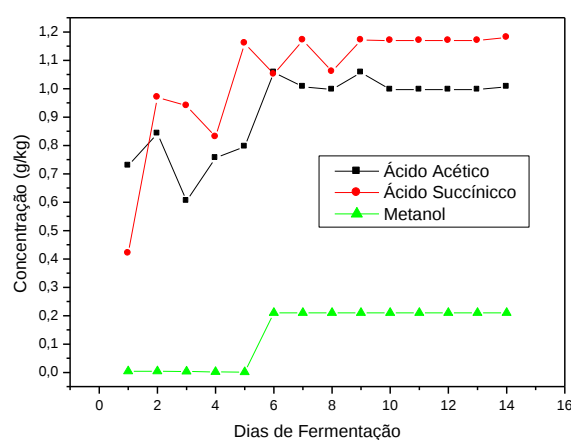


Figura 8. Concentração de ácido acético, ácido succínico e metanol durante a fermentação da jabuticaba.

O ácido tartárico, componente importante das uvas, não foi detectado na jabuticaba, como também observado em estudos anteriores (Guimarães, 2006; Jham *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2010). O ácido acético esteve presente desde o início da fermentação, o que indica a presença de leveduras não *Saccharomyces* que normalmente produzem uma quantidade maior desse ácido (Duarte *et al.*, 2010).

A acidez do mosto apresentou flutuações (Apêndice 1), com variação do pH de 3,32 a 3,61, estes valores concordam com dados obtido anteriormente para a jabuticaba e seu vinho (Guimarães, 2006, Lima *et al.*, 2008, Asquieri *et al.*, 2004). Segundo Dartiguenave (2000) os ácidos orgânicos e seus sais estão em equilíbrio atuando como tampão e mantendo o pH do mosto de 2,9 a 4. A acidez total variou de 11,9 a 16,1 g/L de ácido tartárico, quantidades bem acima do que é encontrado em vinhos de uvas *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* que variam de 5,0 a 8,6 g/L (Lee *et al.*, 2008; Son *et al.*, 2009).

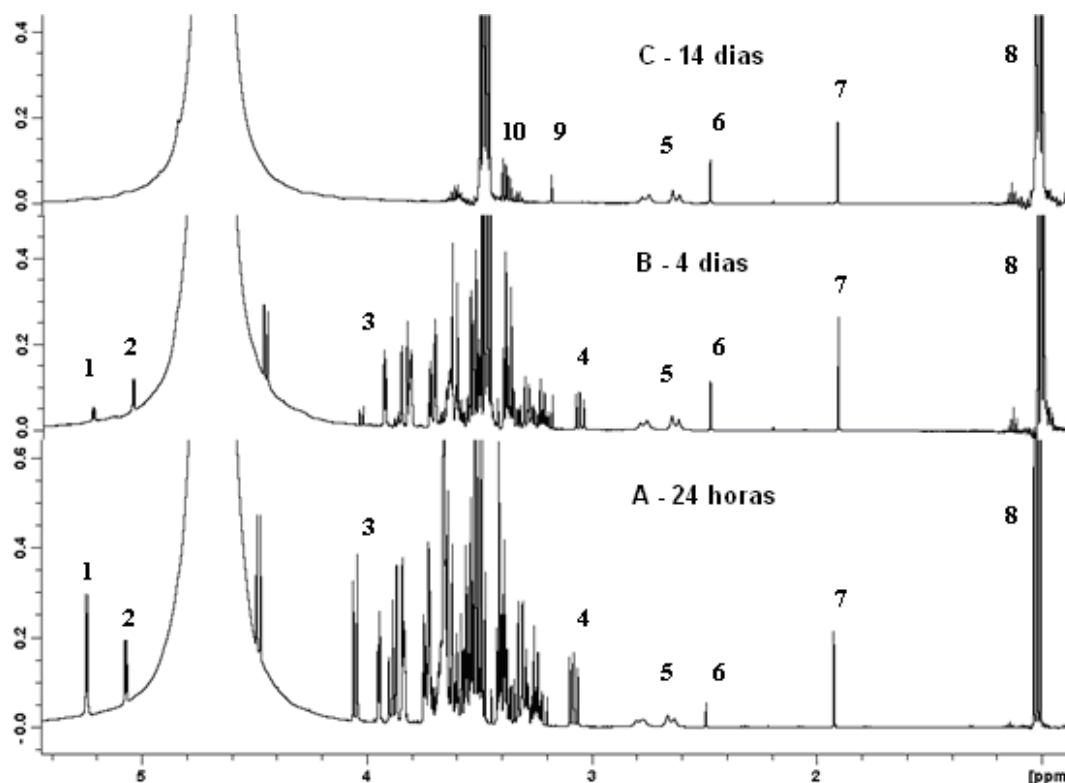


Figura 9. Evolução da fermentação do mosto da jabuticaba através de espectroscopia de RMN H^1 (500 MHz). Sinais: 1, sacarose; 2, α -glicose; 3, frutose; 4, β -glicose; 5, ácido cítrico; 6, ácido succínico; 7, ácido acético; 8, etanol; 9, metanol; 10, glicerol.

Os dados químicos obtidos na fermentação foram submetidos à Análise de Componentes Principais, como uma maneira de diminuir a dimensionalidade dos dados (42 amostras $\times$ 17 variáveis) e a fim de estabelecer as interrelações entre os parâmetros químicos medidos durante a fermentação da jabuticaba. A Análise de Agrupamentos foi utilizada para estudar as similaridades das amostras nas bases da distribuição dos seus componentes.

Os resultados obtidos mostraram a posição relativa dos indivíduos em um espaço discriminante em relação ao sistema axial originado pela PCA (Figura 10). A porcentagem de informação extraída dos dados nos dois primeiros eixos foi de 78,73%.

A Primeira Componente Principal (PC-1) separou todos os açúcares e fenóis dos compostos formados na fermentação: etanol, glicerol, metanol, ácido acético e ácido succínico. A Segunda Componente Principal (PC-2) separou a variável sacarose das variáveis acidez total e ácido cítrico.

A Análise de Agrupamentos mostra claramente a formação de dois grupos (Figura 11), os dados de cada grupo se encontram na tabela 5.

O grupo 1 foi caracterizado por amostras com maiores teores de frutose, glicose, ATM e índice de cor (19,90 g/kg; 36,95 g/kg; 177,88 mg/L e 0,86) localizadas na PC-1 negativa. Este grupo contém as amostras dos primeiros quatro dias de fermentação, onde o mosto fica em contato com as cascas e sementes dos frutos. Já o grupo 2 foi formado por amostras do quinto ao décimo quarto dia e estão agrupadas na PC-1 positiva. Este segundo grupo é caracterizado pelos maiores conteúdos de etanol, glicerol, metanol e ácido acético (75,02; 3,13; 0,19 e 0,99 g/kg) além de maior tonalidade e pH (1,25 e 3,49).

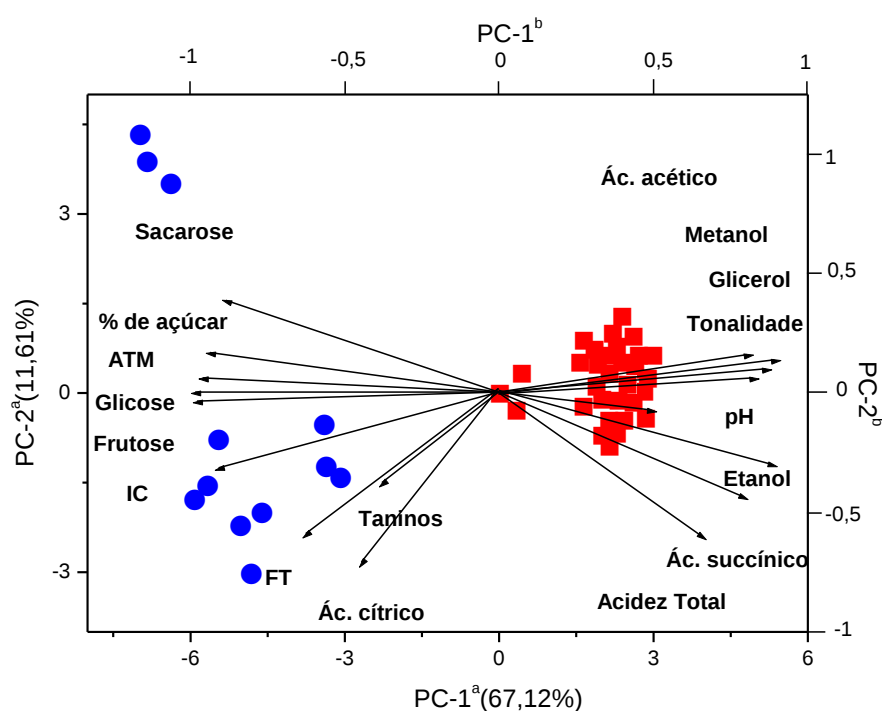


Figura 10. Gráfico gerado pela PCA dos parâmetros físico-químicos, constituintes fenólicos, açúcares e ácidos dos mostos de jabuticaba. As amostras foram agrupadas em dois grupos: I (●), II (■). ^aEixos referentes aos scores das amostras. ^bEixos referentes aos scores dos componentes, as variáveis discriminantes estão representadas pelos vetores.

A PC-2 separou as amostras do grupo I em mosto do 1º dia, rico em sacarose e com maior °Brix (89,23 g/kg e 18,93 °Brix), das amostras do 2º ao 4º dias, com maior quantidade de taninos, fenóis totais e ácido cítrico (0,59 g/L; 2,54 g/L e 19,17 g/kg).

Observaram-se correlações negativas entre: tonalidade e índice de cor ($p < 0,01$) e tonalidade e ATM ($p < 0,01$), além de forte correlação positiva entre índice de cor e ATM ($p < 0,01$). Isto significa que durante a fermentação houve degradação das antocianinas e diminuição do índice de cor e consequente aumento da tonalidade laranja (A_{420}).

Tabela 5. Açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, fenóis, acidez total e parâmetros de cor nos agrupamentos da fermentação da jabuticaba ^a.

