



**PRISCILLA SILVA DE ABREU**

**NÍVEIS DE RESVERATROL, OUTROS COMPOSTOS  
FENÓLICOS E OCRATOXINA A EM VINHOS TINTOS DE  
DIFERENTES ORIGENS**

**LAVRAS – MG  
2017**

**PRISCILLA SILVA DE ABREU**

**NÍVEIS DE RESVERATROL, OUTROS COMPOSTOS FENÓLICOS E  
OCRATOXINA A EM VINHOS TINTOS DE DIFERENTES ORIGENS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador  
Dr. Luís Roberto Batista  
Coorientador  
Dr. Giuliano Elias Pereira

**LAVRAS - MG  
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha  
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados  
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Abreu, Priscilla Silva de.

Níveis de resveratrol, outros compostos fenólicos e ocratoxina a em  
vinhos tintos de diferentes origens / Priscilla Silva de Abreu. - 2017.

95 p.

Orientador(a): Luís Roberto Batista.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Ocratoxina A. 2. Vinho. 3. Resveratrol. I. Batista, Luís Roberto. .  
II. Título.

**PRISCILLA SILVA DE ABREU**

**NÍVEIS DE RESVERATROL, OUTROS COMPOSTOS FENÓLICOS E  
OCRATOXINA A EM VINHOS TINTOS DE DIFERENTES ORIGENS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 10 de outubro de 2017.

Dr. Luís Roberto Batista	UFLA
Dr. José da Cruz Machado	UFLA
Dra. Carolina Valeriano de Carvalho	UFLA
Dra. Suzana Reis Evangelista	UFLA
Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza	EPAMIG

Orientador  
Dr. Luís Roberto Batista  
Coorientador  
Dr. Giuliano Elias Pereira

**LAVRAS - MG  
2017**

*A Deus, pela força, luz e proteção em todos os momentos.  
Aos meus queridos pais, Marília e Luiz, pelo incentivo, exemplo e amor incondicional.  
Ao Luiz, pela paciência, companheirismo e por estar sempre presente.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela proteção e amparo, e por me dar paz, mesmo nos momentos difíceis.

Ao meu orientador, Dr. Luís Roberto Batista, por todos os ensinamentos compartilhados ao longo de todos esses anos. Agradeço pela confiança, paciência e por tornar essa realização possível.

À Fundação Ezequiel Dias (FUNED), em especial ao Dr. Guilherme Prado e ao Fabiano Narciso Paschoal, pela parceria e cooperação.

Ao Dr. Giuliano Elias Pereira, à Embrapa-Semiárido e ao IF Sertão (PE), pela inestimável ajuda na condução do experimento.

Aos meus pais, sem os quais esta realização não seria possível. Muito obrigada pela presença em todos os momentos de minha vida, por acreditarem em mim e pelo constante incentivo. Com vocês ao meu lado tudo se torna mais leve. Amo muito vocês!

Ao meu marido, por todo amor, apoio e por acreditar e torcer por minha felicidade sempre.

Aos meus avós, pelas orações, pelo carinho e por me mostrarem que, com fé e dedicação, tudo é possível. Obrigada pelos ensinamentos e exemplos de vida.

Ao meu irmão, Patrick, por tornar tudo mais divertido e ameno.

Ao Arthur, João Pedro e Cecília. Vocês são essenciais em minha vida.

À tia Lu, que sempre me apoiou e torceu pelo meu sucesso e felicidade.

À Marcela, pela grande amizade, companheirismo, conselhos...

Às amigas do Laboratório de Micologia e Micotoxinas do DCA, Michelle, Fabiana, Thaiana e Nathasha, pela ajuda, amizade e por todos os momentos especiais.

Aos amigos da Corpore e todos os meus pacientes, por confiarem e me apoiarem sempre.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Ciência dos Alimentos e ao Laboratório de Micologia e Micotoxinas, que permitiram a realização deste trabalho, e a todos que, durante este tempo, contribuíram, direta ou indiretamente, para esta conquista.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro ao projeto, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

## RESUMO GERAL

A ocratoxina A tem sido frequentemente encontrada como contaminante de uvas, vinhos e suco de uva, sendo considerada uma das micotoxinas mais prejudiciais à saúde humana. No entanto, observa-se um crescente interesse por estas bebidas, devido aos benefícios promovidos pelos compostos fenólicos presentes na uva. O composto mais relatado por apresentar tais benefícios é o resveratrol, sendo associado, principalmente, com a melhora da saúde cardiovascular. A produção da toxina, bem como do resveratrol, sofre influência de diversos fatores comuns, como temperatura, radiação ultravioleta, irrigação excessiva, presença de micro-organismos contaminantes e composição do substrato. Neste contexto, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a ocorrência de OTA e resveratrol (total, *cis* e *trans*) em vinhos tintos cv. Cabernet sauvignon bem como avaliar a correlação entre os dois compostos. A quantificação de OTA e resveratrol nas amostras de vinhos foi realizada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detecção por fluorescência. Uma pequena parte das amostras analisadas (5%) apresentou contaminação por ocratoxina A, no entanto, a contaminação foi relativamente baixa, com valores de 0,44 µg/L a 0,161 µg/L. Já a presença de resveratrol foi observada em 87,5% dos vinhos analisados, sendo, na maior parte, associada ao conteúdo de *trans*-resveratrol, já que poucas amostras apresentaram valores de isômero *cis*, comprovando sua alta instabilidade. Não foi observada nenhuma correlação entre os níveis de ocratoxina, resveratrol total, *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol. Os resultados do trabalho mostram que o consumo das amostras avaliadas não implica em um risco à saúde do consumidor, já que a presença de OTA não foi observada na maior parte dos vinhos analisados e, naqueles em que ela foi detectada, os níveis de contaminação foram muito baixos, não comprometendo, assim, a segurança do produto. Outros estudos sobre a incidência de OTA e resveratrol, bem como a correlação destes dois compostos, são necessários para permitir uma melhor compreensão dos fatores que contribuem significativamente para a incidência deles em vinhos, a fim de minimizar o potencial risco da presença da toxina e potencializar os efeitos benéficos do resveratrol.

Palavras-chave: Ocratoxina A. Vinho. Resveratrol.

## GENERAL ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) has been frequently found as a contaminant of grapes, grape juice and wine, and is considered one of the most harmful mycotoxins to human health. However, there is a growing interest in these beverages, due to the benefits promoted by the phenolic compounds present in the grape. Resveratrol is the compound most reported to present this benefits, being associated mainly with cardiovascular health improvement. The toxin production, as well as resveratrol, is influenced by several common factors, such as temperature, ultraviolet radiation, excessive irrigation, the presence of contaminating microorganisms and a substrate composition. In this context, this study was carried out with the objective of evaluating the occurrence of OTA and resveratrol (total, *cis* and *trans*) in red wines Cabernet sauvignon cv., as well as to evaluate the correlation between the two compounds. OTA and resveratrol quantification in wine samples was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) method, with fluorescence detection. A small part of the analyzed samples (5%) presented contamination by Ochratoxin A, however, the contamination is relatively low, with values from 0.44 µg / L to 0.161 µg / L. The presence of resveratrol was observed in 87,5% of analyzed wines, being mostly associated with the *trans*-resveratrol content, since few samples presented *cis* isomer values, proving their high instability. No correlation was observed between levels of ochratoxin A, total resveratrol, *trans*-resveratrol and *cis*-resveratrol. The study's results show that the consumption of the evaluated samples does not imply a risk to the health of the consumer, since the presence of OTA was not observed in most of the wines analyzed and, in those where it was detected, the levels of contamination were very low, thus not compromising the product safety. Other studies on the incidence of OTA and resveratrol, as well as the correlation of these two, compounds are necessary to allow a better understanding of the factors that contribute significantly to their incidence in wines in order to minimize the potential risk of the presence of the toxin and potentiate the beneficial effects of resveratrol.

**Keywords:** Ochratoxin A. Wine. Resveratrol.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química da ocratoxina A. ....	17
Figura 2 - Produção mundial de vinho no ano de 2015. ....	21
Figura 4 - Importações brasileiras de vinhos por país de origem. ....	32
Figura 5 - Estrutura química de <i>cis</i> e <i>trans</i> -resveratrol. ....	42
Gráfico 1 - Cromatograma da amostra de vinho tinto FRA/CS/1, com teor de ocratoxina A de 0,44 µg/L. ....	73
Figura 6 - Correlação entre níveis de <i>trans</i> -resveratrol e OTA. ....	77
Figura 7 - Correlação entre níveis de <i>cis</i> -resveratrol e OTA. ....	78
Figura 8 - Correlação entre níveis de resveratrol total e OTA. ....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições ótimas de temperatura e $a_w$ para a produção de micotoxinas. ....	14
Tabela 2 - Produção mundial de vinhos no ano de 2015.....	22
Tabela 3 - Consumo mundial de vinhos nos anos de 2013 a 2015. ....	23
Tabela 4 - Principais características dos fungos produtores de OTA.....	27
Tabela 5 - Fungos responsáveis por contaminação de OTA em uvas e vinhos, em diferentes países. ....	28
Tabela 6 - Limites máximos tolerados (LMT) para ocratoxina A, segundo RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 .....	29
Tabela 7 - Amostras de vinhos tintos finos cv. Cabernet Sauvignon e respectivos países e anos de produção. ....	67
Tabela 8 - Valores médios de OTA encontrados nas amostras analisadas. ....	72
Tabela 9 - Valores médios de resveratrol ( <i>trans</i> , <i>cis</i> e total) encontrados nas amostras analisadas. ....	75
Tabela 10 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e <i>trans</i> -resveratrol.....	76
Tabela 11 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e <i>cis</i> -resveratrol. ....	77
Tabela 12 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e resveratrol total. ....	77
Table 13 - Phenolic compounds of wines from different countries of Cabernet Sauvignon variety.....	91

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1 Introdução Geral</b> .....	11
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
2.1	<b>Micotoxinas em alimentos</b> .....	14
2.2	<b>Ocratoxina A</b> .....	17
2.3	<b>Ocratoxina A em vinhos</b> .....	20
2.3.1	<b>Produção de vinho</b> .....	20
2.3.2	<b>Consumo de vinho</b> .....	22
2.3.3	<b>Contaminação de vinhos por OTA</b> .....	23
2.3.4	<b>Microbiota das uvas e fungos produtores de micotoxinas</b> .....	24
2.3.5	<b>Legislação para o controle de OTA</b> .....	29
2.3.6	<b>Produção e importação de vinhos no Brasil</b> .....	29
2.4	<b>Compostos fenólicos dos vinhos</b> .....	32
2.4.1	<b>Propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos</b> .....	35
2.4.2	<b>Origem e presença de compostos fenólicos na uva e no vinho</b> .....	37
2.4.3	<b>Fatores que afetam a presença de compostos fenólicos na uva e no vinho</b> .....	39
2.4.4	<b>Resveratrol</b> .....	42
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45
	<b>CAPÍTULO 2 CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE OCRATOXINA A E RESVERATROL EM VINHOS TINTOS</b> .....	61
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	64
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	66
2.1	<b>Amostras</b> .....	66
2.2	<b>Análise de ocratoxina A</b> .....	68
2.3	<b>Soluções e reagentes</b> .....	68
2.4	<b>Preparo das amostras e purificação em coluna de imunoafinidade</b> .....	68
2.5	<b>Quantificação de ocratoxina A por cromatografia líquida</b> .....	69
2.6	<b>Preparo da curva padrão</b> .....	70
2.7	<b>Análise de Resveratrol</b> .....	70
2.8	<b>Delineamento experimental e análise estatística dos dados</b> .....	70
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	71
3.1	<b>Ocorrência e níveis de ocratoxina A em vinhos</b> .....	71
3.2	<b>Ocorrência e níveis de resveratrol total, <i>cis</i> e <i>trans</i>, em vinhos</b> .....	74
3.3	<b>Correlação entre níveis de resveratrol total, <i>trans</i>, <i>cis</i> e ocratoxina A em vinhos</b> .....	76
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	81
	<b>CAPÍTULO 3 PHENOLIC COMPOUNDS OF CABERNET SAUVIGNON WINES</b> .....	85
1	<b>INTRODUCTION</b> .....	87
2	<b>MATERIAL AND METHODS</b> .....	89
2.1	<b>Chemicals</b> .....	89
2.2	<b>Wine Samples</b> .....	89
2.3	<b>Phenolic compounds by RP-HPLC/DAD</b> .....	89
2.4	<b>Statistical analysis</b> .....	90
3	<b>RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	91
3.1	<b>Phenolics and flavanols compounds</b> .....	91
	<b>REFERENCES</b> .....	93
4	<b>CONCLUSÕES</b> .....	95

## **CAPÍTULO 1 Introdução Geral**

## 1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de ocratoxina A (OTA) em alimentos vem sendo extensivamente reportada, principalmente em cereais e em outros alimentos ricos em amido, além de café, cacau, cerveja, uvas, suco de uvas, frutas desidratadas, plantas medicinais e vinho, este último considerado a segunda fonte mais importante de OTA para humanos, representando de 10% a 15% do total da toxina ingerido diariamente (SERRATOSA et al., 2010; TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009).

A produção desta toxina está relacionada a fatores abióticos, principalmente temperatura, atividade de água e substrato (BELLÍ et al., 2005; PATERAKI et al., 2007; QUINTELA, 2011; SELOUANE et al., 2009). Entretanto, a complexa interação dos fatores ecológicos que afetam o crescimento e a produção da OTA por fungos micotoxigênicos dificulta o controle da exposição de forma eficiente.

Após o primeiro relato da ocorrência de OTA em vinhos (ZIMMERLI; DICK, 1995), vários estudos foram conduzidos para avaliar a presença desta micotoxina na bebida e em produtos derivados da uva, mostrando resultados preocupantes quanto ao potencial risco à saúde humana pelo consumo desses produtos oriundos de determinadas regiões (TJAMOS et al., 2004).

No Brasil, a Resolução da ANVISA n. 7, de 18 de fevereiro de 2011, estabelece os limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos, os quais se referem aos resultados obtidos por metodologias que atendam aos critérios de desempenho estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*. Este regulamento aplica-se às empresas que importem, produzam, distribuam e comercializem alguns produtos descritos na mesma Resolução. Entre as bebidas encontram-se os vinhos e seus derivados, e os limites máximos aceitáveis para a ocratoxina A são de 2 µg/L (BRASIL, 2011).

Embora a contaminação dos vinhos por OTA seja amplamente relatada, observa-se um crescente interesse pela bebida. Uma das possíveis explicações relaciona-se aos benefícios promovidos pelos compostos fenólicos presentes na uva, dentre eles o resveratrol (FRANCIS, 2000). Este polifenol é um estilbeno formado por meio de uma reação de condensação entre três moléculas de malonil-CoA e uma molécula de 4-cumaroil-CoA. Sua síntese ocorre em resposta a ambientes estressantes, como infecções microbianas, radiação ultravioleta e flutuações de temperatura. Pode ser encontrado nas configurações *cis* ou *trans* (HAO; HE, 2004). Os polifenóis, incluindo o resveratrol, têm mostrado elevado efeito cardioprotetor, possivelmente pela habilidade em reduzir o colesterol total e LDL-c, inibir a agregação

plaquetária, estimular a vasodilatação e enzimas antioxidantes, bem como inibir vias pró-inflamatórias (RAHMAN, 2008).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de quantificar a incidência de resveratrol, outros compostos fenólicos e ocratoxina A em vinhos tintos de diferentes origens, elaborados a partir da variedade Cabernet Sauvignon, comercializados na cidade de Lavras, MG.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Micotoxinas em alimentos

O termo micotoxina é derivado da palavra grega “mykes”, que significa fungo e do latim “toxican”, que significa toxinas. O termo é utilizado para designar um grupo de compostos produzidos por algumas espécies fúngicas durante o seu crescimento e podem causar doenças ou morte, quando ingeridas pelo homem ou animais. As micotoxinas são contaminantes naturais de difícil controle em alimentos. Estima-se que cerca de 25% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados por tais substâncias (BENNETT; KLICH, 2003). A sua produção depende do crescimento fúngico, portanto, pode ocorrer em qualquer época do crescimento, colheita ou estocagem do alimento. São produzidas durante o metabolismo secundário de fungos filamentosos, cujos principais produtores pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (IAMANAKA et al., 2010).

A produção das micotoxinas é dependente das condições ambientais, como temperatura, atividade de água ( $a_w$ ), substrato, pH e interação microbiana, entre outros. A temperatura ideal para a produção de micotoxinas está entre a temperatura mínima e a máxima para o crescimento fúngico, variando entre as espécies. Entretanto, alimentos provenientes de regiões tropicais e semitropicais apresentam altos níveis de contaminação, uma vez que o clima favorece o desenvolvimento de fungos toxigênicos. As toxinas podem ser produzidas quando os valores de  $a_w$  variam entre 0,60 a 0,90, em alimentos de umidade intermediária, sendo 0,70 o mínimo para a sobrevivência dos fungos (DUARTE; LINO, 2010; IAMANAKA et al., 2010). Na Tabela 1 são apresentadas as condições ótimas de temperatura e  $a_w$  para a produção de algumas micotoxinas.

Tabela 1 - Condições ótimas de temperatura e  $a_w$  para a produção de micotoxinas.

<b>Micotoxinas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b><math>a_w</math></b>
<b>Aflatoxina</b>	33	0,99
<b>Ocratoxina</b>	25-30	0,98
<b>Fumonisina</b>	15-30	0,9-0,995
<b>Zearalenona</b>	25	0,96
<b>Deoxinivalenol</b>	26-30	0,995
<b>Citrinina</b>	20-30	0,75-0,85

Fonte: Milani (2013).

As micotoxinas, aparentemente, não apresentam qualquer função no metabolismo normal dos fungos. Elas são produzidas, ainda que não exclusivamente, na medida em que o fungo atinge a maturidade. As toxinas destes fungos apresentam efeitos tóxicos em seres humanos e animais, podendo estar contidas nos esporos e micélios, ou serem excretadas como exotoxinas no substrato de crescimento (PITT et al., 2000). Estão amplamente incorporadas aos alimentos e seus derivados, constituindo um sério problema de saúde pública (BENNETT; KLICH, 2003). Contudo, o crescimento do fungo e a presença de toxinas não são sinônimos porque nem todos os fungos produzem toxinas. Por outro lado, as micotoxinas podem permanecer no alimento, mesmo após a destruição dos fungos que as produziram (IAMANAKA et al., 2010).

Dentre os fatores envolvidos na produção de micotoxinas existem os relacionados à própria fisiologia e bioquímica dos fungos toxigênicos, e os fatores extrínsecos (ambientais), tais como umidade, composição química do alimento (substrato), temperatura, pH e interação microbiana, entre outros (IAMANAKA et al., 2010).

As micotoxinas podem entrar na cadeia alimentar humana e animal por meio de contaminação direta ou indireta. A contaminação direta ocorre quando o produto, o alimento ou a ração tornam-se contaminados por um fungo toxigênico, com posterior formação de micotoxinas. Sabe-se que a maioria dos alimentos e rações pode permitir o crescimento e o desenvolvimento de fungos toxigênicos, tanto durante a produção quanto no processamento, no transporte ou no armazenamento (FRISVAD; SAMSON, 1992). Já a contaminação indireta se dá como resíduo tecidual de micotoxinas ingeridas pelo animal nas rações contaminadas. Assim, quando os animais leiteiros são alimentados com ração contendo aflatoxina, por exemplo, o metabólito M1 aparece no leite (IAMANAKA et al., 2010).

Os principais alimentos fonte de micotoxinas são cereais, amendoim, castanhas, frutas secas, café, cacau, temperos, óleos de sementes, ervilhas secas, feijão e frutas, como maçã e bebidas, como cerveja e vinho, porque utilizam malte de cevada, cereais e uvas possivelmente contaminados (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009).

O consumo da toxina por meio de alimentos contaminados pode resultar em lesões de pele, sintomas de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade ou genototoxicidade, podendo chegar à morte. As micotoxinas podem, ainda, apresentar efeitos mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos ou imunossupressores (COLE; COX, 1981; JOINT EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001).