Variáveis	Grupos	
	I	II
Sacarose (g/Kg)	44,68 ± 27,5 a	0,50 ± 0,9 b
Frutose (g/Kg)	19,90 ± 3,9 a	0,63 ± 1,1 b
Glicose (g/Kg)	36,95 ± 7,1 a	1,12 ± 2,0 b
Glicerol (g/Kg)	-	3,12 ± 0,8
Metanol (g/Kg)	-	0,19 ± 0,04
Etanol (g/Kg)	38,08 ± 19,1 a	75,02 ± 1,9 b
Ácido cítrico (g/Kg)	18,05 ± 2,2 a	15,96 ± 0,8 b
Ácido succínico (g/Kg)	0,79 ± 0,2 a	1,15 ± 0,1 b
Ácido acético (g/Kg)	0,73 ± 0,1 a	0,98 ± 0,1 b
pH	3,41 ± 0,1 a	3,49 ± 0,1 b
Acidez titulável (g/L)	13,9 ± 1,0 a	15,4 ± 1,0 b
Sólidos solúveis (°Brix)	14,89 ± 2,5 a	6,87 ± 0,1 b
Fenóis totais (g/L)	2,42 ± 0,2 a	2,10 ± 0,05 b
Taninos (g/L)	0,58 ± 0,01 a	0,57 ± 0,02 b
Antocianinas (g/L)	0,178 ± 0,002 a	0,065 ± 0,003 b
Índice de cor (ua)	0,86 ± 0,04 a	0,60 ± 0,02 b
Tonalidade	1,03 ± 0,03 a	1,25 ± 0,04 b

^a Baseado em dados originais. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey; – = não detectado.

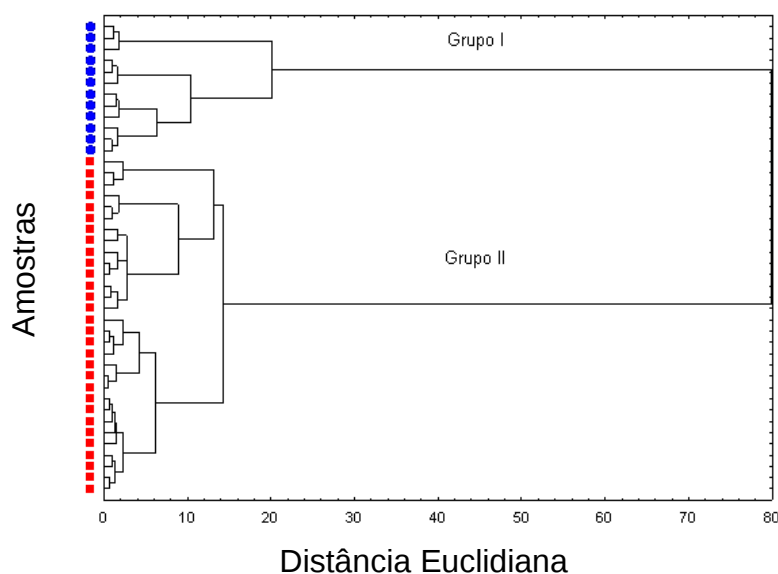


Figura 11. Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos dos quatorze dias de fermentação da jabuticaba. O grupo 1 (●) representa as amostras dos quatro primeiros dias de fermentação e o grupo 2 (■) representa as amostras do quinto dia ao décimo quarto dia.

Glories (1984) define índice de cor como as somas das densidades ópticas, medidas nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm. Em que o comprimento de onda de 420 nm indica a maior quantidade de tanino, polimerização dos taninos, e a combinação dos taninos com as antocianinas. O comprimento de onda de 520 nm,

indica a tendência da cor vermelha e maiores quantidades de antocianinas monoméricas e o comprimento de onda de 620 nm, indica a tendência a cor violeta-azul, produto das condensações entre catequinas e antocianinas.

Um maior índice de cor está relacionado à contribuição majoritária do comprimento de onda de 520 nm, que indica um maior conteúdo de antocianinas monoméricas, já os fatores que podem aumentar a tonalidade (A_{420}/A_{520}) são, de acordo com Freitas (2006), a polimerização dos taninos e a combinação dos mesmos com as antocianinas, fenômenos estes que aumentam o valor A_{420} .

Através da matriz de correlação, também é possível afirmar que o índice de cor apresenta forte correlação positiva com teores de fenóis totais e com taninos ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), indicando que os fenóis extraídos atuam como copigmentos que ajudam a intensificar e estabilizar a cor do mosto (Gambutti *et al.*, 2007). As antocianinas condensam com outros compostos fenólicos para formar pigmentos coloridos poliméricos (Wrolstad *et al.*, 2005). Diante disto, vários estudos têm sido realizados utilizando diferentes técnicas de vinificação a fim de compreender quais parâmetros são os mais adequados para se obter uma melhor extração e estabilização dos pigmentos (Canals *et al.*, 2005; Wrolstad *et al.*, 2005; Guerra, 2003 ; Busse-Valverde, 2011; Lee *et al.*, 2008).

O pH e a acidez total são importantes na estabilização das antocianinas que são anfóteras e conforme o pH esses pigmentos se encontram em diferentes formas e apresentam cores diversas (Freitas, 2006). As antocianinas apresentam correlação negativa com acidez total e pH (ambas $p < 0,05$). Em meio ácido, esses pigmentos se encontram na forma de sais de oxônio e são geralmente de cor vermelha brilhante. Com o aumento do pH, as antocianinas passam a ter uma estrutura quinoidal, púrpura, e em meio alcalino a cor muda para azul. Esses equilíbrios podem ser afetados por diversos fatores, entre os quais: luz, calor, presença de açúcar e de ácido ascórbico, razão pela qual nem sempre é possível determinar quais são as estruturas existentes em determinado pH (Bobbio e Bobbio, 2001).

Para conhecer a relação existente entre ácidos orgânicos, álcoois, acidez total e pH (conjunto 1) e fatores que indicam as características cromáticas de vinhos tintos, tais como: compostos fenólicos e variáveis de cor (conjunto 2), procedeu-se com a análise de correlação canônica. Um resumo da análise está apresentado na Tabela 6.

Esse método permite a avaliação de novas variáveis, chamadas variáveis canônicas (VC), que exibem a maior correlação possível entre dois conjuntos de dados. De fato, estes dois conjuntos foram fortemente correlacionados. Assim, o coeficiente de

correlação foi de 1,000 e 0,998 para os pares da primeira e segunda VC, que apresentaram λ de Wilks significativos ($1,1 \times 10^{-7}$ e 0,0002, respectivamente). Os dados são estatisticamente correlacionados e os valores de p para a primeira e a segunda VC foram $1,7 \times 10^{-6}$ e 0,004, respectivamente.

A análise revelou que os álcoois, acidez total, pH, ácidos succínico e acético (conjunto 1) apresentam correlação negativa com todos os compostos fenólicos e intensidade de cor e positiva com tonalidade (conjunto 2), o que pode ser observado na primeira VC, correspondendo as amostras dos dias de fermentação 5 a 14 (grupo 2). Além disso, existe moderada correlação positiva entre ácido cítrico e todos os fenóis, intensidade de cor e tonalidade (V1 e W1). Por outro lado, etanol, acidez total e ácidos cítrico, succínico e acético apresentam pequena relação com fenóis totais e intensidade de cor, segunda VC, o que está associado ao primeiros quatro dias de fermentação (Grupo 1).

Tabela 6. Sumário da análise de Correlação Canônica dos ácidos orgânicos, álcoois, acidez total, pH e compostos fenólicos e variáveis de cor com suas variáveis canônicas.

Ácidos orgânicos, pH, acidez total, e álcoois discriminantes (conjunto1)	Variável canônica		Compostos fenólicos e variáveis de cor (conjunto 2)	Variável canônica	
	V1	V2		W1	W2
Acidez total (g/100 mL)	0,694	0,389	ATM (mg/L)	-0,998	0,022
pH	0,602	-0,094	Taninos (g/L)	-0,481	0,172
Ácido cítrico (g/Kg)	-0,475	0,450	Fenóis totais (g/L)	-0,587	0,691
Ácido succínico (g/Kg)	0,856	0,300	índice de cor (ua)	-0,891	0,431
Ácido acético (g/Kg)	0,849	-0,385	Tonalidade	0,790	0,066
Glicerol (g/Kg)	0,909	-0,250			
Metanol (g/Kg)	0,912	-0,260			
Etanol (g/Kg)	0,928	0,327			
Autovalor				0,999	0,996
Correlação canônica				1,000	0,998
Lâmbda de Wilks				$1,1 \times 10^{-7}$	0,0002
Graus de liberdade				40	28
Valor de P				$1,7 \times 10^{-6}$	0,004
Variancia acumulada (%):					
dos discriminantes ácidos orgânicos, pH, acidez total e álcoois				63,0	73,5
dos discriminantes compostos fenólicos e variáveis de cor				59,8	73,8

Durante a fermentação alcoólica, os compostos fenólicos são transferidos para o vinho por difusão e a taxa de extração depende do seu tamanho molecular, solubilidade relativa e localização na baga. Antocianinas, ácidos fenólicos e flavonóides localizados nas cascas são muito solúveis em água e são extraídos rapidamente no início da fermentação. Taninos e flavan-3-óis localizados nas cascas e sementes são

menos solúveis em água, assim, sua extração aumenta com o tempo e a concentração de etanol (Buratti *et al.*, 2011).

No início da fermentação da jabuticaba, a concentração de etanol e dos ácidos succínico e cítrico não exercem qualquer influência sobre a extração de antocianinas e taninos, apenas em outros fenóis, possivelmente ácidos fenólicos, flavan-3-óis e flavonóides, que aumentaram nesse período. Estes fenóis podem atuar como copigmentos, o que foi evidenciado pelo aumento da intensidade de cor no terceiro dia, mesmo com menor concentração de antocianinas monoméricas. A copigmentação melhora a estabilização da cor (Wrolstad *et al.*, 2005).