Do ponto de vista econômico, a presença de micotoxinas causa prejuízos a produtores, processadores e comerciantes de alimentos e ao país como um todo (JELINEK; POHLAND;



WOOD, 1989; LEUNG; DIAZ-LLANO; SMITH, 2006; MILLER, 1995). Embora não seja totalmente visível, a magnitude das perdas econômicas implica em prejuízos em vários níveis, como perdas diretas de produtos agrícolas, perdas de animais, doenças humanas e diminuição da produtividade, redução da velocidade de crescimento em animais, rejeição de produtos pelo mercado importador, entre outros. Tal rejeição ou, mesmo, a queda nos preços de venda são prejudiciais à economia de países que, como o Brasil, exportam grande quantidade de produtos altamente susceptíveis à contaminação por micotoxinas (IAMANAKA et al., 2010). Do ponto de vista de saúde pública, a ONU estima que 40% da redução na expectativa de vida em países pobres estejam relacionados à existência de micotoxinas na dieta destas populações (KAWASHIMA, 2004).

A ocorrência de micotoxinas em alimentos e derivados não é um problema apenas de países em desenvolvimento. No entanto, como os produtos de boa qualidade são, normalmente, exportados, aquelas commodities de qualidade inferior, as quais apresentam níveis de micotoxinas superiores aos permitidos nos países importadores, são vendidas e consumidas no mercado interno, com riscos evidentes para a saúde da população (DAWSON, 1991).

No Brasil, as micotoxinas têm sido objeto de pesquisa, principalmente no centro-sul e, recentemente, na região sul do país. Nas demais regiões há uma grande lacuna de informações sobre a contaminação de alimentos por estas toxinas. Por outro lado, há um grande número de alimentos nacionais que ainda não foram analisados para micotoxinas, assim como várias toxinas que não foram pesquisadas (KAWASHIMA, 2004).

As micotoxinas consideradas de maior risco à saúde humana e animal pela Agência Internacional de Pesquisa ao Câncer (*International Agency for Research on Cancer*, IARC) são as aflatoxinas (AFLA), a ocratoxina A (OTA), a zearalenona (ZON), o desoxinivalenol (DON) e as fumonisinas (FUMO). Existem também outras toxinas que podem causar problemas, porém, as citadas são as de maior interesse de estudo (IAMANAKA et al., 2010).

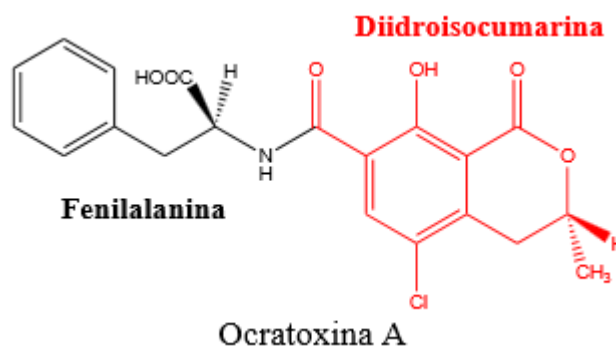
Devido aos graves danos à saúde humana e animal pela intoxicação por meio de ingestão de micotoxinas, o estudo e a quantificação da presença delas em alimentos e bebidas vêm ganhando destaque, nacional e internacionalmente. Dentre as micotoxinas de maior interesse pela sua toxicidade, e por estarem presentes em vários alimentos e derivados, tem-se a ocratoxina A.

## 2.2 Ocratoxina A

O grupo das ocratoxinas é compreendido por compostos que apresentam uma L-fenilalanina ligada a uma di-idroisocumarina por uma ligação amida. São elas a ocratoxina A (OTA), a ocratoxina B e a ocratoxina C (DUARTE; LINO, 2010; KHOURY; ATOUI, 2010). Dentro deste grupo, a ocratoxina A é considerada a mais tóxica, devido à presença do átomo de cloro na posição C5, adicionado à presença de um OH fenólico (DUARTE; LINO, 2010).

A OTA é um composto branco cristalino cujo nome químico é (R)-N-[(5-cloro-3,4-dihidro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-1H-2-benzopirano-7-il) carbonil] – L-fenilalanina. É pouco solúvel em água e solúvel em solução aquosa de bicarbonato de sódio. Sua fórmula empírica é  $C_{20}H_{18}O_6NCl$  (Figura 1) e o peso molecular é de  $403,82 \text{ g mol}^{-1}$  (ANLI; ALKIS, 2010).

Figura 1 - Estrutura química da ocratoxina A.



Fonte: Andrade (2016).

A ocratoxina A é uma molécula moderadamente estável ao calor, permanecendo intacta durante a maioria das operações de processamento dos alimentos e, portanto, pode aparecer nos produtos finais. Estudos têm mostrado que o processo de lavagem de grãos de cevada reduz em somente 2% a 3% a quantidade total de OTA nele. O processo de moagem tende a redistribuir e a concentrar as micotoxinas nos moinhos e, assim, um teor mais alto de OTA foi encontrado em trigo, cevada e outros cereais moídos. No processo cervejeiro, especialmente durante a fermentação, cerca de 20% a 30% de OTA podem ser removidos do mosto (BULLERMAN; BIANCHINI, 2007).

A OTA é produzida, principalmente, por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, tendo sido detectada, primeiramente, como um metabólito da espécie *Aspergillus ochraceus*. Outras espécies pertencentes a este gênero também produzem a toxina, como *A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. citricus*, *A. ostianus*, *A. sulphureus*, *A. fonsecaeus*, *A. petrakii*, *A. glaucus*, *A. melleus* e *A. niger*. Já o principal produtor de OTA do gênero

*Penicillium* é o *Penicillium verrucosum* (NOGUEIRA; OLIVEIRA, 2006). No entanto, os dois gêneros de fungos crescem em condições distintas. Em regiões de clima temperado, a OTA é mais produzida por fungos do gênero *Penicillium*, enquanto em regiões de climas tropicais e subtropicais são as espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* as principais responsáveis pela contaminação (PRELLE et al., 2013). Em países da América do Sul são três as principais espécies produtoras de ocratoxina A, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus* (MAGNOLI et al., 2007).

A ocorrência natural destes fungos em alimentos é ampla, especialmente em países de clima temperado (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009; VARGA; KOZAKIEWICS, 2006). Como muitos destes alimentos susceptíveis à contaminação fazem parte da dieta normal das populações, a ocratoxina A tem sido detectada também em fluidos biológicos, como leite humano e plasma (NOBA et al., 2009).

Os alimentos mais comumente contaminados por OTA são cereais e outros alimentos ricos em amido, café, temperos, frutas secas, cerveja e vinho, sendo também encontrada em carne animal (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009). Os cereais são a maior fonte de contaminação por OTA, sendo 50% da ingestão humana diária desta micotoxina devido ao seu consumo. A segunda maior fonte de contaminação é o vinho, o qual colabora com a porcentagem de 10% a 15% do total de OTA ingerida diariamente (KHOURY et al., 2008; MATEO et al., 2007).

O trato gastrointestinal é a principal via de contaminação por OTA, sendo a micotoxina absorvida lentamente ao longo do percurso. Na maioria das espécies há uma primeira e rápida absorção no estômago, devido às suas características ácidas, seguindo-se de uma absorção lenta, no âmbito intestinal. Uma das propriedades toxicocinéticas mais significativas da OTA é a sua alta afinidade para ligar-se a proteínas plasmáticas. Esta ligação será determinante para a persistência da micotoxina no sangue e, portanto, para a sua toxicidade. A fração ligada a macromoléculas constitui um reservatório da micotoxina que permite libertá-la para os tecidos durante um longo período de tempo. Também a alta afinidade pelas proteínas séricas retarda a eliminação da micotoxina pelo organismo, aumentando o seu tempo de meia vida. De acordo com alguns estudos, só uma pequena porcentagem de OTA permanece livre na corrente sanguínea. O tempo de meia vida em humanos é de 35 dias, o que aumenta o risco, uma vez que, em outras espécies, esse tempo é menor (HOPE; HOPE, 2012; NOGUEIRA; OLIVEIRA, 2006).

A excreção biliar e a filtração glomerular parecem ser as principais vias de eliminação da OTA, sendo demoradas e dependentes da espécie e do gênero (HOPE; HOPE, 2012). A

excreção pelo leite também foi demonstrada em ratos, coelhos e humanos. Em ruminantes, a transferência para o leite parece ser muito baixa, em parte devido à sua metabolização prévia pela microbiota intestinal. A hidrólise da OTA ocorre, majoritariamente, em âmbito intestinal, por ação enzimática da microbiota local (NOGUEIRA; OLIVEIRA, 2006). A primeira envolve a hidrólise da ligação amida que une o grupo L-fenilalanina e a ocratoxina  $\alpha$ . Uma vez que esses grupos não são tóxicos, esse mecanismo pode ser considerado uma via de desintoxicação. A segunda via, mais hipotética, envolve a hidrólise do anel lactônico. Nesse caso, o produto de degradação é a OTA com o anel lactônico aberto, que tem toxicidade semelhante à da OTA, quando administrada em ratos. Apesar de esta ser uma via hipotética, lactono-hidrolases microbiológicas são comuns (ABRUNHOSA; PATERSON; VENÂNCIO, 2010). Algumas enzimas também são capazes de hidrolisar a OTA, como foi mostrado em alguns estudos com a carboxipeptidase A de pâncreas bovino, e a enzima age fazendo a hidrólise da fração amida da OTA (PITOUT, 1969).

Tem sido demonstrado em estudos que a ocratoxina A tem ação nefrotóxica, teratogênica, carcinogênica, imunossupressora e está relacionada com a nefropatia endêmica dos Balcãs, doença degenerativa dos rins que afeta exclusivamente a população adulta rural (KHOURY et al., 2008). Trabalhos também revelam uma conexão com a exposição à OTA e o câncer no fígado, nos rins, nas glândulas mamárias e nos testículos, em animais. A OTA também tem efeito neurotóxico, afetando várias áreas do sistema nervoso (HOPE; HOPE, 2012). A carcinogenicidade em ratos foi observada em doses relativamente baixas ( $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), tendo a teratogenicidade sido verificada, principalmente, no sistema nervoso central, mas com concentrações muito superiores às normalmente presentes nos alimentos ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Podem ser observados efeitos imunotóxicos com concentrações relativamente baixas de OTA, na ordem dos  $\text{ng kg}^{-1}$ . Concentrações de  $5 \text{ ng kg}^{-1}$  peso corporal originam imunossupressão em ratos (NOGUEIRA; OLIVEIRA, 2006).

Um dos principais mecanismos de ação da OTA parece estar relacionado com a inibição da síntese de proteínas. Além disso, esta toxina parece ser capaz de induzir mecanismos de estresse oxidativo, com a formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, responsáveis pela citotoxicidade. A peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares leva à alteração da permeabilidade iônica da membrana. Este mecanismo interfere também nas membranas mitocondriais, sendo o suposto responsável pelos efeitos observados nas mitocôndrias. Estudos demonstraram haver atividade mutagênica por meio da ação de algum metabólito da OTA ou pela formação de radicais livres. A

exposição à micotoxina parece induzir à lesão e à reparação do DNA e a alterações cromossomais em células de mamíferos *in vitro* e *in vivo* (NOGUEIRA; OLIVEIRA, 2006).

A presença deste contaminante químico na dieta humana, especialmente na dieta de grupos vulneráveis da população, como os lactentes, é de grande preocupação (ALVITO et al., 2010). De acordo com a International Agency for Research on Cancer (IARC, 1993), a ocratoxina A está inserida no grupo 2B como um possível agente carcinogênico para humanos (KHOURY et al., 2008). Portanto, abordagens para prevenir a contaminação por OTA em alimentos tornam-se cada vez mais importantes para a inocuidade alimentar e a manutenção da saúde de animais e seres humanos.

## **2.3 Ocratoxina A em vinhos**

### **2.3.1 Produção de vinho**

Os vinhos são definidos e classificados, no Brasil, de acordo com a Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988 e as Leis nº 7.678, de 8 de novembro de 1988 e nº 10.970, de 12 de outubro de 2004 (PEDRUCCI; BERTI, 2010; UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA - UVIBRA, 2014). O vinho, de acordo com estes instrumentos legais, é uma bebida proveniente, exclusivamente, da fermentação alcoólica de uva madura e fresca ou de suco de uva fresca, com o conteúdo de álcool adquirido mínimo de 7% (v/v a 20 °C). Os vinhos são classificados, quanto à classe, como de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso e composto; quanto à cor, em tinto, rosado e branco, e, quanto ao teor de açúcar, em nature, extra-brut, brut, seco, meio doce, suave e doce (BRASIL, 1988, 2004).

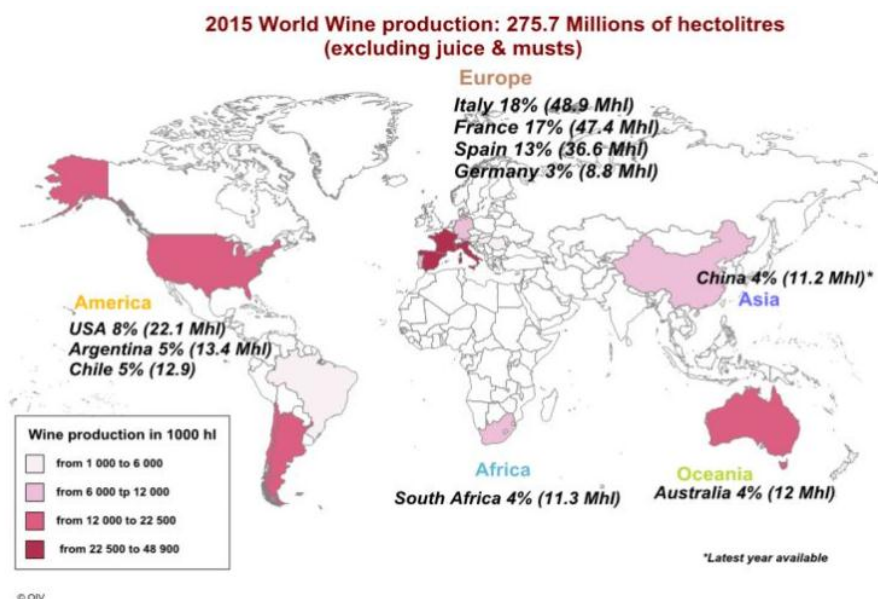
O vinho tinto é definido como o produto da fermentação alcoólica do mosto simples de uvas tintas sãs, frescas e maduras. Entretanto, há uma enorme gama de tipos de vinhos tintos, em função da variedade da uva que lhe deu origem, da origem geográfica do vinhedo, da estrutura química, da capacidade de envelhecimento, do teor de açúcar e do método empregado na sua elaboração (GUERRA, 2010).

A diferença entre o vinho tinto e o vinho branco está no tipo de uva utilizada. O vinho branco é produzido a partir de uvas brancas, rosadas ou tintas, desde que estejam sem as cascas, seguindo as mesmas etapas de processamento do vinho tinto (PROCESSO..., 2014).

O vinho é produzido em grande parte do mundo, como pode ser observado na Figura 2. No entanto, a produção mundial da bebida, em 2016, caiu cerca de 3,2%, quando comparada aos dados do ano anterior, totalizando 267 milhões de hectolitros produzidos. Um

dos fatores apontados para tal redução no volume produzido deve-se a fatores climáticos, principalmente no que diz respeito aos países latino-americanos, como Brasil e Argentina, que sofreram o fenômeno climático El Niño, comprometendo grande parte da produção (INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE - OIV, 2016).

Figura 2 - Produção mundial de vinho no ano de 2015.



Fonte: OIV (2016).

De acordo com a Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO, 2015), o continente que deteve a maior produção média de vinhos entre os anos de 1993 e 2013 foi a Europa, com cerca de 67,4% da produção total, seguida das Américas, com 19,10%; da Ásia, com 5,80%; da Oceania, com 4,10% e da África, com 3,60%. No ano de 2015 foram produzidos cerca de 28 milhões de litros de vinho em todo o mundo. A relação dos países que mais produziram a bebida encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Produção mundial de vinhos no ano de 2015.

País	Produção mundial (%)
Itália	17,43
França	16,73
Espanha	13,10
Estados Unidos	10,48
Argentina	4,72
Chile	4,54
Austrália	4,19
África do Sul	3,94
China	3,87
Alemanha	3,13
Portugal	2,36
Rússia	1,62
Romênia	1,23
Hungria	1,02
Brasil	0,99

Fonte: Wine Institute (2015).

O país que mais produz vinhos, em âmbito mundial, é a Itália, representando 17,43% de toda a produção da bebida, seguida por França (16,73%), Espanha (13,10%) e Estados Unidos (10,48%), sendo o Brasil o 15º maior produtor, responsável por 0,99% da produção mundial (WINE INTITUTE, 2015).

### 2.3.2 Consumo de vinho

O consumo total de vinho em alguns países, nos anos de 2013 a 2015, é apresentado na Tabela 3. O país que mais consumiu vinho nestes anos foram os Estados Unidos, retendo 13,43% do consumo mundial, seguido por França (11%), Itália (8,30%), Alemanha (8,30%) e China (6,48%). O Brasil consumiu cerca de 1,42%, aproximadamente 1,70 L de vinho *per capita*, sendo de 350.000 L o volume total consumido somente no ano de 2015 (WINE INSTITUTE, 2015).

Tabela 3 - Consumo mundial de vinhos nos anos de 2013 a 2015.

País	Consumo Mundial (%)
Estados Unidos	13,43
França	11,01
Itália	8,30
Alemanha	8,30
China	6,48
Reino Unido	5,22
Argentina	4,17
Espanha	4,05
Rússia	3,60
Australia	2,19
Canadá	2,11
Portugal	1,94
África do Sul	1,70
Romênia	1,58
Japão	1,42
Brasil	1,42

Fonte: Wine Institute (2015).

Conforme dados apresentados, existe uma variação no consumo de vinho conforme a classe socioeconômica dos brasileiros, sendo as classes A, B, C, D e E responsáveis pelo consumo de cerca de 38%, 27%, 25%, 24% e 18%, respectivamente. Além disso, a região do Brasil que mais consome vinho é a região sul (29%), seguida pelo sudeste (27%), o norte (26%), o centro-oeste (24%) e o nordeste (18%) (BRASIL, 2007).

### 2.3.3 Contaminação de vinhos por OTA

As uvas (*Vitis vinifera* L.) estão sujeitas à contaminação por microrganismos presentes no ambiente da lavoura, na colheita e na elaboração dos vinhos. Atualmente, dentre os microrganismos contaminantes, há uma maior preocupação com relação aos fungos produtores de micotoxinas, em especial a OTA, sendo *Aspergillus* o principal gênero produtor desta toxina em uvas (*Vitis vinifera* L.) (ROUSSEAU et al., 2014; SERRA et al., 2006).

A OTA foi detectada pela primeira vez, em vinhos, em 1995 (ZIMMERLI; DICK, 1995). Desde então também tem sido detectada em outros produtos derivados da uva (VARGA; KOZAKIEWICZ, 2006). A contaminação do vinho se dá quando as uvas destinadas ao processamento são alvo do desenvolvimento de fungos e, assim, a matéria-prima é a responsável pela maior fonte de OTA na bebida (NUNEZ et al., 2008).

Durante a maturação das uvas ocorre um aumento no teor de açúcar e o amolecimento da película da baga e, até a colheita, as uvas tornam-se mais susceptíveis à infecção por



fungos toxigênicos (BATTILANI; MAGAN; LOGRIECO, 2006; LEONG et al., 2006, 2007). Assim, o retardamento da colheita de uvas pode aumentar o risco de contaminação por OTA (GAMBUTI et al., 2005).

Na produção do vinho tinto, as cascas das uvas ficam em contato com o mosto durante a etapa de esmagamento e fermentação, transmitindo a OTA produzida pelos fungos que se desenvolveram nas cascas para o líquido, que sofrerá outras etapas de processamento. Quando são utilizadas uvas rosadas ou tintas para a produção do vinho branco, as cascas são removidas logo no começo do processamento, reduzindo, assim, a quantidade de OTA que é transmitida ao mosto (MATEO et al., 2007).

### 2.3.4 Microbiota das uvas e fungos produtores de micotoxinas

O ecossistema microbiano da uva é composto por uma grande diversidade de microrganismos capazes de se desenvolver em pH ácido, incluindo leveduras, bactérias e fungos, saprofíticos, fitopatogênicos e toxigênicos. Os gêneros de fungos filamentosos comumente encontrados em uvas são *Alternaria*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Rhizopus* (ABRUNHOSA et al., 2001; BELLÍ et al., 2006; MUNDY; CASONATO; MANNING, 2009; SERRA et al., 2006).