A correlação negativa entre os compostos fenólicos, principalmente antocianinas, e os ácidos acético e succínico pode ser explicada inicialmente através da variação do pH. Durante a fermentação ocorreu uma diminuição significativa da concentração de ácido cítrico e aumento dos teores dos ácidos acético e succínico (Tabela 4), porém o ácido cítrico é o que possui menor pKa (3,13) sendo assim o ácido mais forte. Com a sua diminuição houve um aumento do pH (Tabela 5 e Apêndice), o que induz à degradação das antocianinas e diminuição do índice de cor, como já observado em vários trabalhos (Freitas, 2006). Outro fator que influencia o rendimento da extração de antocianinas é o tipo de ácido presente durante a maceração. Montes e colaboradores (2005) obtiveram uma extração mais efetiva de antocianinas de cascas de jabuticaba em meio alcoólico aquoso acidificado com ácido cítrico comparado com ácido acético. A redução do ácido cítrico durante a fermentação pode ter influenciado não apenas o pH do mosto, mas também a extração dos compostos fenólicos das cascas e sementes da jabuticaba.

4.3. Análise do envelhecimento de vinhos tintos de jabuticaba

Amostras de vinhos tintos de jabuticaba produzidos pela Vinícola Jabuticabal e engarrafados no período de 2001 a 2010 foram analisadas quanto aos seus compostos fenólicos, ácidos orgânicos, álcoois e variáveis cromáticas. Amostras dos anos 2005, 2009 e 2010 foram compostas por vinhos secos, enquanto as demais eram de vinhos suaves (com adição de açúcar). Não foi possível analisar o ano de 2004 por não ter amostras disponíveis.

Vários fatores contribuem para a qualidade dos vinhos, dentre eles está a acidez total que deve estar na faixa de 3,3 a 7,8 g/L (em ácido acético) (Torres Neto *et al.*, 2006). De todos os vinhos analisados apenas as amostras de 2001 se encontraram dentro dos limites permitidos (Tabela 7), todas as demais estão acima. Este fato

também foi observado em outros fermentados de jabuticaba (Silva *et al.*, 2008), além de outras frutas tropicais como laranja e caju (Torres Neto *et al.*, 2006). A elevada acidez altera as propriedades organolépticas da bebida e pode ser resultado de um menor controle na fermentação e na produção do vinho (Silva *et al.*, 2008).

Tabela 7. Médias (n=3) $\pm$ d.p. dos resultados de acidez total (g de ácido acético/L) e pH

	2001	2002	2003	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Acidez Total	7,7	9,5	10,6	9,5	10,7	10,0	9,5	10,4	10,2
	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,03$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,03$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,01$
pH	3,38	3,31	3,40	3,96	3,60	3,74	3,68	3,85	4,06
	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,01$

Com relação ao pH foram observados valores que variaram de 3,31 a 4,06 (Tabela 7), sendo que para vinhos tintos os valores deveriam estar entre 3,17 e 3,78 (Silva *et al.*, 2008). Fermentados com pH mais elevado possuem menos resistência ao ataque de microorganismos indesejáveis (Torres Neto *et al.*, 2006), como bactérias acéticas. Os maiores teores de ácido acético nas amostras dos vinhos de 2005, 2008, 2009 e 2010 (Tabela 8) podem ser consequência dos valores de pH mais elevados nestes vinhos. É importante ressaltar que os vinhos de 2010 apresentaram concentração de ácido acético acima da permitida pela legislação brasileira que é de no máximo 1,2 g/L (20 meq/L) (Silva *et al.*, 2008), este fato pode levar a uma alteração significativa do sabor e aroma da bebida.

Outros ácidos orgânicos também foram quantificados por espectroscopia de RMN de ^1H (Tabela 8). O ácido cítrico é o principal responsável pela alta acidez total dos vinhos. Este ácido que existe em grande quantidade na jabuticaba (Guimarães, 2006; Jham *et al.*, 2007) foi o que apresentou os maiores teores em todos os anos estudados, principalmente em 2009. Variações climáticas, tais como intensidade de luz, temperatura e chuvas, influenciam a síntese e metabolização deste ácido nos frutos (Son *et al.*, 2009), o que pode explicar a sua variação entre as safras. É recomendado na Europa que em vinhos de uva a sua concentração não ultrapasse 1g/L (Robinson, 2006).

O ácido succínico é também um ácido proveniente da jabuticaba (Guimarães, 2006; Jham *et al.*, 2007), além de ser produzido durante a fermentação. Seus teores dependem da cepa de levedura predominante, sendo que nos vinhos de uva as concentrações desse ácido variam de 0,5 a 1,5 g/L (Guerra e Barnabé, 2005). Nos vinhos de jabuticaba analisados, os teores variaram de 0,47 a 0,67 g/L (Tabela 7). Em um estudo recente (Duarte *et al.*, 2010) foi encontrado em média 5,11 g/L deste ácido

em vinhos de jabuticaba, este fato pode ser devido ao uso de diferentes variedades de jabuticabas na elaboração dos vinhos (Jham *et al.*, 2007).

O ácido láctico presente nos vinhos em concentrações abaixo de 0,59 g/L pode ter sido produzido pelas próprias leveduras durante a fermentação alcoólica, já que esta fonte fornece de 0,2 a 0,4 g/L deste ácido (Son *et al.*, 2009).

O teor de etanol variou na faixa de 10,08 a 12,57 % (v/v), esses valores estão dentro do que era esperado, pois o mosto foi corrigido para 22° BRIX antes do início da fermentação e teoricamente os vinhos teriam aproximadamente 11% (v/v) de grau alcoólico. Em análise feita com fermentados de jabuticaba produzidos artesanalmente no Estado de Minas Gerais, observou-se que 15 a 40% apresentaram teores abaixo de 10° GL (Silva *et al.*, 2008). Outros fermentados de frutas tropicais, tais como: cacau, cupuaçu, gabioba e umbu, também apresentaram teores abaixo de 10° GL, (Duarte *et al.*, 2010).

Tabela 8. Médias (n=3) $\pm$ d.p. das concentrações dos compostos presentes em vinhos de jabuticaba por RMN de ^1H .

Constituintes	2001	2002	2003	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Acetaldeído ¹	0,06 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
Glicerol* ¹	-	-	4,07 $\pm$ 0,43	1,66 $\pm$ 0,00	3,89 $\pm$ 0,50	-	-	1,59 $\pm$ 0,09	1,89 $\pm$ 0,18
Metanol ¹	0,07 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,00	0,11 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,00
Ác. cítrico ¹	5,91 $\pm$ 0,21	6,64 $\pm$ 0,58	8,12 $\pm$ 0,69	5,86 $\pm$ 0,25	8,04 $\pm$ 1,47	5,83 $\pm$ 1,72	7,15 $\pm$ 0,20	8,68 $\pm$ 0,42	5,90 $\pm$ 0,61
Ác. succínico ¹	0,50 $\pm$ 0,03	0,59 $\pm$ 0,04	0,67 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,08	0,47 $\pm$ 0,14	0,57 $\pm$ 0,06	0,56 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,05
Ác. acético ¹	0,37 $\pm$ 0,07	0,24 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,06	0,25 $\pm$ 0,05	0,62 $\pm$ 0,05	0,78 $\pm$ 0,03	1,69 $\pm$ 0,09
Ác. láctico ¹	0,07 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,00	0,10 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,06	0,11 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,04
Acetato de etila ¹	0,07 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,00	0,07 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,00
Etanol ²	10,56 $\pm$ 0,64	12,57 $\pm$ 2,30	12,47 $\pm$ 1,81	10,88 $\pm$ 1,06	11,28 $\pm$ 1,38	12,23 $\pm$ 1,26	10,73 $\pm$ 0,69	10,10 $\pm$ 0,82	10,08 $\pm$ 0,64
Álcoois ¹	0,23 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,10	0,12 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,00

¹ concentrações em g/L ² concentração em % (v/v) * quantificado apenas nos vinhos secos

Em relação aos outros alcoóis temos que a concentração de metanol ficou abaixo do limite permitido pela legislação que é de 0,35 g/L (Silva *et al.*, 2008) em todos os vinhos analisados, mostrando que não ocorreu elevada hidrólise de pectinas das cascas durante a maceração. Já o glicerol foi quantificado apenas nos vinhos secos,

pois nos vinhos suaves o sinal do glicerol ficou sobreposto pelos sinais dos açúcares nos espectros de RMN de ^1H . Esta substância é subproduto da fermentação alcoólica e foi formada em pequena quantidade (1,59 a 4,07 g/L), o que é prejudicial para a qualidade do vinho. O glicerol ajuda a dar maciez ao vinho e tem relação direta com a quantidade de etanol produzido, depende de fatores como sulfitação, temperatura da fermentação, cepa de levedura e concentração de açúcar (Son *et al.*, 2009). Geralmente em vinhos de uva os teores de glicerol ficam entre 5 e 15 g/L (Guerra e Barnabé, 2005), o que não ocorreu nos vinhos de jabuticaba analisados.

Os alcoóis superiores detectados em maior quantidade foram principalmente: 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) e 2-metil-1-propanol (álcool isobutílico). No ano de 2008 também pôde ser detectado o 2-metil-1-butanol (álcool amílico). Estes alcoóis foram quantificados em vinhos de jabuticaba e encontrou-se: 80,8; 34,5 e 16,4 mg/L de álcool isoamílico, álcool isobutílico e álcool amílico, respectivamente (Duarte *et al.*, 2010), somando-se temos 0,13 g/L que está dentro da faixa encontrada nos vinhos analisados, 0,12 a 0,26 g/L (Tabela 8). Os álcoois superiores devem estar em concentrações abaixo de 0,4 g/L, pois assim eles contribuem positivamente para o aroma do vinho (Torres Neto *et al.*, 2006), em concentrações maiores eles geram um odor desagradável de solvente. O acetato de etila é outro componente importante para o aroma do vinho, concentrações entre 50 e 80 mg/L conferem um odor agradável, mas teores acima de 200 mg/L diminuem a qualidade da bebida (Torres Neto *et al.*, 2006). As concentrações detectadas estão na faixa de 3 a 160 mg/L, ou seja, ainda dentro do limite aceitável. Duarte e colaboradores (2010) também obtiveram resultado dentro dos limites favoráveis, 54,7 mg/L, para vinhos de jabuticaba.

O acetaldeído é o principal aldeído encontrado em fermentados de frutas, em baixas concentrações ele contribui com um aroma agradável, porém em altas concentrações (700 mg/L) ele tem um odor irritante (Miyake e Shibamoto, 1993). Nos vinhos analisados, o acetaldeído foi detectado em apenas cinco safras (Tabela 7) e em quantidades baixas, 0,01 a 0,06 g/L. Resultado semelhante foi obtido com outros fermentados de jabuticaba, onde a média foi de 16,4 mg/L (Duarte *et al.*, 2010).