Diversos estudos têm relatado que, na superfície de bagas sadias, a maior parte da microbiota é formada por leveduras (FLEET; HEARD, 1993; NALLY et al., 2012; PITT; HOCKING, 1997), sendo algumas espécies produtoras de compostos antifúngicos, inibindo, assim, o crescimento de fungos filamentosos na superfície das bagas. Já em bagas injuriadas ocorre uma maior incidência de fungos filamentosos (NALLY et al., 2012).

O principal fungo filamentoso responsável pela podridão da uva é *Botrytis cinerea*, um patógeno que danifica as bagas e tem efeito prejudicial nas propriedades organolépticas das uvas e seus derivados. No entanto, a maioria dos estudos sobre fungos filamentosos em uvas tem se concentrado em dois gêneros, *Aspergillus* e *Penicillium*, os quais também causam podridão nas uvas, tornando-as secas, com aspecto enrugado e têm sido associados à deterioração de uvas e à produção de micotoxinas (ROUSSEAU et al., 2014; SERRA et al., 2006).

O gênero *Penicillium* tem sido relatado como agente causador do mofo verde, uma doença secundária em bagas maduras que resulta em perda de mosto, de cor e diminuição na concentração de açúcares (KASSEMAYER; BERKELMANN-LÖHNERTZ, 2009). Este gênero é mais frequentemente encontrado em vinhedos mais frios e secos. Algumas espécies

têm sido relatadas como produtoras de micotoxinas em uvas, como a patulina e a citrinina, porém, estas toxinas tendem a ser degradadas no processo de fermentação na elaboração de vinhos (ROUSSEAU et al., 2014). *P. chrysogenum* foi a espécie mais comumente isolada na Argentina (MAGNOLI et al., 2003), enquanto, na França e em Portugal, a espécie de maior incidência foi *P. brevicompactum* (SAGE et al., 2002; SERRA et al., 2006). No entanto, em outros estudos *P. expansum* foi identificada como a espécie mais frequentemente isolada de vinhedos portugueses (ABRUNHOSA et al., 2001) e franceses (BEJAOU et al., 2006; LA GUERCHE et al., 2004). Na região vitivinícola do Vale do Submédio São Francisco, Freire (2016) encontrou uma grande diversidade de espécies pertencentes a este gênero, entre elas *Penicillium sclerotiorum*, *P. solitum*, *P. glabrum*, *P. decumbens*, *P. implicatum* e *P. citrinum*, cuja produção de citrinina foi observada em todos os isolados.

Estes estudos demonstram que a incidência de diferentes espécies do gênero varia não apenas com a localização geográfica, mas também com a safra e as condições climáticas. Por isso, é provável que seja difícil generalizar a gestão de controle de fungos filamentosos (ROUSSEAU et al., 2014).

*Aspergillus* são fungos saprofíticos, presentes na camada superior do solo de cultivo das videiras, que é levado para os cachos e se desenvolve nas bagas (LEONG et al., 2006). Estão presentes nos cachos desde o início do ciclo, porém, sua ocorrência aumenta significativamente nos estágios posteriores de crescimento das uvas até a colheita, quando a umidade relativa e a temperatura encontram-se mais elevadas (BATTILANI; GIORNI; PIETRI, 2003).

Segundo Leong et al. (2006), no período após a maturação, quando a película da baga torna-se macia, os açúcares acumulam-se e há redução da acidez, ocorrendo uma maior susceptibilidade à infecção das bagas por *Aspergillus*. No entanto, antes que isso ocorra, os fungos precisam sobreviver no vinhedo, muito provavelmente no solo. Fatores como a atividade de água e a temperatura afetam a sobrevivência dos esporos destes fungos, influenciando o inóculo inicial quando as uvas se tornam susceptíveis (BATTILANI; MAGAN; LOGRIECO, 2006; BELLÍ et al., 2005; SERRA; BRAGAB; VENÂNCIO, 2005).

*A. carbonarius* e *A. niger*, pertencentes à Seção *Nigri*, são as espécies mais isoladas, representando de 50% a 98,5% do gênero isolado de bagas de uvas (*Vitis vinifera* L.) (ROUSSEAU et al., 2014). Isolados de *A. aculeatus*, *A. awamori*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. melleus*, *A. niveus*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. tubingensis*, *A. uvarum* e *A. wentii* também têm sido encontrados, mas em baixas frequências (BAU et al., 2005; BEJAOU et al., 2006; LEONG et al., 2007; SAGE; GARON; EIGLE-MURANDI,

2004; SERRA; BRAGAB; VENÂNCIO, 2005; SOMMA; PERRONE; LOGRIECO, 2012; SPADARO et al., 2012).

*Aspergillus niger*, *A. carbonarius*, *A. aculeatus*, *A. niger* agregado, *A. flavus* e *A. sojae* foram isolados de uvas produzidas no Vale do Submédio São Francisco. Todas as espécies de *A. carbonarius* produziram OTA, enquanto 60% de *A. ochraceus* e apenas 14,29% de *A. niger* e *A. niger* agregado foram produtores da toxina. Todos os isolados de *A. parasiticus* foram produtores de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, no entanto, apenas 14% de *A. flavus* produziram aflatoxina B1, B2 (FREIRE, 2016).

O aumento da temperatura, no mês que precede a colheita das uvas, favorece o desenvolvimento dos *Aspergillus* Seção *Nigri* (BELLÍ et al., 2005) que, devido aos seus esporos pretos, são altamente resistentes à luz solar e sobrevivem à exposição ao sol, obtendo uma vantagem competitiva em climas mais quentes (ROTEM; AUST, 1991). O aumento da umidade relativa entre 80 e 100% também favorece o desenvolvimento destes fungos, bem como a produção de toxinas (BELLÍ et al., 2007).

A incidência de *Aspergillus* em uvas aumenta quando ocorre irrigação excessiva durante o estágio de maturação, o que provoca o rompimento das bagas. Períodos de chuva durante a colheita também podem causar o rompimento. Além disso, os danos na superfície das bagas podem ser causados por insetos, aves e outros fungos, facilitando o desenvolvimento de espécies produtoras de micotoxinas (LEONG et al., 2006). A presença de traças e insetos também pode dispersar ou carregar esporos para as bagas de uvas, facilitando, assim, a penetração rápida dos fungos na fruta (COZZI et al., 2006).

Diferentes condições climáticas podem afetar o desenvolvimento dos fungos (BATTILANI; MAGAN; LOGRIECO, 2006; BELLÍ et al., 2005; LEONG et al., 2006). Temperatura, umidade, aeração, período de infecção e a interação entre diferentes fungos são fatores que irão influenciar o desenvolvimento das espécies e, conseqüentemente, a produção de micotoxinas (SCUDAMORE; PATEL; BREEZE, 1999).

Na Tabela 4 estão apresentadas as principais características para o desenvolvimento dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, principais produtores de OTA em uvas.

Tabela 4 - Principais características dos fungos produtores de OTA.

Gênero <i>Aspergillus</i>	Gênero <i>Penicillium</i>
Crescimento a temperaturas mais altas: <i>A. ochraceus</i> : 8 a 37 °C (Max 31°C); aw até 0,77 <i>A. carbonarius</i> : 32 a 35 °C; aw 0,82 <i>A. niger</i> : 8 a 47°C (Max 37 °C); aw até 0,72	Crescimento a temp. <30 °C (Max. a 20 °C); aw até 0,8; pH entre 6,0-7,0
Contaminante de café, uvas-passas Regiões mais quentes e dos trópicos	Contaminante de cereais armazenados e carne Norte e centro da Europa e Canadá

Fonte: Nogueira e Oliveira (2006).

Tem sido demonstrado em estudos que o fungo responsável pela maior produção de OTA nas uvas é o *Aspergillus carbonarius*, que se desenvolve em bagas danificadas. Porém, para que haja o crescimento deste fungo, as condições climáticas e de atividade de água ( $a_w$ ) devem ser favoráveis (CLOUVEL et al., 2008). Passamani (2014) avaliou a ocorrência de fungos *Aspergillus* Seção *Nigri* em uvas cultivadas nos estados de São Paulo, Minas Gerais e no Vale do Submédio São Francisco, bem como os principais parâmetros que influenciam o desenvolvimento das espécies e a consequente produção de micotoxinas. As condições de cultivo nas quais *A. carbonarius* apresentou maior crescimento foram as seguintes: temperatura entre 20 °C a 33 °C; aw entre 0,95 e 0,98 e pH entre 5 e 6,5. A maior concentração de toxina (10 µg/g) foi à temperatura de 15 °C, pH superior a 6,0 e aw de 0,99. Para o *A. niger*, a condição de cultivo ótima para o crescimento foi na temperatura entre 25 °C e 40 °C, aw superior a 0,96 e pH entre 4,0 e 6,5. A maior síntese de toxina (7 µg/g) ocorreu na temperatura de 15 °C e níveis superiores a 0,98 de aw.

As principais espécies determinadas como produtoras de OTA em uvas e vinhos em diversos países são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Fungos responsáveis por contaminação de OTA em uvas e vinhos, em diferentes países.

País	Espécie responsável
Argentina	Agregado de <i>Aspergillus niger</i>
Austrália	<i>Aspergillus carbonarius</i>
Brasil	<i>Aspergillus carbonarius</i> e agregado de <i>Aspergillus niger</i>
França	<i>Aspergillus carbonarius</i>
Grécia	<i>Aspergillus carbonarius</i> e agregado de <i>Aspergillus niger</i>
Hungria	Agregado de <i>Aspergillus niger</i>
Israel	<i>Aspergillus carbonarius</i> e agregado de <i>Aspergillus niger</i>
Itália	<i>Aspergillus carbonarius</i> e agregado de <i>Aspergillus niger</i>
Portugal	<i>Aspergillus carbonarius</i> , agregado de <i>Aspergillus niger</i> e <i>A. ochraceus</i>
Espanha	<i>Aspergillus carbonarius</i> e <i>A. ochraceus</i>

Fonte: Varga e Kozakiewicz (2006).

Terra (2014) avaliou a incidência dos fungos *Aspergillus* Seção *Nigri* em diferentes cultivares de uvas viníferas da região tropical do Brasil e verificaram o efeito de fungicidas sobre o crescimento de *A. carbonarius* e a produção de OTA. A uva ‘Petit Verdot’ foi a que apresentou maior incidência de contaminação, demonstrando que a cultivar pode influenciar a incidência dos fungos *Aspergillus* Seção *Nigri*. Todos os isolados de *A. carbonarius* (103) foram produtores de OTA, enquanto nas demais espécies nenhum dos isolados foi ocratoxigênico. Em relação aos testes envolvendo a eficácia dos fungicidas, na dose comercial recomendada, a maioria dos produtos testados foi efetiva no controle do crescimento de *A. carbonarius*, bem como na produção de OTA *in vitro*, sendo este efeito influenciado pelo tipo de fungicida, pela dose utilizada e pela temperatura. A temperatura foi considerada fator determinante que influencia a efetividade dos fungicidas sobre o crescimento de *A. carbonarius* e a produção de OTA, tendo a maior redução do crescimento e a maior produção de OTA sido detectados a 15 °C. Ao contrário do que foi observado *in vitro*, as doses dos fungicidas testadas não foram efetivas no controle de *A. carbonarius* em uvas. Assim, o efeito direto dos fungicidas nas uvas deve ser mais estudado, a fim de se obter uma maior aproximação das condições que ocorrem no campo.

### 2.3.5 Legislação para o controle de OTA

O difícil controle fúngico nos alimentos, a especial estabilidade e a alta toxicidade apresentada pela OTA sustentam o estabelecimento de níveis máximos desta micotoxina (e também para outras) nos alimentos.

Vários países têm estabelecido os níveis máximos de OTA em alimentos, incluindo Brasil, Israel, Suíça, Uruguai e União Europeia (WU; BUI-KLIMKE; SHIELDS, 2014). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina, pela Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011), os níveis de OTA em alimentos (Tabela 6). Já na União Europeia, os níveis máximos de OTA nos alimentos foram determinados pela Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (*European Food Safety Authority* – EFSA), por meio da Comissão Reguladora EC nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006 (EUROPEAN UNION - UE, 2006). A EFSA também determina o valor de ingestão semanal tolerável de OTA, sendo igual a 120 ng kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo.

Tanto a ANVISA quanto a EFSA estabelecem, para o vinho, a concentração máxima permitida de OTA igual a 2 µg kg<sup>-1</sup>. Dessa forma, concentrações menores que a estabelecida no produto em questão são seguras.

Tabela 6 - Limites máximos tolerados (LMT) para ocratoxina A, segundo RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.

Alimento	LMT (µg/kg)
Cereais e produtos de cereais, incluindo cevada malteada	10
Feijão	10
Café torrado (moído ou em grão) e café solúvel	10
Vinho e seus derivados	2
Suco de uva e polpa de uva	2
Especiarias	30
Alimentos à base de cereais para alimentação infantil	2
Produtos de cacau e chocolate	5
Amêndoa de cacau	10
Frutas secas e desidratadas	10

Fonte: Brasil (2011).

### 2.3.6 Produção e importação de vinhos no Brasil

A cultura da videira tem grande valor, não apenas por representar a maior produção mundial do setor de horticultura, mas também por trazer conexões históricas com o desenvolvimento da humanidade. O produto principal, o vinho, foi considerado, pelos povos

antigos, a bebida dos deuses, estando acessível apenas aos poderosos da época (THIS; LACOMBE; THOMAS, 2006).

Não se podem situar, com precisão, o local e a data em que se fabricou vinho pela primeira vez. As sementes de uva mais antigas foram encontradas na Geórgia e há indícios de que sejam da variedade *Vitis vinifera sativa*. Sabe-se que se cultivavam videiras e, provavelmente, produzia-se vinho na região ao sul das montanhas do Cáucaso, há, pelo menos, sete mil anos (JONHSON, 2001).

A maior concentração da produção de uvas ocorre na Europa, embora sua área de cultivo e consequente produção estejam sendo reduzidas de forma expressiva. A área média de viticultura, em 1990/1992, representava 67,31% do total mundial, passando para 56,35%, no triênio 2005/2007. Nesse mesmo período, a produção de uvas na Europa, que representava 60,12% da mundial, caiu para 43,14%. Em contrapartida, ocorreu aumento na área e na produção dos demais continentes. Considerando a média da produção dos anos 2005/2008, em relação à média 1990/1992, o continente europeu apresentou redução na produção de uvas de 23,35%. A Ásia, a América, a África e a Oceania aumentaram a produção em 115,93%, 35,99%, 60,35% e 92,35%, respectivamente, no mesmo período (MELLO, 2009).

As primeiras videiras cultivadas no Brasil eram de origem europeia e surgiram com a chegada dos colonizadores portugueses (1532). Em meados do século XIX, os imigrantes italianos introduziram a variedade de uva americana ‘Isabel’, culminando na rápida substituição dos vinhedos das variedades europeias, tornando-se a base para o desenvolvimento da vitivinicultura comercial nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo. A partir do início do século XX, a viticultura paulista substituiu as cultivares da variedade Isabel por ‘Niágara Branca’ e ‘Seibel II’. Neste mesmo período, com incentivos governamentais, o Rio Grande do Sul intensificou a plantação de castas viníferas (BOTELHO; PIRES, 2009). O cultivo da uva, no Brasil, sempre esteve restrito às regiões sul e sudeste, mantendo as características de cultura de clima temperado, em que, após o ciclo de colheita, a videira passava por um período de repouso, nas baixas temperaturas do inverno. A partir da década de 1960, a uva ‘Itália’ passou a ser introduzida com sucesso na região semiárida do Vale do Submédio São Francisco, marcando o início da viticultura tropical no Brasil (WENDLER, 2009). Camargo, Tonietto e Hoffmann (2011) destacam que a viticultura tropical também passou a ser cultivada no noroeste paulista e no norte de Minas Gerais. Nos últimos anos, esta expansão ocorreu pelos estados do Espírito Santo, de Mato Grosso do Sul, de Mato Grosso, de Goiás, de Rondônia, do Ceará e do Piauí.

Devido à diversidade ambiental é possível observar diferentes características bioclimáticas entre as regiões vitivinícolas do Brasil, sendo possível encontrar videiras com um, dois ou três ciclos anuais (PROTAS et al., 2005).

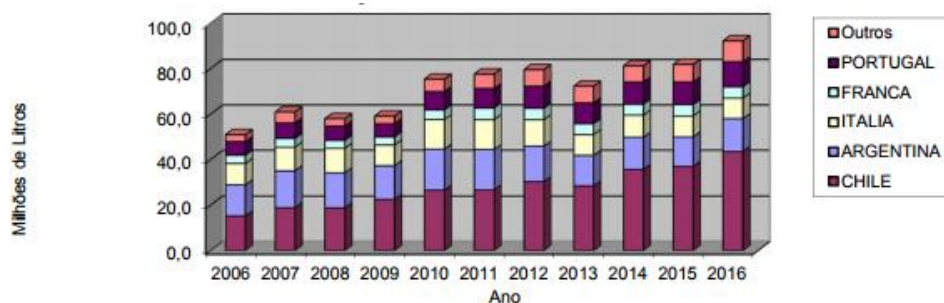
De acordo com os dados estatísticos disponíveis, observou-se que, em 2014, ocorreu aumento de 1,64% na produção nacional de uvas, principalmente nos estados da Bahia e de Santa Catarina. Na Bahia, em 2014, o aumento da produção foi de 46,77%, em relação ao ano de 2013. Nesse estado houve a substituição de cultivares tradicionais de baixa produtividade, cujas áreas estavam sendo abandonadas, por cultivares protegidas (importadas) de alta produtividade, oriundas, principalmente, de grandes empresas americanas, italianas e sul-africanas. Em Santa Catarina, onde ocorreu aumento de 24,37% na produção, houve apenas a reposição da produção perdida em 2013, devido à geada ocorrida em alguns locais de produção. Verificou-se, também, aumento de produção nos estados de Pernambuco, Paraná e Rio Grande do Sul, de 3,52%, 2,35%, e 0,53%, respectivamente. Em Minas Gerais, São Paulo e Goiás ocorreu redução de produção no ano de 2014. Nos estados do Ceará e de Goiás, onde a viticultura está sendo implantada, era esperado aumento de produção, no entanto, houve redução de 13,70% e de 27,31%, respectivamente. Em Minas Gerais, a redução da produção foi de 9,24% e, em São Paulo, diminuiu 15,09%. Em 2014, a produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 673 milhões de kg de uvas, representando 46,89% da produção nacional. O restante da produção (53,11%) foi destinado ao consumo *in natura* (MELLO, 2015).

Apesar da produção significativa de uvas e da elaboração de vinhos no país, observa-se um aumento nas importações do produto. No ano de 2014, as importações mostraram aumento de, aproximadamente, 10% (MELLO, 2015).

O Brasil importa vinhos de 30 países, sendo a maior parte do volume total proveniente do Chile, Argentina, Itália e França. Os vinhos chilenos representam 43,5% das importações brasileiras e os argentinos, 14,5%, ou seja, o brasileiro consome, aproximadamente, 60% de vinhos provenientes destes países. Os vinhos do Velho Mundo mais importados são os da Itália, França e Portugal, representando 9%, 5% e 10,9%, respectivamente (INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO - IBRAVIN, 2016). Na Figura 4 é possível observar a evolução e o aumento das importações ao longo dos anos, bem como a representatividade de cada país no volume total importado.



Figura 4 - Importações brasileiras de vinhos por país de origem.



Fonte: IBRAVIN (2016).

A participação significativa dos vinhos chilenos e argentinos no consumo de vinhos pode ser entendida, do ponto de vista econômico, pelo fato de os preços dos vinhos oriundos do Mercosul serem mais competitivos, tanto pelo fator cambial como pelos custos logísticos mais baixos.

#### 2.4 Compostos fenólicos dos vinhos

Os compostos fenólicos são os metabólitos secundários mais abundantes presentes no reino vegetal (SUN et al., 2016). Nas uvas, tais compostos são formados durante o amadurecimento e estão relacionados a várias das principais características do vinho (MA et al., 2014), exercendo influência significativa nos aspectos sensoriais da bebida, tais como maciez, cor, palatabilidade, amargura e adstringência (ISABELLE et al., 2009; MA et al., 2014).

Tais compostos são formados durante o amadurecimento da uva a partir de aminoácidos aromáticos pela via do ácido siquímico na seguinte ordem: em primeiro, os ácidos fenólicos que, juntamente com os estilbenos, pertencem ao grupo dos não flavonoides e, em segundo, os flavonoides - antocianinas, flavonóis e flavanóis. São constituintes naturais que exercem ação antioxidante devido à sua estrutura química (anel benzênico com hidroxilas associadas) e podem propiciar diversos benefícios biológicos (DAUDT; POLENTA, 1999; MA et al., 2014).

A quantidade de compostos fenólicos gerada no vegetal varia de acordo com as condições de cultivo e de produção do alimento. Muitos fatores influenciam o teor destes compostos em vinhos, entre eles a variedade da uva utilizada na produção da bebida, o solo de cultivo, a localização geográfica e as condições climáticas ("terroir"), o processo de vinificação e envelhecimento, etc. (GORINSTEIN et al., 1984; MA et al., 2014; SUN et al., 2015, 2016; ROBINSON; WINGE, 2010).

As uvas e os vinhos são considerados grandes fontes dietéticas de compostos fenólicos (ALÉN-RUIZ et al., 2009; SANTOS, 2006). Como consequência, o vinho tinto é uma das bebidas mais citadas quanto aos benefícios promovidos pela sua ação antioxidante, contribuindo para a prevenção de neoplasias e distúrbios cardiovasculares, dentre outros (DUDLEY et al., 2008; MINUTI; PELLEGRINO; TESEI, 2006; NETZEL et al., 2003).

A estrutura base dos flavonoides é constituída por dois anéis aromáticos ligados por um anel pirano. A classificação deste grupo de fenólicos encontra-se associada ao nível de hidroxilação, metilação, acilação ou glicosilação da estrutura fundamental, resultando em considerável quantidade de classes (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; PETERSON; DWYER, 1998). Dos flavonoides, as antocianinas e os taninos despertam maior interesse por serem responsáveis pela coloração tinta e a estrutura dos vinhos, respectivamente, exercendo, ainda, fundamental papel no seu equilíbrio gustativo (LIMA, 2010; USSEGLIO-TOMASSETTI, 1995). À exceção das variedades tintureiras, a produção das antocianinas em uvas é restrita à casca, em concentrações que variam 300 a 750 µg, predominando as formas glicosiladas de delphinidina, petunidina, peonidina e cianidina.

O vinho tinto apresenta maiores quantidades de substâncias fenólicas que o vinho branco (GUERRA; BARNABÉ, 2005) devido à composição das uvas, ao maior contato das cascas, sementes e engaços durante o processamento, sendo a catequina e o ácido gálico os compostos de maior ocorrência.

Em uma pesquisa realizada com quatro vitiviníferas cultivadas no Vale do Submédio São Francisco, Lima (2010) encontrou que o maior teor de antocianinas na data da vindima foi exibido pela Cabernet Sauvignon (1.067,3 mg.L<sup>-1</sup>), tendo as variedades Tempranillo e Syrah alcançado 944,4 mg.L<sup>-1</sup> e 939,6 mg.L<sup>-1</sup> e a Grenache, apenas 271,08 mg.L<sup>-1</sup>. Esta variabilidade pode ser decorrente das características genéticas das variedades, a exemplo das bagas da Cabernet Sauvignon, com menor tamanho, propiciando maior acúmulo de antocianinas (PEYNAUD, 1997; USSEGLIO-TOMASSETTI, 1995) e da temperatura, por mecanismos ainda não estabelecidos de redução e degradação e da associação de ambos. Convém ressaltar que, embora temperaturas acima de 35 °C, durante o período de amadurecimento das uvas, exerçam pouca influência sobre a concentração dos compostos fenólicos, a luz solar exerce efeito significativo sobre a biossíntese das antocianinas, assim sendo o binômio luz/calor indispensável à síntese de fenólicos, aumentando, principalmente, o acúmulo de flavonóis (GUERRERO et al., 2009; PEREIRA et al., 2005). Ademais, Berli et al. (2008), investigando os efeitos da incidência da luz solar sobre a biossíntese de

antocianinas em *Vitis viniferas* em relação à altitude (500, 1.000 e 1.500 m acima do nível do mar), constataram que quanto maior a incidência solar maior o teor de antocianinas.

Com relação aos flavanóis (catequina, epicatequinas e epigallocatequinas), encontrados, principalmente, nas sementes e no engaço das uvas, suas frações oligoméricas e poliméricas contribuem para uma maior maciez do vinho, menor adstringência e amargor e maior permanência gustativa, assim como melhor corpo e estrutura para envelhecimento (WATERHOUSE; IGNELZI; SHIRLEY, 2002).

Além destes flavonoides, o vinho tinto contém quantidades apreciáveis de flavonóis – quercetina, miricetina e caempferol – e de não flavonoides - estilbenos e ácidos fenólicos (CIMINO et al., 2007; PATAKI et al., 2002).

Dos integrantes dos flavonóis, a quercetina, quantitativamente majoritária, atua indiretamente no perfil gustativo (RISTIC et al., 2007). No que diz respeito aos não flavonoides, os ácidos fenólicos caracterizam-se por apresentarem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e uma ou mais hidroxila e/ou metoxila. Encontram-se agrupados como ácidos benzoicos, com sete átomos de carbono que compõem o grupo mais simples encontrado na natureza, do qual faz parte o ácido gálico. Também fazem parte deste grupo os ácidos cinâmicos, que apresentam nove átomos de carbono, como o ácido cafeico, o *p*-cumárico e as cumarinas, derivadas dos ácidos cinâmicos por ciclização da cadeia lateral do ácido *p*-cumárico (DIMITRIOS, 2006; SOARES, 2002). Analisando a composição fenólica de *Vitis viniferas* cultivadas em Minas Gerais na safra 2006, Abe et al. (2007) obtiveram resultados equivalentes a 1,92 e 6,8 mg.L<sup>-1</sup> de ácidos hidroxinâmicos para Syrah e Merlot, respectivamente. No que diz respeito ao conteúdo de fenólicos em vinhos comerciais, Minussi et al. (2003) observaram que, dos ácidos fenólicos, o gálico encontrava-se presente em maior quantidade, enquanto, dos flavonoides, a catequina apresentou o teor mais elevado. Fracassetti et al. (2011) encontraram teores de ácido cafeico entre 0,16 e 19,4 g.ml<sup>-1</sup>, em vinhos brancos da variedade Sauvignon Blanc, safra de 2010, elaborados na África do Sul. Estes resultados sugerem a importância destes compostos no desempenho da atividade antioxidante em vinhos comerciais. Quanto aos estilbenos oriundos das cascas das uvas, seu principal representante, o resveratrol, nas formas isoméricas *cis* e *trans*, tem sido objeto de inúmeras pesquisas, em razão da sua comprovada atividade biológica (GRESELE et al., 2011). Conhecidos como substâncias que apresentam um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, o potencial antioxidante dos compostos fenólicos depende do número e do arranjo dos grupos hidroxila, da extensão da conjugação, bem como da presença de doadores de elétrons na estrutura do anel (BERTAGNOLLI et al., 2007;

GRESELE et al., 2011). Esta atividade protetora deve ser atribuída à sua habilidade em quelar metais, inibir a peroxidação lipídica e sequestrar radicais livres (CHEUNG; CHEUNG; OOI, 2003; OLIVEIRA et al., 2006). Denota-se, portanto, que as uvas, e por extensão seus vinhos, constituem uma das maiores fontes de compostos fenólicos, dos quais se destacam os flavonoides (antocianinas, flavanóis e flavonóis) e os ácidos fenólicos (ácidos cinâmicos e benzóicos). No que diz respeito às suas propriedades funcionais, conforme Abe et al. (2007) e García-Alonso et al. (2006), quanto mais intensa for a coloração da uva, maior será o seu potencial antioxidante e, conseqüentemente, de seus vinhos. Dessa forma, estes metabólitos secundários integram a dieta humana na qualidade de compostos antioxidantes, contribuindo para a redução do risco de doenças cardiovasculares, a inibição da agregação plaquetária e da oxidação de LDL-colesterol e a redução do estresse oxidativo, sendo também relacionados à melhora do perfil lipídico sanguíneo e de processos inflamatórios (RASINES-PEREA; TEISSEDRE, 2017).

#### **2.4.1 Propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos**

O debate sobre a relação do consumo de vinho e a saúde teve seu início marcado por uma pesquisa epidemiológica patrocinada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), realizada na França, que demonstrou que, apesar do elevado consumo de gorduras saturadas, a mortalidade por cardiopatias era mais baixa que as registradas para os Estados Unidos e a Grã-Bretanha. De Lorgeril et al. (1996) comprovaram que esta relação inversa era devido ao alto consumo de vinho pelos franceses, estabelecendo o conhecido “paradoxo francês” que, nas últimas décadas, tem motivado a realização de pesquisas científicas para identificar e avaliar a atividade biológica dos constituintes do vinho (CIMINO et al., 2007; FEHÉR; LENGYEL; LUGASI, 2007).

Dessa forma, os componentes do vinho passaram a ser reconhecidos como antioxidantes alimentares, sendo “capazes de reduzir significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo”, conforme descrito pela United States National Academy of Sciences (2000).

Como agentes antioxidantes, os compostos fenólicos do vinho atuam no controle do estresse oxidativo, inibindo a oxidação da LDL, que leva ao acúmulo de colesterol na lesão aterosclerótica, exercendo, portanto, efeitos antiescleróticos e antitrombóticos (HOLLMAN, 2001; TIWARI, 2004).

As propriedades biológicas e antioxidantes, bem como a biodisponibilidade dos polifenóis das uvas, foram revisadas por Xia et al. (2010), que ressaltaram a importância das antocianinas no relaxamento dos vasos por inibição de algumas enzimas, sugerindo propriedade cardioprotetora. Complementando estes achados, Sun et al. (2012) verificaram a correlação entre a classe de antocianinas e a atividade antioxidante determinada por DPPH 19 por meio de dois métodos diferentes. Em ambos, encontrou-se que a delphinidina se caracteriza por sua maior correlação com o potencial antioxidante. Em estudos *in vivo* já foram identificadas, por meio da suplementação de antocianinas, a redução dos níveis de triglicerídeos e a rápida perda de peso em ratos dislipidêmicos, além do aumento da capacidade do relaxamento endotelial em suínos, sugerindo a participação das antocianinas na redução da aterosclerose, como já afirmado por alguns autores (BELL; GOCHENAUR, 2006; PASCUAL-TERESA; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2010; YANG et al., 2011).

Porém, estes efeitos não são atribuídos de maneira isolada para um composto, já que o vinho apresenta teor de polifenóis totais muito significativo, se comparado ao de outras fontes alimentares. Dessa forma, a catequina, representante dos flavanóis, também se apresenta como um biomarcador de estresse oxidativo e dano ao DNA, em modelos animais.

Analisando a atividade antioxidante de vinhos enriquecidos com extratos de catequina e comparando-os com vinhos tintos australianos, Yoo et al. (2011, 2012) encontraram um maior potencial antioxidante nos vinhos enriquecidos, apesar de não terem encontrado correlação significativa entre o teor de catequina e a atividade antioxidante.

Quanto aos flavonóis, a suplementação com quercetina em humanos reduziu significativamente a pressão arterial em indivíduos com alto risco cardiometabólico estabelecido por biomarcadores de DC, comprovando que o vinho também pode atuar na regulação da vascularidade (EGERT et al., 2010). Corroborando os dados deste trabalho, Radovanovi et al. (2012) avaliaram vinhos tintos da Sérvia e encontraram na quercetina o composto de maior correlação com atividade antioxidante estabelecida pelo método DPPH. Em *hamsters* alimentados com dieta suplementada com vinhos, Tsanga et al. (2005) observaram aumento do colesterol HDL e redução do colesterol plasmático. Kaga et al. (2005), avaliando a atividade do resveratrol na indução de fatores de crescimento vascular em ratos, verificaram que este fenólico estimulou, significativamente, a formação de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes, minimizando, dessa forma, o risco de isquemia. Ademais, o resveratrol é o principal responsável pelos efeitos anticancerígenos do vinho (RODRIGO; MIRANDA; VERGARA, 2011). Do exposto, depreende-se que, nos últimos anos, houve um progresso significativo em relação ao conhecimento do possível papel dos

polifenóis do vinho na promoção da saúde em humanos e de seus possíveis mecanismos de ação na prevenção de doenças. Entretanto, é importante ressaltar que estes efeitos benéficos à saúde dependem da composição fenólica das variedades de uvas, da localização do plantio e do processo de vinificação (GIADA; MANCINI FILHO, 2006; RATHIEL et al, 2007).

#### **2.4.2 Origem e presença de compostos fenólicos na uva e no vinho**

Os compostos fenólicos são largamente distribuídos no reino vegetal, fazendo parte da composição da dieta de forma significativa e são particularmente importantes atrativos como agentes profiláticos e também pelo seu efeito plurifarmacológico (BAHORUN et al., 2004; SOOBRAATTEE et al., 2005).

Os compostos fenólicos são classificados em dois grandes grupos, os flavonoides e os não flavonoides. Os flavonoides representam o maior grupo de polifenóis encontrados em alimentos (SCALBERT; WILLIANSO, 2000), além de serem considerados os mais potentes antioxidantes entre os compostos fenólicos (SHAHID; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; SOOBRAATTEE et al., 2005). Os principais flavonoides presentes no vinho abrangem os flavonóis (quercetina, kaempferol e miricetina), os flavanóis ((+)-catequina, (-)-epicatequina, galocatequina, procianidinas, taninos condensados) e as antocianinas (cianina e, principalmente, a malvidina-3-glicosídeo). Dentre os fenólicos não flavonoides destacam-se os derivados do ácido hidroxibenzoico, ácido gálico e elágico; os derivados do hidroxicinâmico (ácido cafeico, caftárico e *p*-coumárico) e o estilbeno (resveratrol *cis* e *trans*) (JACKSON, 1994).

As antocianinas são flavonoides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982). Nas videiras, elas acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas (RENAUD; LORGEHIL, 1992). São compostos que, com o envelhecimento do vinho, tendem a formar complexos com outros compostos fenólicos, dando a estabilidade de cor desejável ao vinho, e também estão associadas aos efeitos benéficos à saúde (TEDESCO et al., 2000).

Os flavonóis se acumulam nas cascas e nas folhas das plantas porque a sua síntese é estimulada pela luz. Isso pode explicar a possível diferença de composição entre frutos de uma mesma planta, ou seja, os frutos que recebem uma maior quantidade de luz tendem a ter

uma síntese pronunciada desses compostos (PRICE et al., 1995). Os flavonóis são os pigmentos amarelos da uva e são encontrados, principalmente, na película e, geralmente, ligados a açúcares, como a glicose, a rafinose e o ácido glucorônico. O flavonol predominante nas cultivares de *Vitis vinifera* é o kaempferol, enquanto, nas cultivares de *Vitis labrusca*, é a quercetina (JACKSON, 1994).

A (+)-catequina e a (-)-epicatequina são as unidades básicas do grupo dos flavanóis. As procianidinas (também conhecidas como taninos condensados) são formadas pela associação de várias unidades monoméricas (2 a 5 unidades) de catequinas oligoméricas, além de cinco unidades de catequinas poliméricas. As procianidinas diferem, em posição e em configuração, de outras ligações monoméricas. A estrutura das procianidinas dímeras B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e B<sub>4</sub> lhes confere propriedades antioxidantes, as quais podem inibir os processos de trombose arterial (TEISSEDRE; LANDRAULT, 2000). A catequina e a epicatequina são, normalmente, encontradas em frutas, enquanto a galocatequina e a epigalocatequina são encontradas em sementes (YILMAZ; TOLEDO, 2004) e, principalmente, em chás (LUXIMON-RAMMA et al., 2005).

A quantidade de catequinas, proantocianinas e seus derivados com características técnicas é baixa em vinhos brancos e em extratos de uva tinta (JACKSON, 1994). Os resultados encontrados na literatura para a (+)-catequina e para a (-)-epicatequina, em vinhos, variam muito, abrangendo, de forma geral, valores que vão de 7 mgL<sup>-1</sup> (RODRÍGUEZ-DELAGADO et al., 2002) a 81,7 mgL<sup>-1</sup> (FRANKEL; WATERHOUSE; TEISSEDRE, 1995), para a epicatequina e de 10,6 mgL<sup>-1</sup> (RODRÍGUEZ-DELAGADO et al., 2001) até 169 mgL<sup>-1</sup> (RODRÍGUEZ-DELAGADO et al., 2001), para a (-)-epicatequina (FRANKEL et al., 1995).

Os ácidos fenólicos são os componentes derivados do ácido benzoico e do ácido cinâmico geralmente encontrados na forma de ésteres do ácido caftárico, localizados, principalmente, na película das uvas (JACKSON, 1994). Os ácidos cinâmicos, principalmente o ácido *p*-coumárico, o ácido cafeico, o ácido ferrúlico e o ácido sinápico são mais comumente encontrados que os ácidos hidroxibenzóicos. Esses ácidos são, raramente, encontrados na forma livre, exceto em alimentos que passam por processo de congelamento, esterilização e fermentação (MANACH et al., 2003). Para ácidos fenólicos em vinhos, os valores médios encontrados por esses autores foram de 31,42 mgL<sup>-1</sup>, para o ácido caftárico; de 7,07 mgL<sup>-1</sup>, para o ácido cafeico e de 7,5 mgL<sup>-1</sup>, para o ácido coumárico. Esses dados dependem muito do processo contínuo de hidrólise dos ésteres, em que eles são hidrolizados a ácidos. Dessa forma, vinhos envelhecidos tendem a ter mais ácidos livres (RITCHEY; WATERHOUSE, 1999). Os autores ainda comentam que o nível de fenólicos foi, geralmente,

mais elevado em vinhos como Cabernet Sauvignon, quando comparados com vinhos de mesa produzidos em grande escala.

Os estilbenos são representados, principalmente, pelo resveratrol (3,5,4' – tri-hidroxiestilbeno). A síntese inicia-se na condensação de 3 malonil-CoA com o *p*-coumaril CoA, formando tanto o *cis* como o *trans*-resveratrol (DEY; HARBONE, 1997). As uvas e os produtos relacionados, como o vinho, são, provavelmente, os produtos alimentícios que contêm os maiores teores de resveratrol. Primeiramente, foi demonstrado que o resveratrol atua como fitoalexina, uma classe de antibiótico da planta, e que é sintetizado quando a planta é submetida a um estresse, como ataque de patógenos, radiação UV ou lesão (BRAVO, 1996). A segunda razão do grande interesse dos pesquisadores sobre o resveratrol são os possíveis benefícios para a saúde humana, principalmente pelas suas propriedades antioxidantes e a diminuição da incidência de distúrbios cardiovasculares (BRAVO, 1996; FRANKEL; WATERHOUSE; TEISSEDE, 1995; STIVALA et al., 2001). Em vinhos tintos, a quantidade de *cis* e *trans*-resveratrol varia de valores não detectados a 2 mg/L (DOMINGUEZ; GUILLÉN; BARROSO, 2001; LÓPEZ et al., 2001).

Até pouco tempo atrás, praticamente não se comentava muito sobre a importância dos compostos fenólicos na alimentação. No entanto, nos últimos anos, em função da popularização do conceito de alimentos funcionais e da sua associação a essa classe, os compostos fenólicos passaram a ter grande importância na alimentação. A busca por novas fontes e o avanço nas hipóteses formuladas para os mecanismos de ação na prevenção de doenças têm impulsionado as pesquisas na área.

#### **2.4.3 Fatores que afetam a presença de compostos fenólicos na uva e no vinho**

A síntese dos polifenóis tem início durante o desenvolvimento do grão da uva. Algumas antocianinas são sintetizadas nas primeiras etapas, mas a maior produção, nesta fase, é mesmo de outros fenóis flavonoides e não flavonoides (JACKSON, 1994). A síntese pronunciada de compostos fenólicos somente começa depois do “veraison”, mas o tempo específico da produção desses pigmentos característicos da uva e do vinho depende de diversos fatores. “Veraison” é o período do começo da maturação das bagas, quando elas se tornam macias e adquirem a cor característica da sua variedade específica. Do começo do *veraison* à colheita, as bagas aumentam no volume, no peso e no índice de açúcar (MULLINS; BOUQUET; WILLIAMS, 2002).