Quanto à coloração dos vinhos, foi observado que todos apresentaram uma cor castanha em uma primeira análise visual. Comparando os teores de compostos fenólicos (Tabela 9), podemos observar que as antocianinas monoméricas se encontram na faixa de 0,31 a 13,23 mg/L, ou seja, valores extremamente baixos. Os teores de antocianinas em vinhos de uva variam de 200 a 800 mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982), e dependem de vários fatores tais como condições climáticas, grau de

maturação da uva, variedade da uva (Mazza e Miniati, 1993) e idade do vinho (Somers e Evans, 1977; Mercúrio *et al.*, 2007).

Tabela 9. Médias (n=3) $\pm$ d.p. das concentrações dos compostos fenólicos e características cromáticas dos vinhos de jabuticaba.

	2001	2002	2003	2005	2006	2007	2008	2009	2010
ATM ¹ (mg/L)	0,31 $\pm$ 0,06	2,37 $\pm$ 1,07	5,27 $\pm$ 0,38	6,48 $\pm$ 0,95	0,45 $\pm$ 0,13	8,49 $\pm$ 0,51	4,65 $\pm$ 0,51	13,23 $\pm$ 0,13	9,30 $\pm$ 0,76
Taninos (g/L)	0,41 $\pm$ 0,00	0,54 $\pm$ 0,00	0,56 $\pm$ 0,00	0,46 $\pm$ 0,00	0,36 $\pm$ 0,00	0,50 $\pm$ 0,00	0,52 $\pm$ 0,00	0,67 $\pm$ 0,00	0,45 $\pm$ 0,00
FT ² (g/L)	1,73 $\pm$ 0,01	2,35 $\pm$ 0,01	2,31 $\pm$ 0,01	1,89 $\pm$ 0,01	1,84 $\pm$ 0,02	2,32 $\pm$ 0,01	2,21 $\pm$ 0,00	2,21 $\pm$ 0,01	2,25 $\pm$ 0,00
A _{420nm} (%)	52,44 $\pm$ 0,04	53,91 $\pm$ 0,06	51,91 $\pm$ 0,11	52,87 $\pm$ 0,08	52,99 $\pm$ 0,05	50,96 $\pm$ 0,00	54,48 $\pm$ 0,06	49,81 $\pm$ 0,09	50,56 $\pm$ 0,11
A _{520nm} (%)	28,43 $\pm$ 0,01	28,61 $\pm$ 0,04	29,90 $\pm$ 0,08	29,86 $\pm$ 0,11	28,68 $\pm$ 0,01	32,10 $\pm$ 0,00	29,18 $\pm$ 0,05	31,88 $\pm$ 0,05	30,94 $\pm$ 0,01
A _{620nm} (%)	19,13 $\pm$ 0,04	17,48 $\pm$ 0,10	18,19 $\pm$ 0,18	17,28 $\pm$ 0,02	18,34 $\pm$ 0,06	16,94 $\pm$ 0,00	16,34 $\pm$ 0,11	18,32 $\pm$ 0,04	18,50 $\pm$ 0,02
IC ³	5,08 $\pm$ 0,00	6,59 $\pm$ 0,00	6,06 $\pm$ 0,00	6,38 $\pm$ 0,00	5,24 $\pm$ 0,00	7,75 $\pm$ 0,00	8,01 $\pm$ 0,00	5,44 $\pm$ 0,01	5,91 $\pm$ 0,00
T ⁴	1,84 $\pm$ 0,00	1,88 $\pm$ 0,00	1,74 $\pm$ 0,00	1,77 $\pm$ 0,01	1,85 $\pm$ 0,00	1,59 $\pm$ 0,00	1,87 $\pm$ 0,00	1,56 $\pm$ 0,01	1,63 $\pm$ 0,00
IQ1	0,99 $\pm$ 0,01	1,02 $\pm$ 0,00	1,03 $\pm$ 0,01	0,98 $\pm$ 0,00	1,02 $\pm$ 0,01	0,95 $\pm$ 0,00	0,89 $\pm$ 0,00	0,78 $\pm$ 0,01	0,79 $\pm$ 0,00
IQ2	0,89 $\pm$ 0,00	0,88 $\pm$ 0,01	0,83 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,00	0,92 $\pm$ 0,00	0,85 $\pm$ 0,00	0,94 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,00	0,84 $\pm$ 0,00
IQ3	0,93 $\pm$ 0,01	0,89 $\pm$ 0,00	0,87 $\pm$ 0,01	0,80 $\pm$ 0,00	0,87 $\pm$ 0,00	0,85 $\pm$ 0,00	0,89 $\pm$ 0,00	0,78 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,00

¹ATM – antocianinas totais monoméricas, ²FT- fenóis totais, ³IC – índice de cor, ⁴T- tonalidade

As antocianinas monoméricas são responsáveis pela coloração avermelhada do vinho, ou seja, a absorção a 520 nm (cor vermelha) é normalmente mais alta do que a 420 nm (cor amarela) em vinhos jovens. Conforme o vinho envelhece as antocianinas polimerizam, condensam com outras moléculas e sofrem oxidações enzimáticas, ocorrendo um efeito hipocrômico a 520 nm e hiperocrômico a 420 nm (Heredia *et al.*, 1997; Bautista-Ortín *et al.* 2007). No caso dos vinhos de jabuticaba a absorção a 420 nm foi muito maior do que a 520 nm (Tabela 9), mesmo em vinhos jovens como os de 2010, demonstrando que durante a elaboração dos vinhos já ocorreram perdas significativas das antocianinas monoméricas.

Os índices de cor dos vinhos de jabuticaba estão abaixo dos valores normais dos vinhos de uva (Busse-Valverde *et al.*, 2011), enquanto tonalidades acima de 1,3 significam que a absorção de cor amarela predomina sobre a vermelha produzindo uma tonalidade castanha, o que é muito prejudicial para a aparência do vinho.

As concentrações de fenóis totais encontradas variaram de 1,73 a 2,35 g/L, valores que coincidem com os obtidos por Peynaud (1996), 0,9 a 2,5 g/L, e também com Singleton (1988), que encontrou valores entre 1,10 g/L e 2,84 g/L para vinhos

tintos. Os teores de taninos, que estão na faixa de 0,36 a 0,67 g/L, também são semelhantes aos resultados obtidos para quatro variedades de vinhos de uvas *Vitis vinifera*: Cabernet Sauvignon 0,41 g/L, Cabernet Franc 0,27 g/L, Merlot 0,38 g/L e Pinot noir 0,33 g/L (Cliff *et al.*, 2007). Esses resultados mostram que em termos de quantidade de taninos e fenóis totais os vinhos de jabuticaba se equivalem aos vinhos de uva, porém a jabuticaba possui os dois tipos de taninos, condensados e hidrolisáveis, enquanto que a uva possui apenas os condensados. Diferentes tipos de taninos podem ter comportamentos diferentes na estabilização das antocianinas. Este é um fator que precisa ser estudado com mais profundidade para uma melhor compreensão da pouca estabilidade das antocianinas nos vinhos de jabuticaba.

Os dados apresentados nas tabelas 7, 8 e 9 foram submetidos à análise estatística multivariada, onde utilizou-se Análise de Agrupamentos e de Componentes Principais para verificação das inter-relações existentes entre as diversas variáveis e os respectivos grupos formados. A análise de agrupamentos classificou as amostras em três grupos de acordo com a idade dos vinhos (figura 12), os dados de cada grupo se encontram na tabela 9. A PCA resultou em 84,39% de informação dos dados nos três primeiros eixos. Durante a análise constatou-se que as variáveis: ácido succínico, acidez total, taninos, fenóis totais, índice de cor e idade química 2 não contribuíram para a variância nos eixos considerados, por isso elas foram retiradas da análise.

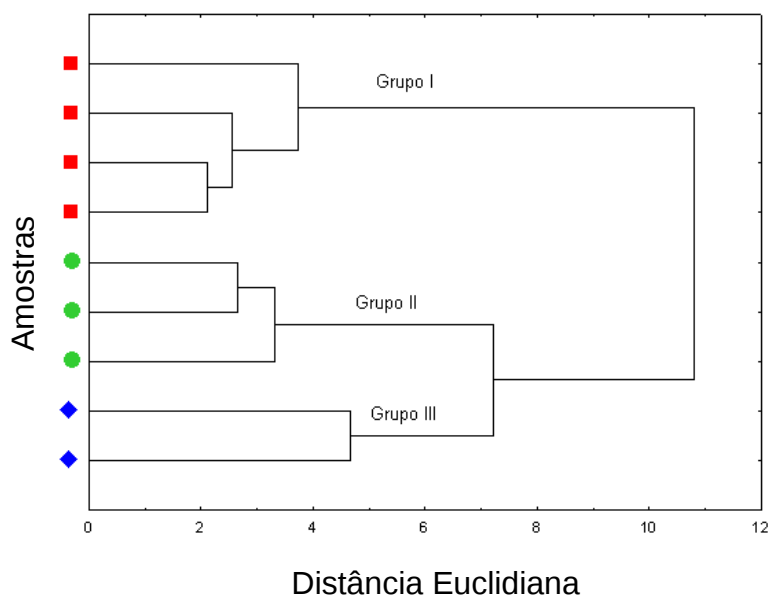


Figura 12. Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos dos vinhos de jabuticaba analisados. Grupo I (■) é formado pelos vinhos dos anos 2001, 2002, 2003, 2006, o grupo II (●), pelos vinhos 2005, 2007 e 2008 e o grupo III (◆) representa os vinhos 2009 e 2010.

Os resultados obtidos mostraram a posição relativa dos indivíduos em um espaço discriminante em relação ao sistema axial originado pela PCA (Figura 13).

A figura 13 A evidencia que a PC-1 separou os vinhos 2001, 2002, 2003 e 2006, grupo I, caracterizados pelas variáveis idade química 1 e 3, tonalidade (1,02; 0,89, 1,83), acetaldeído e álcoois (0,04 e 0,24 g/L) dos vinhos mais novos 2009 e 2010 (grupo III).