A presença desses compostos em uvas e seus derivados está sendo muito estudada nos últimos anos. Os taninos situam-se no envelope das sementes e um pouco nas camadas internas. Encontram-se, basicamente, taninos oligoméricos, que são bastante agressivos e ásperos ao paladar, mas importantes durante a estabilização do vinho, pois participam das reações de condensação com as antocianinas (DAUDT, 1998).

O longo contato com a casca durante a vinificação, a temperatura e a presença das sementes e, às vezes, do engace e de enzimas são fatores de grande influência na extração dos fenólicos (catequinas e procianidinas) durante a fermentação do suco da uva (KOVAC et al., 1992).

Conforme já citado, o efeito do potencial de proteção à saúde dos vinhos tintos pode ser realçado pelo aumento da quantidade de compostos fenólicos. Esse aumento pode ser obtido por meio de uma combinação no processamento da uva destinada à produção do vinho. Uma combinação de aquecimento da mistura e fermentação na casca aumenta a razão de transferência de polifenóis bioativos (especialmente antocianinas, flana-3-ols, flavanois e resveratrol) da uva para o produto final (NETZEL et al., 2003).

O conteúdo reativo de compostos fenólicos varia de cultivar para cultivar e, mesmo dentro de uma mesma cultivar, podem ocorrer diferenças, devido à variação de temperatura, irrigação, intensidade de luz e composição do solo, entre outros (AMERINE; JOSLYN, 1987; CANTOS; ESPIN; TOMÁS-BARBERAN, 2002; SINGLETON, 1987). A variação da ocorrência de substâncias fenólicas em vinhos tintos não é somente em função das características da viticultura, mas também, e não menos importante, das técnicas enológicas (NETZEL et al., 2003; SAUCIER; LITTLE; GLORIES, 1997). Fatores de importante influência são a vindima, o tempo de colheita da uva e o tempo de armazenamento do vinho na garrafa, pelas reações que ocorrem durante o processo de maturação da bebida. Essas reações de condensação que têm efeito em antocianinas, catequinas e procianidinas proporcionam uma longa vida de prateleira para os vinhos tintos, resultando na diminuição dessas substâncias em prol da formação de novos pigmentos poliméricos (ECHEVERRY et al., 2005; NETZEL et al., 2003; SAUCIER; LITTLE; GLORIES, 1997).

Em vinhos brancos ocorrem alterações qualitativas e quantitativas no conteúdo de compostos fenólicos. Essa variação ocorre em função da variedade da uva utilizada, do estado de maturação, dos fatores ambientais, bem como variações nas técnicas de extração e elaboração dos vinhos. As operações de desengace, eliminação de sementes e o tempo que o suco permanece em contato com a casca também são fatores que se somam na variação do

conteúdo de compostos fenólicos em vinhos (FRANKEL; WATERHOUSE; TEISSEDRE, 1995; SINGLETON, 1987).

Em função da grande quantidade e da diversidade dos compostos fenólicos em uvas e vinhos, eles, mais recentemente, vêm sendo utilizados como um parâmetro a mais na classificação de vinhos. A similaridade de alguns compostos e a diferença de outros servem como base de dados para a análise de variáveis e a classificação dos vinhos (VILLERS et al., 2005).

Os compostos fenólicos interagem entre si e com outras moléculas para formar novos compostos que são responsáveis pela estabilidade e a maturação dos vinhos e são formados, principalmente, durante a estocagem e o envelhecimento. Algumas pesquisas (DUENAS; FULCRAND; CHEYNIER, 2006; ES-SAFI; CHEYNIER; MOUTOUNET, 2003) foram realizadas com o objetivo de elucidar essas moléculas e também relatar a importância da presença desses compostos na qualidade do vinho, sugerindo que a sequência de diversas reações enzimáticas e não enzimáticas que ocorrem em derivados de frutas pode alterar a coloração e a estabilidade durante a estocagem e o envelhecimento (ES-SAFI et al., 2003; SINGLETON et al., 1987). Geralmente, as reações enzimáticas ocorrem durante as operações tecnológicas iniciais, como o esmagamento (SINGLETON et al., 1987) e as interações não enzimáticas, nos últimos estágios do processamento, na estocagem e no envelhecimento (ES-SAFI et al., 2003; SINGLETON et al., 1987). Na etapa de envelhecimento de vinhos foi demonstrada a formação de novos pigmentos por copigmentação (DUENAS; FULCRAND; CHEYNIER, 2006), uma condensação direta entre aldeídos, antocianinas e flavonóis e pela influência de derivados de aldeídos (ALCALDE-EON et al., 2006; MONAGAS; BARTOLOMÉ; GOMEZ-CORDOVÉZ, 2005).

Vinhos tintos brasileiros analisados apresentaram maiores teores de compostos fenólicos e melhores resultados de avaliação de atividade antioxidante que os vinhos rosês e brancos. Observou-se também que os vinhos produzidos por diferentes variedades de uva, como Merlot, Cabernet Sauvignon e Pinot Noir, apresentaram diferentes teores de compostos fenólicos, cuja concentração também variou entre os produtos, o que, provavelmente, está relacionado com as condições empregadas na vinificação e a qualidade da uva (ISHIMOTO et al., 2006).

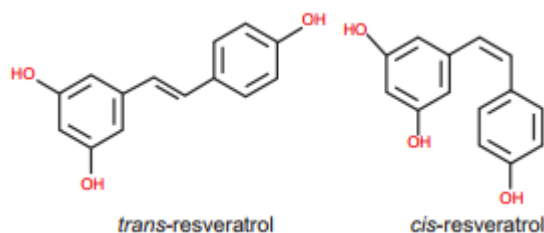
#### 2.4.4 Resveratrol

O resveratrol é uma fitoalexina que foi isolada pela primeira vez, em 1940, de raízes de *Veratrum grandiflorum* e, posteriormente, em 1963, de raízes de *Polygonum cuspidatum* (BAUR; SINCLAIR, 2006), atraindo pouco interesse dos pesquisadores. Siemann e Creasy (1992) reportaram que o resveratrol seria o responsável pelos efeitos cardioprotetores do vinho tinto. Desde então, em inúmeros trabalhos tem sido reportado que o resveratrol pode prevenir ou diminuir a progressão da hipertensão, além da aterosclerose, da obesidade, do diabetes, do câncer e da doença de Alzheimer, entre outras (XU; CHANG, 2007).

Este polifenol natural pode ser encontrado em, pelo menos, 72 espécies diferentes de plantas (distribuídos em 32 gêneros e 12 famílias), incluindo aquelas que são frequentemente consumidas por seres humanos, tais como amendoins, *cranberries*, mirtilos e, sobretudo, nas uvas e no vinho tinto (DERCKX; CREASY, 1989; STERVBO; VANG; BONNESEN, 2007). Sua quantidade é relativamente mais alta na uva, em que a concentração na casca atinge de 50 a 100 µg por grama de uva fresca, e a concentração no vinho tinto chega a 1,5 a 3 mg/litro. Sua síntese é regulada pela presença de fatores estressores, como dano mecânico, contaminação por fungos e radiação ultravioleta (360 nm). Nas plantas ele atua como fitoalexinas, mostrando capacidade de inibir o desenvolvimento de certas infecções por fungos (JEANDET et al., 2012).

A estrutura química do resveratrol consiste na união de dois anéis fenólicos unidos por uma ligação dupla de estireno, formando o 3,5,4'-tri-hidroxiestilbeno. Essa ligação dupla é a responsável pelas formas isoméricas *cis* e *trans* do resveratrol (Figura 5), sendo o isômero *trans* o mais abundante e considerado a forma mais ativa, biologicamente (AGGARWAL; TAKADA; OOMMEN, 2004).

Figura 5 - Estrutura química de *cis* e *trans*-resveratrol.



Fonte: Gambini et al. (2013).

A ação do resveratrol tem sido associada a efeitos antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios e anticancerígenos, além de estar associada à proteção cardiovascular (TEIXEIRA et al., 2014), possivelmente pela habilidade em reduzir o colesterol total e LDL-c, inibir a agregação plaquetária, estimular a vasodilatação e as enzimas antioxidantes, bem como inibir vias pró-inflamatórias (RAHMAN, 2008).

Estudos com resveratrol em modelos experimentais têm mostrado efeitos benéficos no controle de alguns tipos de câncer (hepático, de mama e de próstata), suprimindo as fases de iniciação, promoção e progressão de tumores e ativação da via apoptótica e modulação de expressão gênica (AGGARWAL; TAKADA; OOMMEN, 2004; ALUYEN et al., 2012; GOLLUCKE et al., 2013; WHITLOCK; BAEK, 2012).

Sintetizada por plantas superiores, a molécula de resveratrol (trans-3,5,4-trihydroxystilbene) é um polifenol antioxidante (NIKFARDJAM; LASZLÓ; DIETRICH, 2006; WANG et al., 2002). Esse elemento químico encontrado na videira é acumulado nos tecidos das folhas, atuando como agente protetor da planta contra os raios ultravioleta, as injúrias mecânicas e o ataque fúngico causado, principalmente, por *Botrytis cinerea* e *Plasmospora viticola*. O resveratrol atua na inibição do progresso da infecção, o que o inclui numa classe de antibióticos naturais chamados fitoalexinas (KOLOUCHOVA-HANZLIKOVA et al., 2004).

No grão de uva, a síntese de resveratrol é, principalmente, iniciada na casca e é ausente ou se apresenta em baixíssima concentração na polpa da fruta (JEANDET; BESSIS; GAUTHERON, 1991; KALLITHRAKA et al., 2001). Na vinificação de uvas tintas, a maceração com cascas e sementes durante a fermentação é o principal fator pelos altos níveis de resveratrol nos vinhos tintos, quando comparados a vinhos brancos (KALLITHRAKA et al., 2001; LAMUELA RAVENTOS et al., 1995; SOLEAS et al., 1995). A concentração de resveratrol aumenta durante a fermentação em presença da casca, mas esta quantidade é dependente da variedade de uva e das condições enológicas (KALLITHRAKA et al., 2001; LAMUELA-RAVENTOS et al., 1997; OKUDA; YOKOTSUKA, 1996; SOLEAS et al., 1995), podendo a extração do resveratrol da casca ser facilitada com o etanol produzido durante o processo de fermentação (THRELFALL; MORRIS; MAUROMOUSTAKOS, 1999). Uma das condições da viticultura que influenciam o conteúdo de resveratrol é a radiação ultravioleta (UV) emitida pelo sol. A incidência desta radiação nos tecidos de plantas apresenta efeito importante sobre o metabolismo fenólico. A luz UV do tipo B está associada com o aumento das enzimas responsáveis pela biossíntese de flavonoides, os quais podem proteger a uva da injúria causada por raios UV, prevenindo o dano ao material genético da

planta (CANTOS et al., 2000, 2003). A luz UV do tipo C também produz um estresse abiótico nos tecidos da planta, afetando o metabolismo fenólico em diferentes vias, tanto na síntese de resveratrol como na síntese de chalcona e seus derivados, sendo eles flavonoides, antocianinas e compostos aromáticos (SAUTTER, 2003).

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- ABRUNHOSA, L. et al. Mycotoxin production from fungi isolated from grapes. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 240-242, 2001.
- ABRUNHOSA, L.; PATERSON, R. R. M.; VENÂNCIO A. Biodegradation of Ochratoxina A for food and feed decontamination. **Toxins**, New York, v. 2, p. 1078-1099, 2010.
- AGGARWAL, B. B.; TAKADA, Y.; OOMMEN, O. V. From chemoprevention to chemotherapy: common targets and common goals. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, London, v. 13, p. 1327-1338, 2004.
- ALCALDE-EON, C. et al. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing: a comprehensive study. **Analytica Chimistry Acta**, Amsterdam, v. 563, p. 238-254, 2006.
- ALÉN-RUIZ, F. et al. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Bancellao red wines. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 1, p. 53-60, 2009.
- ALUYEN, J. K. et al. Resveratrol: potential as anticancer agent. **Journal of Dietary Supplements**, London, v. 9, p. 45-56, 2012.
- ALVITO, P. C. et al. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in baby foods in Portugal. **Food Analytical Methods**, London, v. 3, n. 1, p. 22-30, 2010.
- AMERINE, A.; JOSLYN, M. A. **Composition of grapes and distribution of phenolics from table wines, the technology of their production**. Berkeley: University of California Press, 1987.
- ANDRADE, M. A. **Determinação de Ocratoxina A em vinhos utilizando microextração em fase sólida no tubo e cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de espectrometria de massas sequencial**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.
- ANLI, E.; ALKIS, I. M. Ochratoxin A and brewing technology: a review. **Journal of Institute Brewing**, London, v. 116, n. 1, p. 23-32, Jan. 2010.
- BAHORUN, T. et al. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. **Journal of the Science and Food and Agriculture**, London, v. 84, p. 1553-1561, 2004.
- BATTILANI, P.; GIORNI, P.; PIETRI, A. Epidemiology of toxin producing fungi and ochratoxin A occurrence in grape. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 7, p. 715-722, Apr. 2003.

BATTILANI, P.; MAGAN, N.; LOGRIECO, A. European research on ochratoxin A in grapes and wine. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 111, n. 1, p. 52-54, Sept. 2006.

BAU, M. et al. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 98, n. 2, p. 125-130, Feb. 2005.

BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. **Nature Reviews**, London, v. 5, p. 493-506, 2006.

BEJAOU, H. et al. Biodegradation of ochratoxin A by *Aspergillus* section *Nigri* species isolated from French grapes: a potential means of ochratoxin A decontamination in grape juices and musts. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 255, n. 6, p. 203-208, June 2006.

BELL, D. R.; GOCHENAUR, K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 100, p. 1164-1170, 2006.

BELLÍ, N. et al. Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 111, p. 40-45, 2006.

BELLÍ, N. et al. Ochratoxin A-producing fungi in Spanish wine grapes and their relationship with meteorological conditions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 113, n. 3, p. 233-239, Nov. 2005.

BELLÍ, N. et al. Skin damage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes. **Food Control**, Guildford, v. 18, n. 11, p. 1343-1349, 2007.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 16, n. 3, p. 497-516, July 2003.

BERLI, F. et al. Phenolic composition in Grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) Ripened with different solar UV-B radiation levels by capillary zone electrophoresis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 9, p. 2892-2898, 2008.

BERTAGNOLLI, S. M. M. et al. Influência da maceração carbônica e da irradiação ultravioleta nos níveis de trans-resveratrol em vinhos de uva cabernet sauvignon. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 71-77, jan./mar. 2007.

BOTELHO, R. V.; PIRES, E. J. P. Viticultura como opção de desenvolvimento para os Campos Gerais. In: ENCONTRO DE FRUTICULTURA DOS CAMPOS GERAIS, 2., 2009, Campos Gerais. **Anais...** Ponta Grossa: Ed. UEPG, 2009. v. 1, p. 40-54.

BRASIL. Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 nov. 1988. Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Leis/Ant2001/lei767888.htm>>. Acesso em: 21 dez. 2012.

BRASIL. Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004. Altera dispositivos da lei no 7.678, de 08 de novembro de 1988 que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 nov. 2004. Seção 1, p. 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 fev. 2011. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional Antidrogas. **I levantamento nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Brasília, DF, 2007. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio-\\_padroes\\_consumo\\_alcool.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio-_padroes_consumo_alcool.pdf)>. Acesso em: 17 ago. 2017.

BRAVO, A. E. Resveratrol in wine: contribution to potential cardiovascular protective activity. **Alimentaria**, Bogota, v. 269, p. 71-72, 1996.

BULLERMAN, L. B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 119, n. 1/2, p. 140-146, Oct. 2007.

CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 144-149, out. 2011. Suplemento.

CANTOS, E.; ESPIN, J. C.; TOMÁS-BARBERAN, F. A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 5691-5696, 2002.

CANTOS, E. et al. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 4606-4612, 2000.

CANTOS, E. et al. Postharvest UV-C irradiated grapes as a potential source for producing stilbene enriched red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 1208-1214, 2003.

CERQUEIRA, F.; MEDEIROS, M.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, London, v. 80, n. 2, p. 249-255, 2003.

CIMINO, F. et al. Radicalscaeving capacity of several Italian red wines. **Food Chemistry**, London, v. 103, p. 75-81, 2007.

CLOUVEL, P. et al. Wine contamination by ochratoxin A in relation to vine environment. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 123, p. 74-80, 2008.



COLE, R. J.; COX, R. H. **Handbook of toxic fungal metabolites**. New York: Academic, 1981.

COZZI, G. et al. Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli rot and ochratoxin A content in grapes. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 111, p. 88-92, 2006.

DAUDT, C. E. Aspectos bioquímicos, sensoriais e aspectos ligados à saúde humana dos taninos do vinho. In: SEMINÁRIO FRANCO-BRASILEIRO DE VITICULTURA ENOLOGIA E GASTRONOMIA, 1998, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves, EMBRAPA-CNPV, 1998. p. 103-106.

DAUDT, C. E.; POLENTA, G. Phenols from Cabernet sauvignon and Isabel musts submitted to several treatments. **Journal of Science and Technology**, Mysore, v. 5, p. 57-64, 1999.

DAWSON, R. J. A global view of the mycotoxin problem. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE FUNGI AND MYCOTOXINS IN STORED PRODUCTS, 1991, Bangkok. **Proceedings...** Canberra: ACIAR, 1991. p. 22-28.

DE LORGERIL, M. et al. Effect of a Mediterranean diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease: insights into the protective effect of 52 certain nutrients. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, v. 28, p. 1103-1108, 1996.

DERCKS, W.; CREASY, L. L. Influence of foseyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 203-213, 1989.

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant biochemistry**. New York: Academic, 1997. 554 p.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, n. 9, p. 505-512, 2006.

DOMINGUEZ, D.; GUILLÉN, D. A.; BARROSO, C. G. Automated solid-phase extraction for sample preparation followed by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection for analysis of resveratrol derivatives in wine. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 918, p. 303-310, 2001.

DUARTE, S. C.; LINO, C. M. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 2, p. 187-198, Apr. 2010.

DUDLEY, J. et al. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 20, n. 6, p. 443-452, 2008.

DUENAS, M.; FULCRAND, H.; CHEYNIER, V. Formation of anthocyanin-flavanol adducts in model solutions. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 563, p. 15-25, 2006.

ECHEVERRY, C. et al. Changes in antioxidante capacity of Tannat red wines during early maturation. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 69, p. 147-154, 2005.

EGERT, S. et al. Serum lipid and blood pressure responses to quercetin vary in overweight patients by apolipoprotein E genotype. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 140, p. 278-284, 2010.

ES-SAFI, N. E.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Effect of copper on oxidation of (+)-catechin in a model solution system. **Journal of Food Science & Technology**, Trivandrum, v. 38, n. 2, p. 153-163, 2003.

EUROPEAN UNION. Commission regulation (EC) nº 1881/2006, of 19 december 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, Brussels, v. 49, p. 5-24, 2006.

FEHÉR, J.; LENGYEL, G.; LUGASI, A. The cultural history of wine: theoretical background to wine therapy. **Europe Journal of Internal Medicine**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 379-391, 2007.

FLEET, G. H.; HEARD, G. M. Yeast-growth during fermentation. In: FLEET, G. H. (Ed.). **Wine microbiology and biotechnology**. Boca Raton: CRC, 1993. p. 27-54.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Statistics Division. **Production/crops processed**. Rome, 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QD/E>>. Acesso em: 10 set. 2016.

FRACASSETTI, D. et al. Quantification of glutathione, catechin and caffeic acid in grape juice and wine by a novel ultra-performance liquid chromatography method. **Food Chemistry**, London, v. 128, n. 4, p. 1136-1142, Oct. 2011.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, Minneapolis, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A. L.; TEISSEDRE, P. L. Principal phenolic phytochemical in selected California Wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, p. 890-894, 1995.

FREIRE, L. **Incidência de ocratoxina A em vinhos e a correlação de fungos do gênero Aspergillus e Penicillium com as características físicoquímicas de uvas viníferas da região tropical semiárida do Brasil**. 2016. 154 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Filamentous fungi in foods and feeds: ecology, spoilage and mycotoxin production. In: ARORA, D. K.; MUKERJII, K. G.; MARTH, E. H. (Ed.). **Foodand feeds**. New York: M. Dekker, 1992. p. 31-68.

GAMBINI, J. et al. Resveratrol: distribution, properties and perspectives. **Revista Española de Geriatria Y Gerontología**, Madrid, v. 48, n. 2, p. 79-88, mar./apr. 2013.

GAMBUTI, A. et al. Influence of enological practices on ochratoxin A concentration in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 56, n. 2, p. 155-162, Feb. 2005.

GARCÍA-ALONSO, J. et al. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 26, n. 1, p. 330-339, 2006.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GOLLUCKE, A. P. et al. Use of grape polyphenols against carcinogenesis: putative molecular mechanisms of action using in vitro and in vivo test systems. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v. 16, p. 199-205, 2013.

GORINSTEIN, S. et al. The relationship between metals, polyphenols, nitrogenous substances and treatment of red and white wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 35, p. 9-15, 1984.

GRESELE, P. et al. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, New York, v. 22, p. 201-211, 2011.

GUERRA, C. C. Vinho tinto. In: VENTURI FILHO, W. G. (Ed.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: E. Blücher, 2010. v. 1, p. 209-233.

GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W.G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: E. Blücher, 2005. p. 423-451.

GUERRERO, R. F. et al. Phenolic characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. **Food Chemistry**, London, v. 112, p. 949-955, 2009.

HAO, H. D.; HE, L. R. Mechanisms of cardiovascular protection by resveratrol. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v. 7, n. 3, p. 290-298, 2004.

HOLLMAN, P. C. H. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 81, p. 842-852, 2001.

HOPE, J.; HOPE, B. E. A review of diagnosis and treatment of ochratoxina A inhalational exposure associated with human illness and kidney disease including focal segmental glomerulosclerosis. **Journal of Environmental and Public Health**, London, v. 12, p. 1-10, 2012.

IAMANAKA, B. T. et al. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 7, p. 138-161, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO. **Importações brasileiras de vinhos e espumantes**. 2016. Disponível em: <<http://ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1502913887.pdf>>. Acesso em: 6 set. 2017.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on evaluation of carcinogenic risks to humans:** some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, 1993.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE. **Global economic vitiviniculture data:** world wine production. 2016. Disponível em: <<http://oiv.int/en/oiv-life/2016-world-wine-production-estimated-at-259-mhl>>. Acesso em: 6 set. 2017.

ISABELLE, M. et al. Peroxyl radical scavenging capacity, polyphenolics, and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 9410-9416, 2009.

ISHIMOTO, E. Y. et al. In vitro antioxidant activity of Brazilian wines and grape juices. **Journal of Wine Research**, London, v. 17, p. 107-115, 2006.

JACKSON, R. S. **Wine science:** principles and applications. San Diego: Academic, 1994. 475 p.

JEANDET, P.; BESSIS, R.; GAUTHERON, B. The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 42, p. 41-46, 1991.

JEANDET, P. et al. Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, v. 2012, p. 579089, May 2012.

JELINEK, C. F.; POHLAND, A. E.; WOOD, G. E. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds, an update. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 72, n. 2, p. 223-230, 1989.

JOINT EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Safety evaluation of certain food additives and contaminants.** Geneva: World Health Organization, 2001.

JONHSON, H. A. **História do vinho.** São Paulo: Companhia das Letras, 2001.

KAGA, S. et al. Resveratrol enhances neovascularization in the infarcted rat myocardium through the induction of thioredoxin-1, heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, London, v. 39, p. 813-822, 2005.

KALLITHRAKA, S. et al. The application of an improved method for *trans*-resveratrol to determine the origin of Greek red wines. **Food Chemistry**, London, v. 75, p. 355-363, 2001.

KASSEMEYER, H. H.; BERKELMANN-LÖHNERTZ, B. Fungi of grapes. In: KÖNIG, H.; UNDEN, G.; FRÖHLICH, J. (Ed.). **Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine.** Berlin: Springer-Verlag, 2009. p. 61-87.

KAWASHIMA, L. M. **Micotoxinas em alimentos e bebidas nacionais produzidos e comercializados em diferentes regiões do Brasil.** 2004. 110 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

KHOURY, A.; ATOUI, A. Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. **Toxins**, New York, v. 2, p. 461-493, 2010.

KHOURY, A. et al. Fungal contamination and Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Lebanese wine-grapes and musts. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, p. 2244-2250, Feb. 2008.

KOLOUCHOVA-HANZLIKOVA, I. et al. Rapid method for resveratrol by HPLC with electrochemical and UV detections in wines. **Food Chemistry**, London, v. 87, p. 151-158, 2004.

KOVAC, V. et al. Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 40, p. 1953-1957, 1992.

LA GUERCHE, S. et al. Characterization of *Penicillium* species isolated from grape berries by their internal transcribed spacer (ITS1) sequences and by gas chromatography-mass spectrometry analysis of geosmin production. **Current Microbiology**, New York, v. 48, p. 405-411, 2004.

LAMUELA-RAVENTOS, R. M. et al. Direct HPLC analysis of cis- and trans-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, London, v. 43, n. 2, p. 281-283, 1995.

LAMUELA-RAVENTOS, R. M. et al. Resveratrol and piceid levels in wine production and in finished wine. In: \_\_\_\_\_. **Wine nutritional and therapeutic benefits**. Washington: American Chemical Society, 1997. p. 56-68. (ACS Symposium Series, 661).

LEONG, S. L. et al. Australian research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 111, p. 10-17, 2006.

LEONG, S. L. et al. Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 301-306, Sept. 2007.

LEUNG, M. C. K.; DIAZ-LLANO, G.; SMITH, T. K. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 26, p. 9623-9635, 2006.

LIMA, L. A. A. **Caracterização e estabilização dos vinhos elaborados no Vale do Submédio do São Francisco**. 2010. 139 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

LÓPEZ, M. et al. Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 922, p. 359-363, 2001.

LUXIMON-RAMMA, A. et al. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 4, p. 357-367, 2005.

MA, T. T. et al. Phenolic characterisation and antioxidant capacity of young wines made from different grape varieties grown in Helanshan Donglu wine zone (China). **South African Journal of Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 35, p. 321-331, 2014.

MAGNOLI, C. et al. Mycoflora and ochratoxin-producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 37, p. 179-184, 2003.

MAGNOLI, C. E. et al. Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South American countries. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 163, n. 5, p. 249-260, May 2007.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 79, p. 727-747, 2003.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: \_\_\_\_\_. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic, 1982. p. 163-180.

MATEO, R. et al. An overview of ochratoxin A in beer and wine. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 119, n. 1/2, p. 79-83, Oct. 2007.

MELLO, R. M. R. de. **Área e produção de uvas: panorama mundial**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2009. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/download.php?file=publica/artigos/producaomundial.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2016.

MELLO, R. M. R. de. **Desempenho da viticultura brasileira em 2015**. 2015. Disponível em: <<http://embrapa.br/web/mobile/noticias/-/noticia/9952204/artigo-desempenho-da-vitivinicultura-brasileira-em-2015>>. Acesso em: 18 jan. 2016.

MILANI, J. M. Ecological conditions affecting mycotoxin production in cereals: a review. **Veterinarni Medicina**, Prague, v. 58, n. 8, p. 405-411, 2013.

MILLER, J. D. Mycotoxins. In: WORKSHOP ON MYCOTOXINS IN FOOD IN AFRICA, 1995, Cotonou. **Proceedings...** Croydon: International Institute for Tropical Agriculture, 1995. p. 18-22.

MINUSSI, R. et al. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, London, v. 82, n. 3, p. 409-416, 2003.

MINUTI, L.; PELLEGRINO, R. M.; TESEI, I. Simple extraction method and gas chromatography- mass spectrometry in the selective ion monitoring mode for the determination of phenols in wine. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1114, n. 2, p. 263-268, 2006.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GOMEZ-CORDOVÉZ, C. evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle: II., Nonanthocyanin phenolic compounds. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, p. 331-340, 2005.

MULLINS, M. G.; BOUQUET, A.; WILLIAMS, L. E. **Biology of the grape**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 239 p.

MUNDY, D. C.; CASONATO, S. G.; MANNING, M. A. **Incidence of Fungi isolated from grape trunks in New Zealand Vineyards**. New Castle City Hall: The Australasian Plant Pathology Society, 2009. 86 p.

NALLY, M. C. et al. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in table grapes by non-pathogenic indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated from viticultural environments in Argentina. **Postharvest Biology & Technology**, Amsterdam, v. 64, p. 40-48, 2012.

NETZEL, M. et al. Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 56, n. 1/2, p. 223-228, 2003.

NIKFARDJAM, M. S. P.; LASZLÓ, C.; DIETRICH, H. Polyphenols, anthocyanins and trans-resveratrol in red wines from the Hungarian Villany region. **Food Chemistry**, London, v. 98, p. 453-462, 2006.

NOBA, S. et al. Determination of ochratoxin A in ready-to-drink coffee by immunoaffinity cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 14, p. 6036-6040, July 2009.

NOGUEIRA, S.; OLIVEIRA, M. B. B. P. Prevalência de ocratoxina A em alimentos e consequentes problemas de segurança alimentar. **Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Nutrição e Alimentação**, Lisboa, v. 12, n. 2, p. 69-75, 2006.

NUNEZ, Y. P. et al. Effects of aging and heat treatment on whole yeast cells and yeast cell walls and on adsorption of ochratoxin A in a wine model system. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 71, n. 7, p. 1496-1499, July 2008.

OKUDA, T.; YOKOTSUKA, K. *Trans*-resveratrol concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 47, n. 1, p. 93-99, 1996.

OLIVEIRA, T. T. et al. Ação antioxidante dos flavonóides. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. (Ed.). **Alimentos funcionais**. Viçosa, MG: Ed. Folha de Viçosa, 2006. p. 31-56.

PASCUAL-TERESA, S.; MORENO, D.; GARCIA-VIGUERA, C. Flavanols and Anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 11, p. 1679-1703, 2010.

PASSAMANI, F. R. F. **Ocorrência e desenvolvimento de um modelo preditivo para incidência de *Aspergillus seção Nigri* e ocratoxina A em regiões vitícolas do Brasil**. 2014. 116 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

PATAKI, T. et al. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 75, p. 894-899, 2002.

PATERAKI, M. et al. Influence of sulphur dioxide, controlled atmospheres and water availability on in vitro germination, growth and ochratoxin A production by strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 141-149, May 2007.

PEDRUCCI, G.; BERTI, E. Vinho composto. In: VENTURI FILHO, W. G. (Ed.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010. v. 1, p. 165-180.

PEREIRA, G. E. et al. NMR metabolite fingerprints of grape berry: comparison of vintage and soil effects in Bordeaux grapevine growing areas. **Analytical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 563, n. 1/2, p. 346-352, Mar. 2005.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 18, p. 1995-2018, 1998.

PEYNAUD, E. **Connaissance et travail du vin**. Paris: Dunod, 1997. 341 p.

PITOUT, M. J. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 18, p. 485-491, 1969.

PITT, J. I. et al. Mycotoxins and toxigenic fungi. **Medical Mycology**, London, v. 38, n. 1, p. 41-46, 2000.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Blackie Academic and Professional, 1997. 593 p.

PRELLE, A. et al. Comparison of clean-up methods for ochratoxin A on wine, beer, roasted coffee and chili commercialized in Italy. **Toxins**, New York, v. 5, p. 1827-1844, 2013.

PRICE, S. F. et al. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, p. 187-194, 1995.

PROCESSO de produção e fermentação. 2014. Disponível em: <<http://www.vinho.org/tudo-sobre-vinho/processo-de-producao-e-fermentacao/>>. Acesso em: 8 ago. 2016.

PROTAS, J. F. S. et al. Programa de desenvolvimento estratégico da vitivinicultura do Rio Grande do Sul: visão 2005. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10., 2005, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2005. p. 109-130. (Documentos, 55).

QUINTELA, F. M. Mammalia, Chiroptera, Rio Grande, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Check List: Journal of Species Lists and Distribution**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 443-447, 2011.

RADOVANOVI, A. N. et al. Antioxidant and antimicrobial potentials of Serbian red wines produced from international *Vitis vinifera* grape varieties. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 92, p. 2154-2161, 2012.

RAHMAN, I. Dietary polyphenols mediated regulation of oxidative stress and chromatin remodeling in inflammation. **Nutrition Reviews**, New York, v. 66, n. 1, p. 42-45, 2008.



RASINES-PEREA, Z.; TEISSEDE, P. Grape Polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. **Molecules**, Basel, v. 22, n. 1, p. 68, 2017.

RATHEL, T. R. et al. Activation of endothelial nitric oxide synthase by red wine polyphenols: impact of grape cultivars, growing area and the vinification process. **Journal of Hypertension**, Dalas, v. 25, p. 541-549, 2007.

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

RISTIC, R. et al. Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine color, tannin, and sensory properties. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 13, p. 53-65, 2007.

RITCHEY, J. G.; WATERHOUSE, A. L. A standard red wine: monomeric phenolic analysis of commercial cabernet sauvignon wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 50, p. 91-100, Jan. 1999.

ROBINSON, N.; WINGE, D. Copper metallochaperones. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 79, p. 537-562, 2010.

RODRIGO, R.; MIRANDA, A.; VERGARA, L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in humn disease. **Analytical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 412, p. 410-424, 2011.

RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A. et al. *Trans*-resveratrol in wines from the Canary Isands (Spain): analysis by high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, Easton, v. 76, p. 371-375, 2002.

ROTEM, J.; AUST, H. J. The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 133, p. 76-84, 1991.

ROUSSEAU, S. et al. Non-Botrytis grape-rotting fungi responsible for earthy and moldy off-flavors and mycotoxins. **Food Microbiology**, London, v. 38, p. 104-121, 2014.

SAGE, L. et al. Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 5, p. 1306-1311, Feb. 2002.

SAGE, L.; GARON, D.; EIGLE-MURANDI, F. Fungal microflora and ochratoxin a risk in French vineyards. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 5764-5768, 2004.

SANTOS, B. A. C. **Compostos voláteis e qualidade dos vinhos secos jovens varietal Cabernet Sauvignon produzidos em diferentes regiões do Brasil**. 2006. 176 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

SAUCIER, C.; LITTLE, D.; GLORIES, Y. First evidence of acetaldehyde-flavanol condensation products in red wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 48, p. 369-373, 1997.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. 2003. 130 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCUDAMORE, K. A.; PATEL, S.; BREEZE, V. Surveillance of stored grain from the 1997 harvest in the United Kingdom for ochratoxin A. **Food Additives & Contaminants**, London, v. 16, n. 7, p. 281-290, 1999.

SELOUANE, A. et al. Impact of some environmental factors on growth and production of ochratoxin A of/by *Aspergillus tubingensis*, *A. niger*, and *A. carbonarius* isolated from Moroccan grapes. **Journal Microbiology**, London, v. 47, n. 4, p. 411-419, Aug. 2009.

SERRA, R.; BRAGAB, A.; VENÂNCIO, A. Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. **Research in Microbiology**, Paris, v. 156, n. 4, p. 515-521, May 2005.

SERRA, R. et al. Influence of the region of origin on the mycobiota of grapes with emphasis on *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Mycological Research**, Cambridge, v. 110, p. 971-978, 2006.

SERRATOSA, M. P. et al. Compostos fenólicos obtidos de uvas secas em câmara com temperatura controlada da casta Pedro Ximénez. In: SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO; EVENTO ALENTEJO DAS GASTRONOMIAS MEDITERRÂNICAS - FESTIVAL INTERNACIONAL, 8., 2010, Évora. **Anais...** Évora: ERT, 2010. p. 123-131.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Food Science and Nutrition**, London, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SIEMANN, E. H.; CREASY, L. L. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 43, p. 49-52, 1992.

SINGLETON, V. L. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implications. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 38, p. 69-77, 1987.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr. 2002.

SOLEAS, G. J. et al. A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 3, p. 346-352, 1995.

SOMMA, S.; PERRONE, G.; LOGRIECO, A. Diversity of black *Aspergilli* and mycotoxin risks in grape, wine and dried vine fruits. **Phytopathologia Mediterranea**, Bologna, v. 51, p. 131-147, 2012.

- SOOBRAATTEE, M. A. et al. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 579, n. 1/2, p. 200-213, 2005.
- SPADARO, D. et al. Ochratoxigenic black species of *Aspergilli* in grape fruits of Northern Italy identified by a improved PCR-RFLP procedure. **Toxins**, Basel, v. 4, p. 42-54, 2012.
- STERVBO, U.; VANG, O.; BONNESEN, C. A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 2, p. 449-457, 2007.
- STIVALA, L. A. et al. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 276, p. 22586-22594, 2001.
- SUN, L. Q. et al. Antioxidant anthocyanins screening through spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC/DAD analysis on nine cultivars of introduced rabbiteye blueberry in China. **Food Chemistry**, London, v. 132, p. 759-765, 2012.
- SUN, X. Y. et al. High hydrostatic pressure treatment: An artificial accelerating aging method which did not change the region and variety non-colored phenolic characteristic of red wine. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, London, v. 33, p. 123-134, 2016.
- SUN, X. Y. et al. Profiles of phenolic acids and flavan-3-ols for select Chinese red wines: a comparison and differentiation according to geographic origin and grape variety. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 80, p. 2170-2179, 2015.
- TEDESCO, I. et al. Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 11, p. 114-119, 2000.
- TEISSEDRE, P. L.; LANDRAULT, N. Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. **Food Research International**, Barking, v. 33, p. 461-467, 2000.
- TEIXEIRA, A. et al. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 15, n. 9, p. 15638-15678, 2014.
- TERRA, M. F. **Incidência e controle de fungos do gênero *Aspergillus* Seção *Nigri* em uvas viníferas cultivadas na região tropical do Brasil**. 2015. 90 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- THIS, P.; LACOMBE, T.; THOMAS, M. R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. **Trends in Genetics**, London, v. 22, n. 9, p. 511-519, Sept. 2006.
- THRELFALL, R. T.; MORRIS, J. R.; MAUROMOUSTAKOS, A. Effect of variety, ultraviolet light exposure, and enological methods on the *trans*-resveratrol level of wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 50, n. 1, p. 57-64, 1999.
- TIWARI, A. K. Antioxidants: new-generation therapeutic base for treatment of polygenic disorders. **Current Science**, Columbus, v. 86, n. 8, p. 1092-1102, 2004.

TJAMOS, S. E. et al. *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* in Corinth raisin and wine-producing vineyards in Greece: population composition, ochratoxin A production and chemical control. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 4, p. 250-255, Apr. 2004.

TSANGA, C. et al. The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. **Brazilian Journal Nutrition**, Campinas, v. 93, p. 233-240, 2005.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 632, n. 2, p. 168-180, Jan. 2009.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. **Legislações**. 2014. Disponível em: <<http://www.uvibra.com.br/legislacao.htm>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

UNITED STATES NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, DC: National Academy, 2000. 506 p.

USSEGLIO-TOMASSET, L. **Chimie oenologique**. 2<sup>nd</sup> ed. Paris: Technique & Documentation, 1995. 387 p.

VARGA, J.; KOZAKIEWICZ, Z. Ochratoxin A in grapes and grape- derived products. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, n. 2, p. 72-81, 2006.

VILLERS, A. de et al. Classification of South African red and white wines according to grape variety 93 based on the non-colored phenolic content. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 221, p. 520-528, 2005.

WANG, Y. et al. An Ln-MS Method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice and wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 431-435, 2002.

WATERHOUSE, A. L.; IGNELZI, S.; SHIRLEY, J. A comparison of methods for quantifying oligomeric proanthocyanidins from grape seed extracts. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 51, p. 383-389, 2002.

WENDLER, D. F. **Sistema de gestão ambiental aplicado a uma vinícola: um estudo de caso**. 2009. 176 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

WHITLOCK, N. C.; BAEK, S. J. The anticancer effects of resveratrol: modulation of transcription factors. **Nutrition and Cancer**, London, v. 64, p. 493-502, 2012.

WINE INSTITUTE. **World wine production by country 2013-2015**. 2015. Disponível em: <[http:// wineinstitute.org/files/World\\_Wine\\_Production\\_by\\_Country\\_2015.pdf](http://wineinstitute.org/files/World_Wine_Production_by_Country_2015.pdf)>. Acesso em: 6 set. 2017.

WU, F.; BUI-KLIMKE, T.; SHIELDS, K. N. Potential economic and health impacts of ochratoxin A regulatory standards. **World Mycotoxin Journal**, Wageningen, v. 7, n. 3, p. 387-398, 2014.

XIA, E. Q. et al. Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 11, p. 622-646, 2010.

XU, B. J.; CHANG, S. K. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, p. S159-166, 2007.