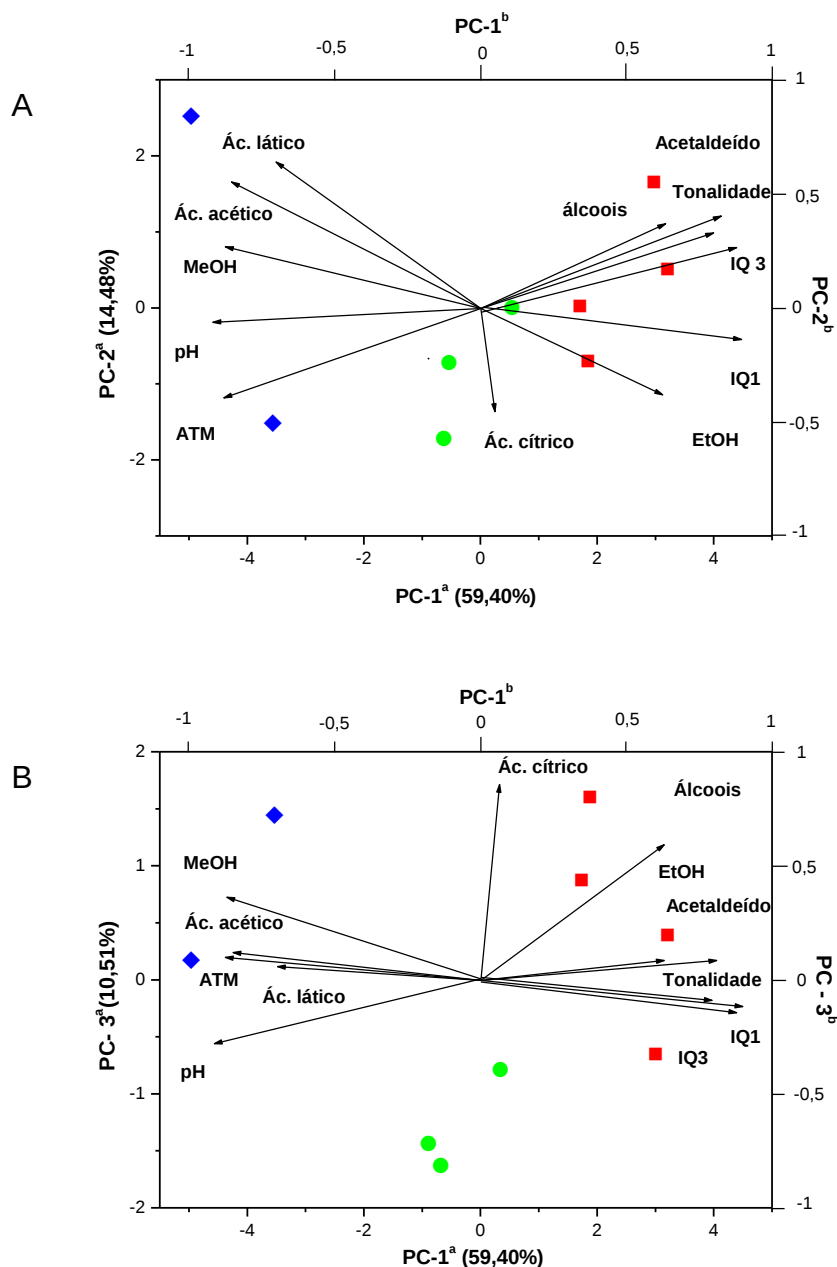


Figura 13. A - eixos 1 e 2, B – eixos 1 e 3 dos gráficos gerados pela PCA. Variáveis: parâmetros físico-químicos, constituintes fenólicos, ácidos e álcoois de vinhos de jabuticabas (2001 a 2010). As amostras foram agrupadas em três grupos: I (■), II (●), III (◆). ^aEixos referentes aos scores das amostras. ^bEixos referentes aos scores dos componentes, as variáveis discriminantes estão representadas pelos vetores.

O acetaldeído é um composto produzido pelas leveduras durante a fermentação ou por oxidação do etanol na presença de compostos fenólicos (Atanasova *et al.*, 2002). No envelhecimento dos vinhos tintos, as antocianinas combinam-se entre si ou com os taninos por meio de polimerização, originando moléculas de grande tamanho que precipitam ao longo do tempo. As reações de condensação entre antocianinas e taninos são intensificadas por pontes de acetaldeído (Romero e Bakker, 2000). E por esse processo, que dispensa a intervenção do oxigênio, se formam os depósitos de substâncias nas garrafas de vinho velho (Freitas, 2006). Com isso, os vinhos perdem intensidade de cor e adquirem uma tonalidade vermelho acastanhado (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003).

As variáveis idade química 1 e 3 indicam a proporção de antocianinas polimerizadas (Somers e Evans, 1977), mais abundantes nos vinhos mais velhos. Existe uma forte correlação negativa ($p < 0,05$) entre pH e as variáveis que se relacionam ao aumento dos pigmentos poliméricos: IQ1, IQ3 e tonalidade; em estudos anteriores foi observado que reações de polimerização podem ocorrer mais intensamente quando o vinho se encontra em baixos valores de pH e reduzidos teores de SO_2 (Ricardo-da-Silva *et al.*, 2003).

A determinação da idade da química (Somers e Evans, 1977) é baseada em medidas espectrais relacionadas ao equilíbrio das antocianinas e tem sido utilizado como um parâmetro indireto para prever o estado de envelhecimento de vinhos tintos.

Neste ensaio, o vinho é analisado em seu estado original e é então tratado com excesso de SO_2 , acetaldeído e ácido clorídrico para investigar o equilíbrio de antocianinas no vinho. As antocianinas monoméricas na presença de SO_2 sofrem descoloração, o que não ocorre com as antocianinas poliméricas. O acetaldeído se liga preferencialmente ao SO_2 presente no vinho, retirando assim o efeito descolorante. A adição de HCl faz com que as antocianinas monoméricas passem para sua forma mais colorida, porém a diminuição do pH não afeta as antocianinas poliméricas. Ou seja, maiores valores de idade química significam maior proporção de antocianinas polimerizadas, e estas são formadas no decorrer do envelhecimento dos vinhos (Somers e Evans, 1977).

O aumento da tonalidade (A_{420}/A_{520}), corresponde numa diminuição da absorção na região do vermelho (A_{520} nm) e do aumento da absorção na região do amarelo (A_{420} nm) no espectro UV-Vis dos vinhos (Glories, 1984).

Na PC-1(-) encontram-se os vinhos 2009 e 2010, grupo III, caracterizados por maiores teores de metanol, ácido acético e ácido lático (0,12; 1,23; 0,35 g/L), e maior

pH (3,96). Verifica-se que houve maior produção de ácido acético e lático em consequência do aumento do pH, que facilita a contaminação por bactérias acéticas e lácticas. Vinhos com pH elevado possuem fraca acidez total, são mais suscetíveis às alterações oxidativas e biológicas (Freitas, 2006).

O grupo II composto pelos vinhos 2005, 2007 e 2008 pode ser melhor analisado usando os eixos 1 e 3 (Figura 13B). Nestes anos houve menor produção pelas leveduras de álcoois superiores (amílico, isoamílico e isobutílico, 0,14 g/L).

Tabela 10. Médias $\pm$ d. p. das variáveis avaliadas para vinhos de jabuticaba para os três grupos obtidos na análise de agrupamentos.

Variáveis	Grupos		
	I	II	III
ATM (mg/L)	2,10 $\pm$ 2,04 c	6,54 $\pm$ 1,64 b	11,26 $\pm$ 2,00 a
Taninos (g/L)	0,47 $\pm$ 0,08 a	0,49 $\pm$ 0,02 a	0,56 $\pm$ 0,11 a
Fenóis Totais (g/L)	2,06 $\pm$ 0,27 a	2,14 $\pm$ 0,18 a	2,23 $\pm$ 0,02 a
Acidez total (g/L)	1,20 $\pm$ 0,15 a	1,21 $\pm$ 0,03 a	1,28 $\pm$ 0,01 a
pH	3,42 $\pm$ 0,12 b	3,79 $\pm$ 0,13 a	3,96 $\pm$ 0,12 a
Índice de cor (ua)	0,29 $\pm$ 0,03 a	0,37 $\pm$ 0,04 b	0,28 $\pm$ 0,01 a
Tonalidade	1,83 $\pm$ 0,05 a	1,74 $\pm$ 0,11 ab	1,60 $\pm$ 0,03 b
IQ1	1,02 $\pm$ 0,02 a	0,94 $\pm$ 0,04 b	0,788 $\pm$ 0,05 c
IQ2	0,88 $\pm$ 0,03 a	0,86 $\pm$ 0,05 ab	0,78 $\pm$ 0,07 b
IQ3	0,89 $\pm$ 0,02 a	0,84 $\pm$ 0,03 b	0,792 $\pm$ 0,008 c
Ácido cítrico (g/L)	7,18 $\pm$ 1,18 b	6,28 $\pm$ 1,03 c	7,29 $\pm$ 1,45 a
Ácido succínico (g/L)	0,62 $\pm$ 0,09 a	0,55 $\pm$ 0,09 a	0,62 $\pm$ 0,06 a
Ácido acético (g/L)	0,32 $\pm$ 0,06 a	0,46 $\pm$ 0,16 a	1,23 $\pm$ 0,45 a
Ácido lático (g/L)	0,08 $\pm$ 0,01 a	0,11 $\pm$ 0,03 a	0,35 $\pm$ 0,24 a
Acetaldeído (g/L)	0,04 $\pm$ 0,02 a	0,0057 $\pm$ 0,0061 b	0,00 $\pm$ 0,00
Álcoois (g/L)	0,24 $\pm$ 0,05 a	0,14 $\pm$ 0,04 a	0,17 $\pm$ 0,02 b
Metanol (g/L)	0,08 $\pm$ 0,01 c	0,08 $\pm$ 0,01 b	0,12 $\pm$ 0,01 a
Etanol (% v/v)	11,71 $\pm$ 1,59 a	11,28 $\pm$ 1,08 ab	10,09 $\pm$ 0,60 b
Glicerol (g/L)	1,99 $\pm$ 2,01 a	0,55 $\pm$ 0,78 b	1,74 $\pm$ 0,19 b

Variáveis seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem significativamente a nível de 5% pelo teste de Tukey. A variável Fenóis totais se mostrou significativa a 1%.

A cor de vinhos tintos depende, além dos vários aspectos já apresentados, da idade do vinho. Os parâmetros cromáticos dos vinhos tintos podem ser seriamente modificados durante o envelhecimento (Somers e Evans, 1977). A análise de correlação canônica foi importante para verificar a relação existente entre as variáveis nomeadas idade química - IQ (conjunto 2) e outras variáveis intrínsecas ao vinho, tais como etanol, antocianinas monoméricas, taninos, pH, acidez total e ácido cítrico (conjunto 1). O sumário da análise se encontra na Tabela 10, onde se verifica que os dois conjuntos de variáveis avaliados se correlacionaram fortemente, apresentando coeficiente de correlação igual a 1,000, lâmbda de Wilks significativo, $1,51 \times 10^{-17}$, além do valor de p da ordem de $2,19 \times 10^{-16}$.

Tabela 11. Sumário da análise de Correlação Canônica de etanol, antocianinas, taninos, pH, acidez total, ácido cítrico e idade química.

Etanol, ATM, taninos, pH, acidez total, ácido cítrico (conjunto 1)	Variável canônica V 1	Idade Química (conjunto 2)	Variável canônica W 1
Etanol	-0,524	IQ 1	-0,738
ATM	0,785	IQ 2	-0,431
Taninos	0,118	IQ 3	-0,874
pH	0,950		
Acidez Total	0,519		
Ácido cítrico	-0,045		
Autovalor			1,000
Correlação canônica			1,000
Lâmbda de Wilks			$1,51 \times 10^{-17}$
Graus de liberdade			18
Valor de P			$2,19 \times 10^{-16}$
Variância acumulada (%):			
Dos discriminantes etanol, ATM, taninos, pH, acidez total, ácido cítrico			34,6
Dos discriminantes idade química			49,8

A análise confirmou a forte correlação negativa entre as variáveis do conjunto 2: IQ1 (A_{SO2}/A_{CH3CHO}), IQ2 (A_{SO2}/A_{HCl}) e IQ3 (A_{SO2}/A_{520}) e o pH, ATM e acidez total (conjunto 1). Dentro do conjunto 1, foram observadas correlações positivas entre ATM e acidez total e negativa entre ATM e etanol. As correlações com taninos e ácido cítrico são muito fracas e não foram consideradas.

A combinação de alta acidez total, maiores valores de pH e menores concentrações de etanol aparentemente favorece a uma melhor estabilização das antocianinas monoméricas. Nesta condição, pode ocorrer menor polimerização e/ou maior estabilidade dos complexos entre as antocianinas e os seus copigmentos (Somers e Evans, 1977).

Levando-se em consideração que muito pouco se conhece da composição química da jabuticaba, ainda serão necessários muito mais estudos para uma melhor compreensão das transformações que as antocianinas e seus copigmentos sofrem durante o envelhecimento do vinho. Além das consequências destas transformações para a coloração do vinho.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação das transformações químicas ocorridas durante a maturação da jabuticaba, permitiu sugerir que o estágio correspondente ao 37^o DAA é o melhor período de coleta deste fruto para produção de vinhos tintos. Neste período, os frutos apresentaram maior proporção açúcar/ácido, oferecendo condições ideais para a fermentação alcoólica; além de maior teor de antocianinas, imprescindível para a determinação da cor de vinhos tintos.

O estudo da fermentação revelou que o teor alcóolico ficou dentro dos padrões encontrados na literatura. Porém, alguns fatores indesejáveis, como acidez total elevada, alto teor de ácido acético e redução na concentração de antocianinas monoméricas durante todo o processo industrial, sugerem que deve-se ter um maior rigor durante a vinificação da jabuticaba.

As investigações sobre o envelhecimento de vinhos tintos de jabuticaba confirmaram a importância da acidez total e do pH na estabilidade e polimerização de antocianinas.

As análises multivariadas utilizadas mostraram-se apropriadas para avaliar as variações sofridas pelos componentes químicos e parâmetros físico-químicos da fermentação e maturação de vinhos de jabuticaba. Mostrando uma linearidade nos agrupamentos de acordo com o tempo de evolução das mudanças.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agostini, J. S.; Cândido, A. C. S.; Teodósio, T. K. C.; Rodrigues, J. N.; Garcete, G. J.; Scalón, S. P. Q. Modified atmosphere and storage conditions in jaboticabas cv 'paulista' physicochemistry characteristics. *Ciência Rural*, v. 39, p. 2601-2608, 2009.

Amaral, F. M.; Caro, M. S. B. Investigation of different pre-concentration methods for NMR analyses of Brazilian white wine. *Food Chemistry*, v. 93, p. 507-510, 2005.

Andersen, O.; Andersen V. U. *As frutas silvestres brasileiras*. São Paulo, Globo, p.203, 1989.

Arts, I. C. W.; Hollman, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 81, n. 1, p. 317-325, 2005.

Asquiere, E. R.; Damiani, C.; Candido, M. A.; Assis, E. M. *Vino de jaboticaba (Myrciaria cauliflora Berg): estudo de las características físico químicas y sensoriales de los vinos tintos seco y dulce, fabricados con la fruta integral*. *Alimentaria*, v. 355, p.111-121, 2004.

Atanasova, V.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, v. 458, p. 15-27, 2002.

Barros, R. S.; Finger, F. L.; Magalhães, M. M. Changes in non-structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. *Scientia Horticulturae*, v. 66, p. 209-215, 1996.

Bautista-Ortín, A. B.; Fernández-Fernández, J. I.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 546–552, 2007.

Benoit, M. A.; D'Aprano, G.; Lacroix, M. Effect of gamma-irradiation on phenylalanine ammonia-lyase activity total phenolic content, and respiration of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 6312–6316, 2000.

Benzécri, J. P. *L'Analyse des Données: la Taxinomie*. Tome 1, Paris, Dunod, 1980.

Berregi, I.; Santos, J. I.; Campo, G.; Miranda, J. I. Quantitative determination of (-)-epicatechin in cider apple juices by ¹H NMR. *Talanta*, v. 61, p. 139-145, 2003.

Bobbio P. A.; Bobbio, F. O. *Química do Processamento de Alimentos*. 3^o ed. Campinas, Varela, p.143, 2001.

Boido, E.; Alcalde-Eon, C.; Carrau, F.; Dellacassa, E.; Rivas-Gonzalo, J. C. Aging Effect on the Pigment Composition and Color of *Vitis vinifera* L. Cv. Tannat Wines. Contribution of the Main Pigment Families to Wine Color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 6692–6704, 2006.

Brasil. Lei n. 7678-08 out. 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Brasília: Ministério da Agricultura e de Abastecimento.

Buratti, S.; Ballabio, D.; Giovanelli, G.; Zuluanga-Dominguez, C. M.; Moles, A.; Benedetti, A.; Sinelli, N. Monitoring of alcoholic fermentation using near infrared and mid infrared spectroscopies combined with electronic nose and electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, v. 697, p. 67-74, 2011.

Busse-Valverde, N.; Gómez-Plaza, E.; López-Roca, J. M.; Gil-Muñoz, R.; Bautista-Ortín, A. B. The Extraction of Anthocyanins and Proanthocyanidins from Grapes to Wine during Fermentative Maceration Is Affected by the Enological Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 5450-5455, 2011.

Canals, R.; Llaudy, M. C.; Valls, J.; Canals, J. M.; Zamora, F. Influence of Ethanol Concentration on the Extraction of Color and Phenolic Compounds from the Skin and Seeds of Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 4019–4025, 2005.

Chinnici, F.; Natali, N.; Sonni, F.; Bellachiona, A.; Riponi, C. Comparative Changes in Color Features and Pigment Composition of Red Wines Aged in Oak and Cherry Wood Casks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 6575-6582.

Clark, S.; Barnett, N. W.; Adams, M.; Cook, I. B.; Dyson, G. A.; Johnston, G. Monitoring a commercial fermentation with proton nuclear magnetic resonance spectroscopy with the aid of chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, v. 563, p. 338–345, 2006.

Cliff, M. A.; King, M. C.; Schlosser, J. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Research International*, v. 40, p. 92–100, 2007.

Conde, C.; Silva, P.; Fontes, N.; Dias, A. C. P.; Tavares, R. M.; Sousa, M. J.; Agasse, A.; Delrot, S.; Gerós, H. Biochemical Changes throughout Grape Berry Development and Fruit and Wine Quality. *Food Global Science Books*, v. 1, n. 1, p. 1-22, 2007.

Corrêa, M. O.; Pinto, D. D.; Ono, E. O. Análise da atividade respiratória em frutos de jabuticabeira. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, p. 831-833, 2007.

Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J. M.; Laureano, O. Products Formed in Model Wine Solutions Involving Anthocyanins, Procyandin B2, and Acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, p. 2402–2407, 1996.

Dartiguenave, C.; Jeandit, P.; Maujean, A. Study of the contribution of major organic acids of wine to the buffering capacity of wine in model solutions. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 51, n. 4, p. 352-356, 2000.

Del Bubba, M., Giordani, E.; Pippucci, L.; Cincinelli, A.; Chencchini, L.; Galvan, P. Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 22, p. 668-677, 2009.

Donadio, L, C. Cuidados com a jaboticabeira. São Paulo: O Estado de São Paulo, p. 16, 1983.

Duarte, W. F.; Dias, D. R.; Oliveira, J. M.; Teixeira, J. A.; Silva, J. B. A.; Schwan, R. F. Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabioba, jaboticaba and umbu. *LWT - Food Science and Technology*, v. 43, p. 1564-1572, 2010.

Duarte, A. R.; Santos, S. C.; Seraphin, J. C.; Ferri, P. H. Influence of spatial, edaphic and genetic factors on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 23, p. 737-746, 2012.

Escarpa, A.; González, M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, v. 427, p. 119-127, 2001.

Fadda, A.; Mulas, M. Chemical changes during myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*, v. 125, p. 477-485, 2010.

Fanzone, M.; Zamora, F.; Jofré, V.; Assof, M.; Pena-Neira, A. Phenolic Composition of Malbec Grape Skins and Seeds from Valle de Uco (Mendoza, Argentina) during Ripening. Effect of Cluster Thinning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 6120–6136, 2011.