YANG, Y. et al. Anthocyanin extract from black rice significantly ameliorates platelet hyperactivity and hypertriglyceridemia in dyslipidemic rats induced by high fat diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, p. 6759-6764, 2011.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidants capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 255-260, 2004.

YOO, Y. J. et al. Assessment of some Australian red wines for price, phenolic content, antioxidant activity, and vintage in relation to functional food prospects. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 76, p. 1355-1365, 2011.

YOO, Y. J. et al. Total phenolic content, antioxidant activity, and cross-cultural consumer rejection threshold in white and red wines functionally enhanced with catechin-rich extracts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 388-393, 2012.

ZIMMERLI, B.; DICK, R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhance fluorescence detection and immunoaffinity column clean-up: methodology and Swiss data. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 666, n. 1, p. 85-99, Apr. 1995.

## **CAPÍTULO 2**

### **CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE OCRATOXINA A E RESVERATROL EM VINHOS TINTOS**

## RESUMO

Algumas espécies de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* sintetizam, como metabólito secundário tóxico, uma toxina natural denominada ocratoxina A. Essa micotoxina apresenta propriedades nefrotóxicas para os animais e efeitos imunodepressivo, tetrogênico e genotóxico para humanos, tendo sido incluída no Grupo 2B (potencialmente carcinogênica para humanos), pela Agência de Pesquisa do Câncer. A frequente detecção de OTA no soro sanguíneo de humanos saudáveis sugere a contínua exposição dos consumidores à micotoxina, por meio do consumo de alimento contaminado. Na Europa, tem sido estimado que o vinho é a segunda mais importante fonte de ocratoxina A na dieta, depois dos cereais. Por outro lado, o consumo moderado de vinho tem sido estimulado pelos seus comprovados efeitos benéficos à saúde. Tais benefícios são atribuídos aos componentes fenólicos presentes nos vinhos, cujo principal é o resveratrol. Com a finalidade de se obter maiores informações sobre os componentes presentes no vinho, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a incidência de ocratoxina A em vinhos tintos Cabernet Sauvignon, bem como quantificar o conteúdo de resveratrol total, *trans* e *cis* resveratrol. Foram analisadas 40 amostras de vinhos de diferentes países, os quais são Chile (16), Argentina (9), Brasil (7), França (3), Itália (1), Canadá (1), Austrália (1), África do Sul (1) e Estados Unidos (1). As amostras foram adquiridas considerando a disponibilidade no mercado. As análises de OTA e resveratrol foram realizadas por HPLC. Somente duas amostras (5%) apresentaram níveis de contaminação por ocratoxina A, sendo inferiores a 2 µg/L, limite máximo em vinho estabelecido pelo Ministério da Saúde do Brasil e pela União Europeia. A presença de *trans*-resveratrol foi observada em 82,5% das amostras; já o seu isômero *cis* estava presente em apenas 15%. Como o resveratrol total é soma das frações *cis* e *trans*, a sua presença foi verificada em 87,5%, com valor médio de 0,75 mg/L. Não foi verificada nenhuma correlação entre os níveis de OTA e resveratrol. Os resultados demonstram que os vinhos analisados não são fontes significativas de ocratoxina A e que o seu consumo moderado pode trazer benefícios à saúde.

Palavras-chave: Micotoxinas, Resveratrol, Uva.

## ABSTRACT

Some species of fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* synthesize as toxic secondary metabolite, a natural toxin called Ochratoxin A (OTA). This mycotoxin has nephrotoxic properties for animals and immunodepressive, teratogenic and genotoxic effects to humans and has been included in Group 2B (potentially carcinogenic to humans) by the International Agency on Research Cancer (IARC). The frequent detection of OTA in the blood serum of healthy humans suggests the continued consumers exposure to mycotoxin through consumption of contaminated food. In Europe, it has been estimated that wine is the second most important source of Ochratoxin A in the diet, after cereals. On the other hand, moderate wine consumption has been stimulated to proven beneficial health effects. These benefits are attributed to phenolic compounds present in wines, the main one of which is resveratrol. In order to obtain more information about the incidence of Ochratoxin A in Cabernet Sauvignon red wines, as well as to quantify the total resveratrol, trans and cis resveratrol contents, this study was carried out. A total of 40 wines samples from different countries were analyzed, Chile (16) Argentina (9), Brazil (7), France (3), Italy (1), Canada (1), Australia (1), South of Africa (1) and United States (1). The samples were purchased considering availability in the market. OTA and resveratrol analyzes were performed by HPLC. Only two samples (5%) presented Ochratoxin A levels contamination, being lower than 2 µg / L, maximum limit in wine established by the Brazilian Ministry of Health and the European Union. *Trans*-resveratrol was observed in 82.5% of the samples, whereas its *cis* isomer was present in only 15%. As total resveratrol is the amount of cis and trans fractions, its presence was verified in 87.5%, with an average value of 0.75 mg / L. No correlation was found between OTA and resveratrol levels. The results demonstrate that the wines analyzed are not significant sources of Ochratoxin A and that their moderate consumption can bring health benefits

**Keywords:** Mycotoxins. Resveratrol. Grape.



## 1 INTRODUÇÃO

A ocratoxina A é uma micotoxina produzida, principalmente, pelas espécies *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* e, raramente, por *Aspergillus niger*. Está presente em vários alimentos que fazem parte da dieta da população, apresentando propriedades nefrotóxicas e carcinogênicas. A ocratoxina A foi classificada, pela International Agency for Research on Câncer (IARC, 1993), como um possível agente carcinogênico (Grupo 2B) para humanos. Dentre os alimentos mais citados em relação à presença de ocratoxina A incluem-se trigo (RIBA et al., 2008), milho (MAGNOLI et al., 2007; SEKIYAMA et al., 2005), café (LEONG et al., 2007; LEONI et al., 2000), cacau (MOUNJOUENPOU et al., 2008), cevada (VISWANATH et al., 2007), cerveja (KAWASHIMA et al., 2007), frutas secas (KARBANCIOLU-GULER; HEPERKAN, 2008), queijo (DALL'ASTA et al., 2008), centeio (JORGENSEN; JACOBSEN, 2002), pão (ZINEDINE et al., 2006), uva (LASRAM et al., 2007) e seus derivados, incluindo suco e vinho (BURDASPAL; LEGARDA, 2007).

O vinho tem sido reconhecido por trazer benefícios fisiológicos para a saúde humana, sendo o seu consumo moderado recomendado regularmente. Dentre as substâncias presentes nos vinhos responsáveis por esses efeitos benéficos, tem-se o resveratrol, que atua como agente antioxidante, reduzindo a incidência de diversas doenças. A ingestão da bebida tem sido associada com a redução do risco de doenças cardiovasculares, a inibição da agregação plaquetária e da oxidação de LDL-colesterol e a redução do estresse oxidativo, estando também relacionada com a melhora do perfil lipídico sanguíneo e de processos inflamatórios (RASINES-PEREA; TEISSEDRE, 2017). Apesar de outros alimentos apresentarem esta substância em sua composição, o que se vê é um efeito benéfico mais pronunciado quando ela é ingerida através do vinho. Uma das explicações para tal fato seria uma maior biodisponibilidade do antioxidante, quando na presença do álcool.

Entretanto, toda esta atenção voltada para o vinho e o atual incentivo para o seu consumo tornam-se também motivos de preocupação, pois a presença de substâncias tóxicas, como a ocratoxina A, compromete o aspecto de segurança do produto.

Em um estudo realizado em 2007, na Itália, foi demonstrada correlação positiva entre elevados níveis de ocratoxina A e resveratrol em vinhos tintos produzidos no país, sugerindo uma possível proteção contra os danos causados pela micotoxina por meio dos efeitos benéficos do resveratrol (PERRONE et al., 2007).

Considerando a importância da ingestão de compostos fenólicos como o resveratrol para a saúde, bem como o risco de contaminação por OTA em vinhos, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o conteúdo desses compostos na bebida, além de verificar a existência de uma possível correlação entre essas duas substâncias.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostras

As amostras de vinhos foram coletadas ao acaso, em diferentes estabelecimentos comerciais de Lavras, MG, no período de 2014-2015. Posteriormente, foram encaminhadas à Embrapa Semiárido (Petrolina, PE) onde foram realizadas as análises de *trans* e *cis*-resveratrol e à Fundação Ezequiel Dias (FUNED) (Belo Horizonte, MG). para a realização das análises de OTA.

Foram analisadas, no total, 40 amostras de vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon provenientes do Brasil, Chile, Argentina, Itália, França, Austrália, África do Sul, Estados Unidos e Canadá, de acordo com a disponibilidade dos mesmos nos mercados onde foram adquiridos (Tabela 6). A maior parte das amostras analisadas era proveniente do Chile (16), seguida pelos vinhos argentinos (9), brasileiros (7), franceses (3), italiano (1), canadense (1), australiano (1), sul-africano (1) e americano (1).

Tabela 7 - Amostras de vinhos tintos finos cv. Cabernet Sauvignon e respectivos países e anos de produção.

	Amostras de vinhos	Safra	País de produção
1	CH/CS/1	2013	Chile
2	CH/CS/2	2013	
3	CH/CS/3	2013	
4	CH/CS/4	2013	
5	CH/CS/5	2013	
6	CH/CS/6	2012	
7	CH/CS/7	2014	
8	CH/CS/8	2014	
9	CH/CS/9	2013	
10	CH/CS/10	2013	
11	CH/CS/11	2013	
12	CH/CS/12	2014	
13	CH/CS/13	2014	
14	CH/CS/14	2014	
15	CH/CS/15	2014	
16	CH/CS/15	2014	
17	AUS/CS/1	2013 2011	Austrália
18	AFR/CS/1	2012	África do Sul
19	BRA/CS/1	2013	Brasil
20	BRA/CS/2	2014	
21	BRA/CS/3	2014	
22	BRA/CS/4	2007	
23	BRA/CS/5	2013	
24	BRA/CS/6	2012	
25	BRA/CS/7	2010	
26	ARG/CS/1	2011	Argentina
27	ARG/CS/2	2011	
28	ARG/CS/3	2012	
29	ARG/CS/4	2011	
30	ARG/CS/5	2014	
31	ARG/CS/6	2014	
32	ARG/CS/7	2014	
33	ARG/CS/8	2012	
34	ARG/CS/9	2014	
35	CAN/CS/1	2011	Canadá
36	EUA/CS/1	2014	Estados Unidos
37	ITA/CS/1	2011	Itália
38	FRA/CS/1	2012	França
39	FRA/CS/2	2013	
40	FRA/CS/3	2013	

Fonte: Da Autora (2017).

## 2.2 Análise de ocratoxina A

A quantificação de ocratoxina A (OTA) nas amostras de vinhos foi realizada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detecção por fluorescência, conforme descrito em EN 14133/2003 (EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2003). As análises foram realizadas na Fundação Ezequiel Dias (FUNED), em Belo Horizonte, Minas Gerais.

## 2.3 Soluções e reagentes

A solução de diluição foi preparada com a dissolução de 10 g de polietilenoglicol 8000 e 50 g de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), em 1.000 mL de água purificada (q.s.p.). Para a obtenção da solução de lavagem, dissolveram-se 25 g de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) e 5 g de bicarbonato de sódio em 1.000 mL de água purificada (q.s.p.). Solução estoque de OTA Sigma (St. Louis, MO, USA) foi preparada em tolueno:ácido acético (99:1, v/v). A concentração foi determinada de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997), sendo verificada em espectrofotômetro UV a 333 nm, com  $\epsilon = 5.440 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ . L. Solução de trabalho foi preparada por diluição apropriada em tolueno:ácido acético (99:1, v/v), para os testes de recuperação e curva de calibração. Para a fase móvel, foram utilizados acetonitrila:metanol:ácido acético aquoso (35:35:30), seguindo-se a filtração a vácuo em membrana de celulose regenerada PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$ . Ácido acético aquoso foi preparado com uma solução de ácido acético glacial em água purificada (1:29, v/v). As soluções foram armazenadas à temperatura de  $-15 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ , no escuro.

## 2.4 Preparo das amostras e purificação em coluna de imunoafinidade

Inicialmente, as amostras foram resfriadas a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . De cada amostra, 40 mL foram adicionados a 40 mL da solução de diluição e homogeneizados sob agitação mecânica em *shaker*, em velocidade média, por 30 minutos. Esta solução foi submetida à filtração a vácuo (2 mL/min) em membrana GFA e 40 mL do filtrado foram passados por uma coluna de imunoafinidade (Ochraprep, R-Biopharm Rhône Ltd) adaptada ao sistema Visiprep<sup>TM</sup> SPE *Vacuum Manifold*. A coluna foi lavada com 10 mL da solução de lavagem e, em seguida, com 10 mL de água purificada, para a remoção dos resíduos não específicos. Posteriormente, adicionaram-se 2 mL de metanol à coluna para liberação da OTA vinculada ao anticorpo, com

repetição do procedimento por três vezes. O eluato obtido foi evaporado com aquecimento ( $\pm 50$  °C) da amostra sob atmosfera de nitrogênio. Este extrato seco foi reconstituído em 250  $\mu\text{L}$  de fase móvel. Injetaram-se, então, 50  $\mu\text{L}$  das soluções padrão de OTA e dos extratos das amostras no cromatógrafo líquido.

## 2.5 Quantificação de ocratoxina A por cromatografia líquida

O equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido de alta eficiência HPLC Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo SPD-M20A, degaseificador modelo DGU 20A<sub>3</sub>, interface modelo CBM-20A injetor automático modelo SIL-10AF e detector de fluorescência RF-10 A<sub>XL</sub>. A coluna usada foi a Agilent-Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) conectada a uma pré-coluna Agilent-Zorbax Eclipse XDB-C18 4-Pack (4,6 x 12,5 mm, 5  $\mu\text{m}$ ).

Foram seguidas as condições cromatográficas de comprimentos de onda excitação de 332 nm e emissão de 476 nm. O fluxo utilizado em toda a análise foi de 0,8 mL min<sup>-1</sup> e o volume injetado das amostras e do padrão foi de 20  $\mu\text{L}$ . A eluição foi realizada em sistema isocrático de 35:35:29:1 (metanol:acetonitrila:água:ácido acético). A quantificação da OTA nas amostras foi feita por meio da construção de uma curva analítica obtida por regressão linear ( $y = 1,11756 \times 10^7 x - 2592,1485$ ; em que  $y$  = área do pico e  $x$  = concentração de OTA), correlacionando a área do pico *versus* a concentração da respectiva solução padrão, tendo o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtido sido de 0,9999. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados por meio dos parâmetros obtidos para a curva analítica construída, sendo calculados pelas respectivas relações matemáticas,  $\text{LD} = 3\text{DP}/m$  e  $\text{LQ} = 10\text{DP}/m$  (em que DP = estimativa do desvio padrão da linha de regressão e  $m$  = coeficiente angular da linha de calibração) (HARRIS, 2008). Para estes, foram encontrados os valores de 0,0004 e 0,0016  $\mu\text{g}/\text{g}$ , respectivamente. Todas as amostras foram analisadas em duplicata, enquanto as soluções padrão de OTA foram injetadas em triplicata.

A confirmação da presença de OTA foi determinada pela formação de ésteres metílicos, sendo observado um aumento no tempo de retenção das amostras devido à derivatização da OTA. A partir do cálculo da área dos picos de OTA dos extratos das amostras e das soluções padrões foi quantificado o teor de OTA das amostras. Nas condições de análise, o tempo de retenção foi de, aproximadamente,  $9,99 \pm 0,15$  minutos. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram 0,01  $\mu\text{g}/\text{L}$  e 0,03  $\mu\text{g}/\text{L}$ , respectivamente.

## 2.6 Preparo da curva padrão

A curva padrão foi preparada baseando-se no método descrito pelo Comitê de Normalização para a Análise de OTA em Vinho e Cerveja. Para o preparo da curva, utilizou-se uma solução estoque previamente preparada, dissolvendo-se o padrão comercial de OTA (O1877, Sigma) em tolueno/ácido acético (99:1, v/v). A concentração da solução estoque foi determinada por medição da absorbância UV a 333 nm e calculada, segundo AOAC (2002), em 136% de OTA. Após a determinação da concentração da solução estoque, foram preparadas, por diluição, soluções padrão com concentrações de 0,001; 0,01; 0,025; 0,1 e 0,15 µg/g. Regularmente, novos padrões foram preparados e injetados, de forma a verificar e ajustar a curva de calibração.

## 2.7 Análise de Resveratrol

A determinação de resveratrol foi efetuada em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), com coluna analítica Acclaim® 120 Dionex C-18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), fluxo da fase móvel de 0,7 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura do forno de 36 °C e volume de injeção de 20 µL. A fase móvel foi preparada com ácido ortofosfórico, 0,5% em água ultrapura (Milli-Q, Millipore®) e metanol grau CLAE, sendo o solvente A formado por 10% de metanol e 90% da solução de ácido ortofosfórico e o solvente B, por 90% de metanol e 10% da solução de ácido orto-fosfórico, com gradiente de solventes de 0-25min de 100%-15% solvente A; 25-50min de 15%-5% solvente A e 50-052min de 5%-100% solvente A. As amostras foram diluídas a 10% com metanol grau CLAE e filtradas a 0,45 µm. Para identificação e quantificação foi utilizado o comprimento de onda de 306 nm. O composto resveratrol (*cis*- e *trans*- isômeros) foi identificado mediante comparação com os tempos de retenção de padrões puros 30 (Sigma-Aldrich®) e quantificado na curva analítica com padronização externa, em método validado por Padilha et al. (2017).

## 2.8 Delineamento experimental e análise estatística dos dados

Foi empregado o delineamento inteiramente casualizado nos ensaios, utilizando-se três repetições por tratamento. A análise de variância e as médias de cada tratamento foram agrupadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância. As análises foram efetuadas no programa Erre.

### **3 RESULTADOS E DUSCUSSÃO**

#### **3.1 Ocorrência e níveis de ocratoxina A em vinhos**

A incidência e os valores de OTA encontrados nas amostras de vinhos estão descritos na Tabela 8, na qual se observa que somente duas amostras apresentaram contaminação, sendo provenientes da França e do Chile. No entanto, os valores apresentados estão abaixo do limite estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011), de até 2 µg/L de OTA em vinhos.

A contaminação mais elevada foi observada na amostrada proveniente da França, cujo valor foi de 0,44 µg/L. Já a amostra chilena obteve um valor de OTA, de 0,161 µg/L. O restante das amostras não apresentou contaminação ou os valores estavam abaixo do limite de quantificação do aparelho.



Tabela 8 - Valores médios de OTA encontrados nas amostras analisadas.

Amostras de vinho	Ocratoxina A ( $\mu\text{g/L}$ )
CH/CS/1	0,00 a
CH/CS/2	0,00 a
CH/CS/3	0,00 a
CH/CS/4	0,00 a
CH/CS/5	0,00 a
CH/CS/6	0,00 a
CH/CS/7	0,00 a
CH/CS/8	0,00 a
CH/CS/9	0,00 a
CH/CS/10	0,00 a
CH/CS/11	0,00 a
CH/CS/12	0,161b
CH/CS/13	0,00 a
CH/CS/14	0,00 a
CH/CS/15	0,00 a
AUS/CS/1	
AFR/CS/1	0,00 a
BRA/CS/1	0,00 a
BRA/CS/2	0,00 a
BRA/CS/3	0,00 a
BRA/CS/4	0,00 a
BRA/CS/5	0,00 a
BRA/CS/6	0,00 a
BRA/CS/7	0,00 a
ARG/CS/1	0,00 a
ARG/CS/2	0,00 a
ARG/CS/3	0,00 a
ARG/CS/4	0,00 a
ARG/CS/5	0,00 a
ARG/CS/6	0,00 a
ARG/CS/7	0,00 a
ARG/CS/8	0,00 a
ARG/CS/9	0,00 a
CAN/CS/1	0,00 a
EUA/CS/1	0,00 a
ITA/CS/1	0,00 a
FRA/CS/1	0,44 c
FRA/CS/2	0,00 a
FRA/CS/3	0,00 a

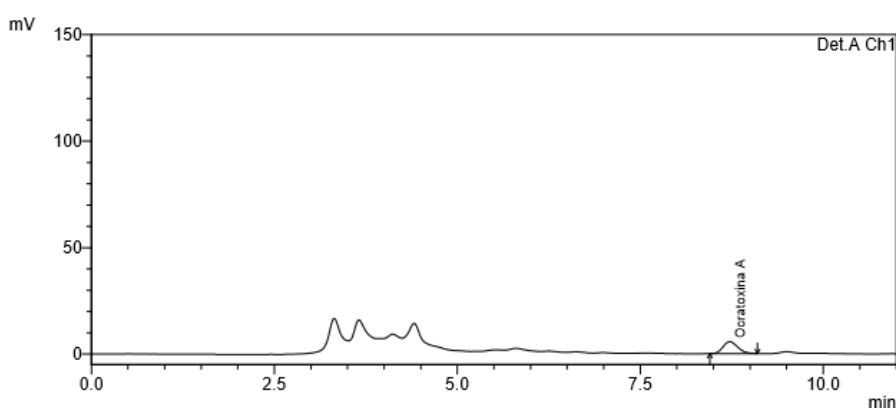
Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Da Autora (2017).