Freitas, D. M. Variação dos compostos fenólicos e de cor dos vinhos de uvas (*Vitis vinifera*) tintas em diferentes ambientes. Santa Maria, Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

Fulcrand, H.; Benabdeljalil, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry*, v. 47, p. 1401-1407, 1998.

Gambutì, A.; Strollo, D.; Erbaggio, A.; Lecce, L.; Moio, L. Effect of Winemaking Practices on Color Indexes and Selected Bioactive Phenolics of Aglianico Wine. *Journal of Food Science*, v. 72, n. 9, p. 5623-5628, 2007.

Ginjom I.; D'Arcy, B.; Caffin, N.; Gidley, M.; Phenolic compound profiles in selected Queensland red wines at all stages of the wine-making process. *Food Chemistry*, v. 125, p. 823-834, 2011.

Giovannoni, J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 52, p. 725-749, 2001.

Glories, Y. La couleur des vins rouges. 1^a partie: Les equilibres des anthocyanes et des tanins. France, *Connaissance de la Vigne et du Vin*, v. 18, n. 4, p. 195-217, 1984.

Gómez-Míguez, M. J.; Gómez-Míguez, M.; Vicário, I. M.; Heredia F. J. Assessment of colour and aroma in white wines vinifications: Effects of grape maturity and soil type. *Journal Food Engineering*, v. 79, p. 758-764, 2007.

Guerra, C. C. Influência de parâmetros enológicos da maceração na vinificação em tinto sobre a evolução da cor e a qualidade do vinho. *Anais do X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia*, p 15-18, 2003.

Guerra, C. C.; Barnabé, D. Vinho. In: Venturini Filho, W. G. (Org.) *Tecnologia de bebidas – matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado*. São Paulo, Edgard Blücher, p 423-451, 2005.

Guimarães, D. P. Avaliação de estresse e do potencial fermentativo de isolados de *Saccharomyces* na microvinificação da jabuticaba, Lavras, Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, 2006.

Haminiuk, C. W. I.; Plata-Oviedo, M. S. V.; Guedes, A. R.; Stafussa, A. P.; Bona, E.; Carpes S. T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 46, p. 1529-1537, 2011.

Heredia, F. J.; Troncoso, A. M.; Guzmán-Chozas, M. Multivariate characterization of aging status in red wine based on chromatic parameters. *Food Chemistry*, v. 60, n. 1, p. 103-108, 1997.

Hornsey, I. *The Chemistry and Biology of Winemaking*. The Royal Society of Chemistry, p. 114-200, 2007.

Hudec, J.; Burdová, M.; Kobida, L.; Komora, L.; Macho, V.; Kogan, G.; Turianica, I.; Kochanová, R.; Lozek, O.; Habán, M.; Chlebo, P. Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion

(*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 5689–5696, 2007.

Ivanova V.; Dörnyei, Á.; Márk, L.; Vojnoski, B.; Stafilov, T.; Stefova, M.; Kilár, F. Effect of the Winemarking Practices and Aging on Phenolic Content of Smederevka and Chardonnay Wines. *Food Bioprocess Technology*, v. 4, p. 1512–1518, 2011.

Jham, G. N.; Fernandes, S. A.; Garcia, C. F., Palmquist, D. Comparison of GC and HPLC for quantification of organic acids in two jaboticaba (*Myrciaria*) fruit varieties. *Química Nova*, v. 30, n. 7, p. 1529-1534, 2007.

Kosir, I. J.; Kidric, J. Use of modern nuclear magnetic resonance spectroscopy in wine analysis determination of minor compounds. *Analytica Chimica Acta*, v. 458, p. 77-84, 2002.

Koyama, K.; Goto-Yamamoto, N.; Hashizume, K. Influence of maceration temperatura in red wine vinification extraction of phenolics from berry skins and sedes of grape (*Vitis vinífera*). *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, v. 71, n. 4, p. 958-965, 2007.

Kulkarni, A. P.; Aradhya, S. M. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, v. 93, p. 319-324, 2005.

Lambrechts, M. G.; Pretorius, I. S. Yeast and its importance to wine aroma- a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, v. 21, p. 97-129, 2000.

Lebart, L.; Morineau, A.; Piron, M. Système *SAPD* pour windows, version 5.0. Paris, CISIA-CERESTA, 2001.

Lee, J.; Kennedy, J. A.; Devlin, C.; Redhead, M.; Rennaker, C. Effect of early seed removal during fermentation on proanthocyanidin extraction in red wine: A commercial production example. *Food Chemistry*, v. 107, p. 1270–1273, 2008.

Leite, A. V., Malta, L. G., Riccio, M. F.; Eberlin, M. N., Pastore, G. M., Maróstica Jr, M. R. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 2277-2283, 2011.

Lima, U. A.; Basso, L. C.; Amorim, H. V. Produção de etanol. In: Lima, U.; Aquarone, E.; Borzani, W.; Schmidell, (coords). *Processos fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Editora Edgard Blücher, v. 3, p. 1-39, 2001.

Lima, A. J. B.; Corrêa, A. D.; Alves, A. P. C.; Abreu, C. M. P.; Dantas-Barros, A. M. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

Lima, A. J. B.; Corrêa, A. D.; Dantas-Barros, A. M.; Nelson, D. L.; Amorim, A. C. L. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, p. 540-550, 2011.

Lorenzi, H.; Sartori, S. F.; Bacher, L. B.; Lacerda, M. T. C. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura). São Paulo, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p. 218, 2006.

Lubbers, S.; Charpentier, C.; Feuillat, M.; Voilley, A. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 45, p. 29–33, 1994.

Macedo-Costa, M. R., Diniz, D. N., Carvalho, C. M., Pereira, M. S. V., Pereira, J. V., Higino, J. S. Effectiveness of the *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. extract on oral bacteria. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, p. 565-571, 2009.

Magalhães, M. M.; Barros, R. S.; Finger, F. L. Changes of structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. *Scientia Horticulturae*, v. 66, p. 17-22, 1996a.

Magalhães, M. M.; Barros, R. S.; Lopes, N. F. Growth relations and pigment changes in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. *Journal Horticultural Science*, v. 71, p. 925-930, 1996b.

Mateus, N. A química dos sabores do vinho – os polifenóis. *Revista Real Academia Galega de Ciências*. Vol. XXVIII. p. 5-22, 2009.

Mazza, G.; Miniati, E. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Canada: CCR Press-Boca Raton, p. 362, 1993.

Meletti, L. M. M. Propagação de frutíferas tropicais. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, p. 145-153, 2000.

Mello, J. C. P.; Santos, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. A. et. al. (Org.) *Farmacognosia; da planta ao medicamento*, 5^a ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/ EDUFSC, p 615-656, 2003.

Mercurio, M. D.; Dambergs, R. G.; Herderich, M. J. E Smith, P. A. High Throughput Analysis of Red Wine and Grape Phenolics. Adaptation and Validation of Methyl Cellulose Precipitable Tannin Assay and Modified Somers Color Assay to a Rapid 96 Well Plate Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 4651–4657, 2007.

Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

Miyake, T.; Shibamoto, T. Quantitative analysis of acetaldehyde in foods and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 41, n. 11, p. 1968-1970, 1993.

Montes, C.; Vicario, I. M.; Raymundo, M.; Fett, R.; Heredia, F. J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from Jaboticaba (*Myrcia Jaboticaba* Berg.). *Food Research International*, v. 38, p. 983-988, 2005.

Muniz, C. R.; Borges, M. F.; Abreu, F. A. P.; Tieko, R. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.

Obreque-Slier, E.; Peña-Neira, A.; López-Solís, R. L.; Zamora-Marín, F.; Ricardo-Da-Silva, J. M.; Laureano, O. Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 3591–3599, 2010.

Pereira, G. E.; Gaudillere, J. P.; Van Leeuwen, C.; Hilbert, G.; Lavialle, O.; Maucourt, M.; Deborde, C.; Moing, A.; Rolin, D. ¹H NMR and chemometrics to characterize mature grape berries in four wine-growing areas in Bordeaux, France. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 6382-6389, 2005.

Peynaud, E. *Enologia Práctica: Conocimiento y elaboración del vino*. 2 ed. Madrid : Mundi-Prensa., p. 406, 1996.

Reynertson, K. A.; Wallace, A.M.; Adachi, S.; Gil, R. R.; Yang, H.; Basile, M. J.; D'armiento, J.; Weinstein, I. B.; Kennelly, E. J. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Journal of Natural Products*, v. 69, n. 8, p. 1228–1230, 2006.

Reynertson, K. A.; Yang, H.; Jiang, B.; Barsile, M. J.; Kennelly, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, v. 109, p. 883–890, 2008.

Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P.; Ribéreau-Gayon, P. *Sciences et techniques du vin*. Paris: Dunod, p. 643, 1982.

Ricardo-Da-Silva, J. M.; Sousa, I.; Laureano, O. Factores condicionantes dos processos de vinificação e conservação na cor de vinhos portugueses. *Anais do X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia*. p 69-86, 2003.

Robinson, J. *The Oxford Companion to Wine*, 3^o ed., Oxford University Press, p. 171, 2006.

Romano, P.; Suzzi, G.; Brandolini, V.; Menziani, E., Domizio, P. Determination of 2,3 butanodiol in high and low acetoin producers of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts

by automated multiple development (AMD). Letters in Applied Microbiology, v. 22, n. 4, p. 299-302, 1996.

Romero, C.; Bakker, J. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. International Journal of Food Science and Technology, v. 35, p. 129-140, 2000.

Silva, P. H. A.; Faria, F. C.; Tonon, B.; Mota, S. J. D.; Pinto, V. T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) Química Nova, v. 31, n. 3, p. 595-600, 2008.

Singleton, V. Wine phenols. Modern methods of plant analysis. New York: Springer Verlag., v. 6, p.173-217, 1988.

Somers, T. C.; Evans, M. E. Spectral Evaluation of Young Red Wines: Anthocyanin Equilibria, Total Phenolics, Free and Molecular SO₂, "Chemical Age". Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 28, p. 279-287, 1977.

Son, H-S.; Hwang, G-S.; Ahn, H-J.; Park, W-M.; Lee, C-H.; Hong, Y-S. Characterization of wines from grape varieties through multivariate statistical analysis of ¹H NMR spectroscopic data. Food Research International, v. 42, p. 1483–1491, 2009.

Souza-Moreira, T. M.; Moreira, R. R. D.; Sacramento, L. V. S.; Pietro, R. C. L. R. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, Myrtaceae, leaves. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, p. 48-53, 2010.

Stanbury, P. F.; Whitaker, A.; Hall, S. J. Principles of fermentation technology. 2.ed. Great Britain: Pergamon, p.357, 1995.

Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1996.

Torres Neto, A. B.; Silva, M. E.; Silva, W. B.; Swarnakar, R.; Silva, F.L.H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). Química Nova, v. 29, n. 3, p. 489-492, 2006.

Treutter, D. Managing Phenol Contents in Crop Plants by Phytochemical Farming and Breeding—Visions and Constraints. International Journal of Molecular Sciences, v. 11, p. 807-857, 2010.

Tuberoso, C. I. G.; Melis, M.; Angioni, A.; Pala, M.; Cabras, P. Myrtle hydroalcoholic extracts obtained from different selections of *Myrtus communis* L. Food Chemistry, v. 101, p. 806-811, 2007.

Vinícola Jabuticabal, Disponível em: <http://www.vinicolajabuticabal.com.br>. Acesso em: maio, 2012.

Vivar-Quintana, A. M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E. E.; Rivas-Gonzalo, J. C. Anthocyanin derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta*, v. 458, p. 147-155, 2002.

Vvedenskaya, I. O. e Vorsa, N. Flavonoid composition over fruit development and maturation in America cranberry, *Vaccinium macrocarpon*. *Ait. Plant Science*, v. 167, p. 1043-1054, 2004.

Wang, S.Y.; Zheng, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 4977-4982, 2001.

Ward, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, v. 58, p. 238–244, 1963.

Waterman, P. G.; Mole, S. Analysis of phenolic plant metabolites. London: Blackwell Scientific Publications, p 66-103, 1994.

Williams, R. J.; Spencer, J. P. E.; Rice-Evans, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology e Medicine*, v. 36, p. 838-849, 2004.

Wrolstad, R. E.; Durst, R. W.; Lee, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science e Technology*, v. 16, p. 423-428, 2005.

Yoshioka, K. KyPlot, version 2.0 beta 13 (32 bit), 1997-2000.

Apêndice 1. Médias (n=3) $\pm$ d.p. dos resultados dos ensaios químicos do mosto durante a fermentação das jabuticabas.

Dias	ATM ¹	Taninos ²	Fenóis Totais ²	Índice de Cor ³	Tonalidade	Acidez Total ⁴	Açúcar ⁵	pH
1	204,39 $\pm$ 5,41	0,58 $\pm$ 0,01	2,06 $\pm$ 0,06	8,00 $\pm$ 0,00	1,03 $\pm$ 0,03	1,19 $\pm$ 0,05	18,93 $\pm$ 0,25	3,41 $\pm$ 0,01
2	185,08 $\pm$ 1,94	0,59 $\pm$ 0,00	2,48 $\pm$ 0,04	8,20 $\pm$ 0,01	0,98 $\pm$ 0,01	1,45 $\pm$ 0,01	15,89 $\pm$ 0,26	3,32 $\pm$ 0,02
3	157,01 $\pm$ 2,71	0,59 $\pm$ 0,00	2,64 $\pm$ 0,01	9,40 $\pm$ 0,00	1,08 $\pm$ 0,00	1,47 $\pm$ 0,08	12,85 $\pm$ 0,21	3,41 $\pm$ 0,01
4	165,05 $\pm$ 2,02	0,58 $\pm$ 0,00	2,49 $\pm$ 0,01	8,60 $\pm$ 0,00	1,01 $\pm$ 0,00	1,48 $\pm$ 0,09	11,87 $\pm$ 0,31	3,51 $\pm$ 0,03
5	57,68 $\pm$ 1,78	0,58 $\pm$ 0,01	2,03 $\pm$ 0,02	7,40 $\pm$ 0,00	1,35 $\pm$ 0,00	1,49 $\pm$ 0,01	6,68 $\pm$ 0,18	3,43 $\pm$ 0,06
6	61,55 $\pm$ 1,42	0,59 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,02	7,00 $\pm$ 0,00	1,31 $\pm$ 0,01	1,61 $\pm$ 0,01	6,91 $\pm$ 0,03	3,36 $\pm$ 0,02
7	63,83 $\pm$ 1,73	0,59 $\pm$ 0,00	2,06 $\pm$ 0,01	6,40 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,02	1,54 $\pm$ 0,10	6,90 $\pm$ 0,15	3,50 $\pm$ 0,02
8	64,48 $\pm$ 2,04	0,59 $\pm$ 0,00	2,12 $\pm$ 0,02	6,20 $\pm$ 0,00	1,27 $\pm$ 0,00	1,60 $\pm$ 0,03	6,88 $\pm$ 0,05	3,60 $\pm$ 0,05
9	67,91 $\pm$ 1,17	0,58 $\pm$ 0,00	2,13 $\pm$ 0,01	6,00 $\pm$ 0,00	1,22 $\pm$ 0,01	1,60 $\pm$ 0,06	6,93 $\pm$ 0,00	3,61 $\pm$ 0,02
10	65,57 $\pm$ 0,82	0,55 $\pm$ 0,00	2,13 $\pm$ 0,01	5,80 $\pm$ 0,00	1,22 $\pm$ 0,01	1,55 $\pm$ 0,02	6,91 $\pm$ 0,03	3,48 $\pm$ 0,01
11	70,45 $\pm$ 1,60	0,55 $\pm$ 0,01	2,17 $\pm$ 0,04	5,80 $\pm$ 0,00	1,20 $\pm$ 0,01	1,50 $\pm$ 0,03	6,85 $\pm$ 0,03	3,49 $\pm$ 0,01
12	66,63 $\pm$ 3,26	0,57 $\pm$ 0,00	2,17 $\pm$ 0,01	6,00 $\pm$ 0,00	1,20 $\pm$ 0,02	1,44 $\pm$ 0,01	6,86 $\pm$ 0,03	3,49 $\pm$ 0,02
13	66,64 $\pm$ 2,42	0,55 $\pm$ 0,00	2,13 $\pm$ 0,01	5,80 $\pm$ 0,00	1,21 $\pm$ 0,02	1,44 $\pm$ 0,01	6,98 $\pm$ 0,03	3,49 $\pm$ 0,02
14	61,86 $\pm$ 2,63	0,56 $\pm$ 0,00	2,08 $\pm$ 0,04	6,00 $\pm$ 0,00	1,27 $\pm$ 0,00	1,61 $\pm$ 0,01	6,76 $\pm$ 0,05	3,49 $\pm$ 0,02

1– Antocianinas totais monoméricas em mg/L, 2- g/L, 3- ua, 4- g de ácido tartárico/100mL de mosto, 5- °BRIX

Apêndice 2. Médias (n=3) $\pm$ d.p. dos resultados (g/kg) da análise da fermentação de jabuticabas por RMN de ^1H .

Dias	Sacarose	Frutose	Glicose	Ácido cítrico	Ácido succ.	Ácido acético	Etanol	Metanol	Glicerol
1	89,23 $\pm 1,48$	23,73 $\pm 1,92$	44,55 $\pm 1,89$	14,65 $\pm 0,92$	0,42 $\pm 0,10$	0,72 $\pm 0,07$	9,66 $\pm 0,67$	—	—
2	54,89 $\pm 1,39$	22,74 $\pm 1,01$	43,61 $\pm 1,97$	20,95 $\pm 1,44$	0,97 $\pm 0,06$	0,84 $\pm 0,03$	28,26 $\pm 0,90$	—	—
3	23,28 $\pm 2,14$	20,98 $\pm 1,26$	34,85 $\pm 1,76$	19,50 $\pm 1,51$	0,94 $\pm 0,05$	0,60 $\pm 0,05$	52,68 $\pm 0,99$	—	—
4	10,89 $\pm 1,37$	12,16 $\pm 1,31$	24,77 $\pm 1,28$	17,05 $\pm 0,34$	0,83 $\pm 0,05$	0,75 $\pm 0,03$	61,73 $\pm 0,54$	—	—
5	5,24 $\pm 1,26$	6,33 $\pm 0,91$	11,16 $\pm 1,18$	15,79 $\pm 1,43$	1,16 $\pm 0,10$	0,79 $\pm 0,04$	67,87 $\pm 0,29$	—	—
6	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	17,50 $\pm 1,41$	1,05 $\pm 0,06$	1,05 $\pm 0,05$	74,67 $\pm 0,51$	0,21 $\pm 0,01$	3,66 $\pm 0,52$
7	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	16,00 $\pm 1,13$	1,17 $\pm 0,09$	1,00 $\pm 0,09$	74,66 $\pm 1,36$	0,21 $\pm 0,02$	3,35 $\pm 0,81$
8	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	15,06 $\pm 0,50$	1,06 $\pm 0,04$	0,99 $\pm 0,05$	75,72 $\pm 0,78$	0,21 $\pm 0,01$	3,35 $\pm 0,61$
9	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	16,81 $\pm 0,85$	1,17 $\pm 0,06$	1,05 $\pm 0,03$	76,50 $\pm 1,22$	0,21 $\pm 0,01$	3,50 $\pm 0,73$
10	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	16,35 $\pm 0,55$	1,17 $\pm 0,05$	0,99 $\pm 0,04$	76,64 $\pm 0,74$	0,21 $\pm 0,02$	3,88 $\pm 0,99$
11	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	15,31 $\pm 1,10$	1,17 $\pm 0,03$	0,99 $\pm 0,06$	76,87 $\pm 0,79$	0,21 $\pm 0,01$	3,27 $\pm 0,65$
12	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	15,71 $\pm 0,78$	1,17 $\pm 0,01$	0,99 $\pm 0,04$	76,02 $\pm 1,16$	0,21 $\pm 0,01$	3,50 $\pm 0,52$
13	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	15,69 $\pm 0,63$	1,17 $\pm 0,05$	0,99 $\pm 0,03$	77,35 $\pm 0,56$	0,21 $\pm 0,03$	3,34 $\pm 0,48$
14	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$	15,35 $\pm 0,52$	1,18 $\pm 0,03$	1,00 $\pm 0,04$	73,94 $\pm 0,72$	0,21 $\pm 0,01$	3,43 $\pm 0,57$

- = não detectado.