De acordo com os dados da Tabela 8, observa-se que apenas 5% das 40 amostras analisadas apresentaram contaminação por ocratoxina A e estes valores foram relativamente baixos, variando de 0,161  $\mu\text{g/L}$  a 0,44  $\mu\text{g/L}$ .

Tais resultados demonstram que, embora os fatores climáticos, bem como a composição do solo e o processo de vinificação, sejam de extrema importância para a produção da toxina, vinhos de diferentes países e regiões apresentaram valores semelhantes de OTA.

Gráfico 1 - Cromatograma da amostra de vinho tinto FRA/CS/1, com teor de ocratoxina A de 0,44  $\mu\text{g/L}$ .



Fonte: Da Autora (2017).

Os resultados deste estudo estão de acordo com os obtidos por Freire et al. (2017) que, ao avaliarem a presença de OTA em vinhos experimentais produzidos no Vale do Submédio São Francisco (PE), encontraram valores bem abaixo dos encontrados na literatura, sendo 0,29  $\mu\text{g/L}$  o maior valor observado.

Terra et al. (2012), ao estudarem amostras de vinhos e sucos de uva elaborados na região vitivinícola tropical do Brasil, observaram a presença de OTA em 75% dos vinhos analisados, porém, os níveis de contaminação foram considerados baixos (0,03-0,62  $\mu\text{g/L}$ ), sendo inferiores ao limite máximo tolerável.

Em um trabalho realizado com vinhos tintos argentinos avaliaram-se 136 amostras das variedades Malbec e Cabernet Sauvignon de dez diferentes regiões produtoras de uvas. Embora todas as amostras investigadas estivessem contaminadas por OTA, as concentrações foram baixas, variando de 0,02 a 0,98  $\mu\text{g/L}$  (MARIÑO-REPIZO et al., 2017).

Em outro estudo no qual foram analisados vinhos nacionais e importados provenientes da Argentina e do Chile, encontrou-se um percentual de contaminação de 31,3%,

no entanto, todos os valores eram inferiores a 2  $\mu\text{g/L}$  (KRÜGER; FERNANDES; ROSA, 2012).

Diferente destes resultados, Abreu et al. (2016), ao avaliarem vinhos nacionais e importados, encontraram concentrações de 0,10 a 2,77  $\mu\text{g/L}$  em 36,84% das amostras. Duas amostras, provenientes da Argentina e da França, apresentaram valores de OTA acima do permitido, representando, assim, um risco aos consumidores.

### **3.2 Ocorrência e níveis de resveratrol total, *cis* e *trans*, em vinhos**

A presença de *trans*-resveratrol foi observada em 82,5% das amostras; já o seu isômero *cis* estava presente em apenas 15%. Como o resveratrol total é a soma das frações *cis* e *trans*, a sua presença foi verificada em 97,5% dos vinhos analisados. As concentrações médias dos estilbenos estão apresentadas na tabela 9.

Tabela 9 - Valores médios de resveratrol (*trans*, *cis* e total) encontrados nas amostras analisadas.

Amostras de vinho	<i>Trans</i> -resveratrol (mg/L)	<i>Cis</i> -resveratrol (mg/L)	Resveratrol total (mg/L)
CH/CS/1	1,08	ND	1,08
CH/CS/2	0,72	ND	0,72
CH/CS/3	0,76	ND	0,76
CH/CS/4	0,92	ND	0,92
CH/CS/5	1,08	ND	1,08
CH/CS/6	0,96	0,98	1,64
CH/CS/7	1,00	ND	1,00
CH/CS/8	1,24	ND	1,24
CH/CS/9	0,72	ND	0,72
CH/CS/10	1,36	0,72	2,08
CH/CS/11	1,16	0,72	1,88
CH/CS/12	0,96	ND	0,96
CH/CS/13	0,60	ND	0,60
CH/CS/14	0,36	ND	0,36
CH/CS/15	0,52	ND	0,52
CH/CS/16	0,68	ND	0,68
AFR/CS/1	0,6	0,6	0,12
BRA/CS/1	3,16	ND	3,16
BRA/CS/2	1,40	ND	1,40
BRA/CS/3	1,76	ND	1,76
BRA/CS/4	0,72	ND	0,72
BRA/CS/5	0,36	ND	0,36
BRA/CS/6	0,68	ND	0,68
BRA/CS/7	0,48	ND	0,48
ARG/CS/1	ND	0,72	0,72
ARG/CS/2	ND	0,60	0,60
ARG/CS/3	ND	ND	ND
ARG/CS/4	ND	ND	ND
ARG/CS/5	ND	ND	ND
ARG/CS/6	ND	ND	ND
ARG/CS/7	0,36	ND	0,36
ARG/CS/8	0,64	ND	0,64
ARG/CS/9	0,72	ND	0,72
CAN/CS/1	0,64	ND	0,64
EUA/CS/1	1,04	ND	1,04
ITA/CS/1	ND	ND	ND
FRA/CS/1	0,64	ND	0,64
FRA/CS/2	1,04	ND	1,04
FRA/CS/3	0,64	ND	0,64
Média	0,75±0,57	0,13±0,22	0,82±0,45

\*ND – não detectado (limite de deteção: 0,01 µg/L)

Fonte: Da Autora (2017).

Observa-se que a maior concentração de *trans*-resveratrol foi encontrada em uma amostra proveniente do Brasil, cujo valor médio foi de 3,16 mg/L. Somente seis vinhos apresentaram valores de *cis*-resveratrol, sendo 50% provenientes do Chile, com concentração média de 0,71 mg/L. Em relação ao resveratrol total, as amostras apresentaram conteúdo médio de 0,44 a 3,16 mg/L. O maior valor (3,16 mg/L) foi observado na amostra brasileira já citada, cuja concentração foi influenciada integralmente pelo isômero *trans*, já que este não apresentou valores de *cis*-resveratrol.

O fato de a grande maioria das amostras analisadas não ter apresentado valores de *cis*-resveratrol em sua composição pode ser devido ao fato de esta molécula ser muito instável, enquanto o *trans*-resveratrol consiste na forma mais estável do estilbeno, permanecendo presente por longos períodos, quando protegido da luz e em uma faixa de pH entre 1 e 7 (BASTOS et al., 2009; TRELA; WATERHOUSE, 1996).

Muitos artigos têm sido publicados descrevendo algumas estimativas para avaliar o conteúdo de *cis* e *trans*-resveratrol em vinhos produzidos por diferentes variedades de uvas (GOLDBERG et al., 1995; RODRÍGUEZ-DELGADO et al., 2002). Segundo Souto et al. (2001), vinhos de diversos países apresentaram os seguintes valores médios de resveratrol: Canadá, 0,77 mg.L<sup>-1</sup>; EUA, 0,998 mg.L<sup>-1</sup>; Grécia, 0,873 mg.L<sup>-1</sup>; Japão, 0,157 mg.L<sup>-1</sup>; Portugal, 1,00 mg.L<sup>-1</sup> e Chile e Argentina, 1,21 mg.L<sup>-1</sup>. No Brasil, os autores apresentaram valores para resveratrol em vinhos produzidos na região sul do país, tendo, em vinhos de uva Cabernet Sauvignon, a média dos valores sido de 1,78 mg.L<sup>-1</sup> de *trans*-resveratrol.

### 3.3 Correlação entre níveis de resveratrol total, *trans*, *cis* e ocratoxina A em vinhos

Para correlacionar os níveis de resveratrol (total, *cis* e *trans*) com os valores de ocratoxina A, foram consideradas apenas as variáveis presença ou ausência das substâncias.

Como pode ser observado nas tabelas de variância não foi verificada correlação entre níveis de ocratoxina A e *trans*-resveratrol.

Tabela 10 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e *trans*-resveratrol.

FV	GL	SQ	QM	Teste F	Valor p
Tratamentos	1	0,0615	0,06147	0,18315	0,67109
Resíduo	38	12,7529	0,33560		
TOTAL	39	12,8144	-		

Fonte: Da Autora (2017).

O mesmo aconteceu quando correlacionamos os níveis de ocratoxina A e *cis*-resveratrol (Tabela 11) e ocratoxina A e resveratrol total (Tabela 12), ou seja, as concentrações de ocratoxina A não foram influenciadas pelo conteúdo de resveratrol presente nos vinhos, já que  $p > 0,05$  indica uma não significância entre os resultados.

Tabela 11 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e *cis*-resveratrol.

FV	GL	SQ	QM	Teste F	Valor p
Tratamentos	1	0,05623	0,056225	1,0647	0,30867
Resíduo	38	2,00677	0,052810		
TOTAL	39	2,06300	-		

Fonte: Da Autora (2017).

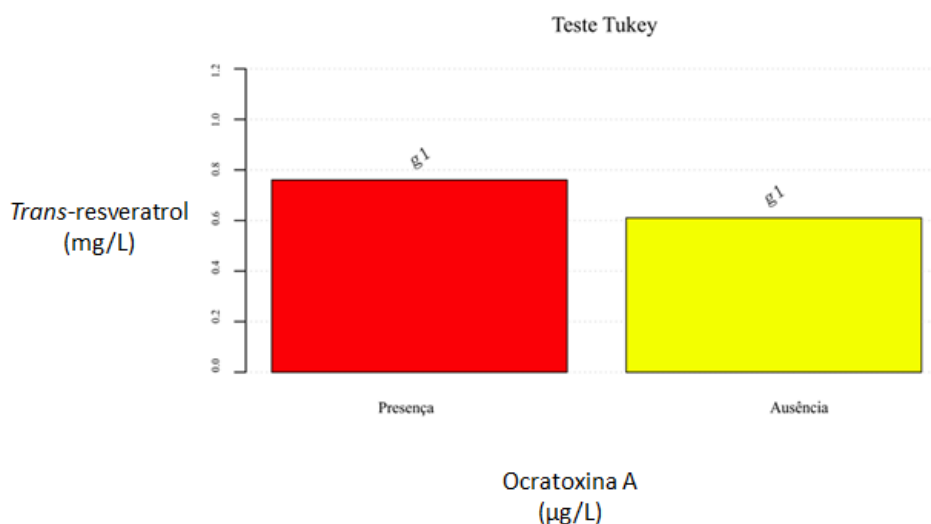
Tabela 12 - Análise de variância entre níveis de ocratoxina A e resveratrol total.

FV	GL	SQ	QM	Teste F	Valor p
Tratamentos	1	0,0001	0,00012	0,00030395	0,98618
Resíduo	38	14,5968	0,38413		
TOTAL	39	14,5970	-		

Fonte: Da Autora (2017).

As médias das variáveis em estudo foram submetidas ao Teste Tukey, a 5% de probabilidade. Conforme pode ser observado nas Figuras 6, 7 e 8, a diferença entre elas não foi significativa.

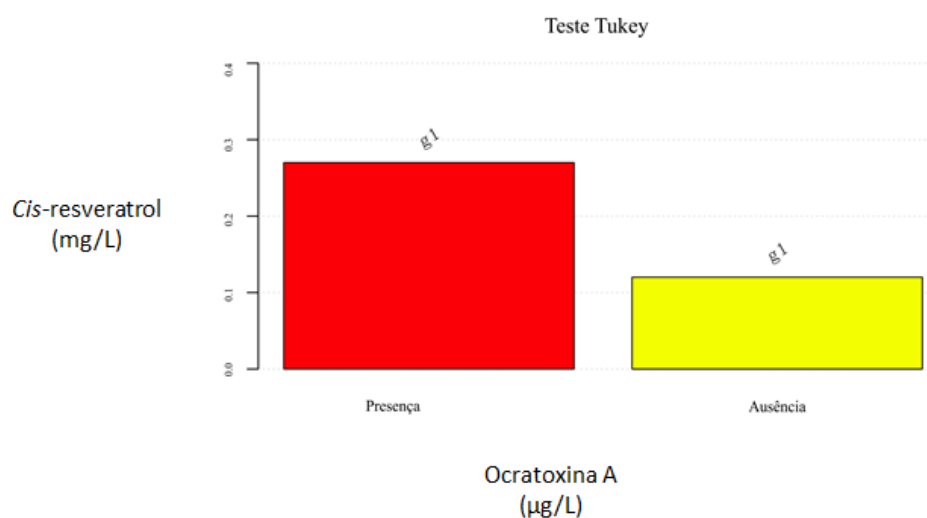
Figura 6 - Correlação entre níveis de *trans*-resveratrol e OTA.



Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Da Autora (2017).

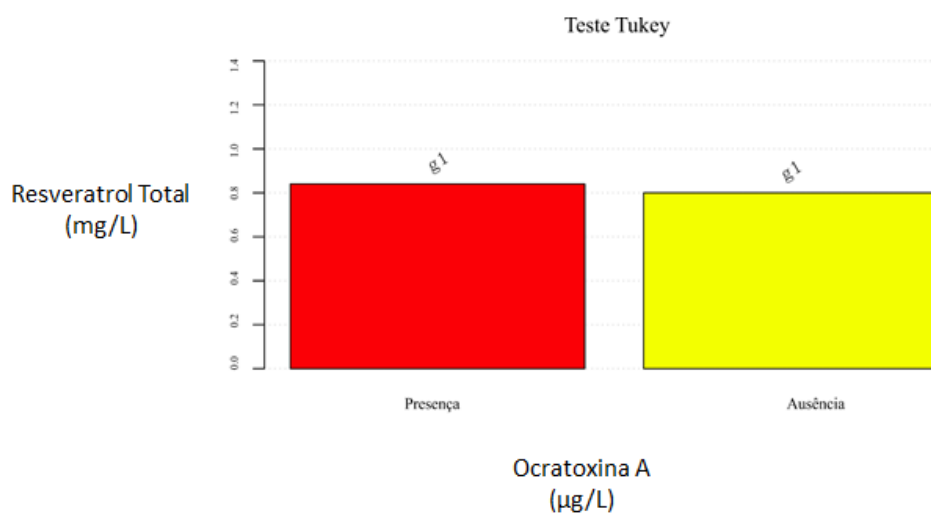
Figura 7 - Correlação entre níveis de *cis*-resveratrol e OTA.



Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Da Autora (2017).

Figura 8 - Correlação entre níveis de resveratrol total e OTA.



Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Da Autora (2017).

Tais resultados não estão de acordo com os encontrados por Perrone et al. (2007) que, ao avaliarem 112 amostras de vinhos tintos italianos, encontraram correlação inversa entre os níveis de ocratoxina A e resveratrol, já que os vinhos apresentaram valores expressivos de resveratrol total (entre 3,14 e 5,80 mg/L) e níveis médios de ocratoxina A de apenas 0,64 µg/L.

Sabe-se que diversos fatores estão envolvidos tanto na produção de ocratoxina A quanto na de resveratrol. Dentre eles, vários são comuns às duas substâncias, já que ambas são produzidas como metabólitos secundários. Alterações na temperatura, na radiação ultravioleta e na irrigação excessiva, bem como a presença de micro-organismos contaminantes e a composição do substrato, levam a uma maior concentração da toxina e do estilbeno (BELLÍ et al., 2005; KALLITHRAKA et al., 2001; LAMUELA-RAVENTOS et al., 1995; OKUDA; YOKOTSUKA, 1996; PATERAKI et al., 2007; QUINTELA et al., 2011; SELOUANE et al., 2009; SOLEAS et al., 1995), o que contribui para os resultados observados neste estudo, em que tanto os níveis de ocratoxina A quanto de resveratrol foram baixos.

Por outro lado, uma característica bem importante do resveratrol é a sua capacidade antifúngica. Essa atividade tem sido associada como um fator de proteção da planta contra ataques de espécies oportunistas, como *Botrytis cinerea* (SCHOUTEN et al., 2002). Este fungo é o principal responsável pela podridão da uva, causando danos à superfície das bagas, favorecendo, assim, a incidência de fungos toxigênicos (NALLY et al., 2012; ROUSSEAU et al., 2014; SERRA et al., 2006), podendo ser um dos fatores que explicam a correlação inversa observada em outros trabalhos.

O crescimento de fungos ocratoxigênicos e a presença de ocratoxina A (OTA) em uvas e seus derivados podem ser causados por uma ampla gama de fatores físicos, químicos e biológicos. Passamani et al. (2014) avaliaram a influência da temperatura, da atividade de água (aw) e do pH no desenvolvimento e na produção de OTA por cepas de *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger*. *A. carbonarius* apresentou o maior crescimento a temperaturas de 20 a 33 °C, aw entre 0,95 e 0,98, e níveis de pH entre 5 e 6,5. Da mesma forma, para *A. niger*, temperaturas entre 24 e 37 °C, aw maior que 0,95 e os níveis de pH entre 4 e 6,5 foram ótimos. As maiores concentrações de toxina para *A. carbonarius* e *A. niger* foram encontradas a 15 °C, aw 0,99 e pH 5,35. Verificou-se que o pH mais baixo contribuiu para uma maior produção de OTA. Estes resultados mostram que os fungos avaliados são capazes de crescer e produzir OTA em uma ampla gama de temperatura, aw e pH. No entanto, as condições ideais para a produção de toxinas são, geralmente, diferentes das melhores para o crescimento de fungos.

As diferentes características climáticas, bem como o processo de vinificação pelo qual as uvas são submetidas em diferentes países ou regiões, também interferem na variedade e quantidade de compostos fenólicos, dentre eles o resveratrol, e de micotoxinas, como a ocratoxina A. Outros estudos sobre a incidência de OTA e resveratrol, bem como a



correlação destes dois compostos, são necessários para permitir uma melhor compreensão dos fatores que contribuem significativamente para a sua incidência em vinhos, a fim de minimizar o potencial risco da presença da toxina e potencializar os efeitos benéficos do resveratrol.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, P. S. de et al. Ochratoxin A in wines and evaluation of consumer exposure. **Food and Public Health**, Rosemead, v. 6, n. 5, p. 107-114, 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16<sup>th</sup> ed. Washington, DC, 1997.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16<sup>th</sup> ed. Washington, DC, 2002.
- BASTOS, D. M. et al. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 53-55, jul. 2009.
- BELLÍ, N. et al. Ochratoxin A-producing fungi in Spanish wine grapes and their relationship with meteorological conditions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 113, n. 3, p. 233-239, Nov. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 fev. 2011. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- BURDASPAL, P.; LEGARDA, T. Occurrence of ochratoxin A in sweet wines produced in Spain and other countries. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 24, n. 9, p. 976-986, 2007.
- DALL'ASTA, C. et al. The occurrence of ochratoxin A in blue cheese. **Food Chemistry**, London, v. 106, n. 2, p. 729-734, Feb. 2008.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **EN 14133**: foodstuffs: determination of ochratoxin A in wine and beer, HPLC method with immunoaffinity column clean-up. Brussels, 2003.
- FREIRE, L. et al. Influence of physical and chemical characteristics of wine grapes on the incidence of *Penicillium* and *Aspergillus* fungi in grapes and ochratoxin A in wines. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 16, p. 181-190, 2017.
- GOLDBERG, D. M. et al. A global survey of *Trans*-resveratrol concentration in commercial wines. **American Journal of Enology Viticulture**, Davis, v. 46, n. 2, p. 159-165, 1995.
- HARRIS, A. **Distributed leadership in schools**: developing the leaders of tomorrow. Abingdon: Routledge & Falmer Press, 2008.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on evaluation of carcinogenic risks to humans**: some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, 1993.

- JORGENSEN, K.; JACOBSEN, J. S. Occurrence of ochratoxin A in Danish wheat and rye, 1992-99. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 19, n. 12, p. 1184-1189, 2002.
- KALLITHRAKA, S. et al. The application of an improved method for *trans*-resveratrol to determine the origin of Greek red wines. **Food Chemistry**, London, v. 75, p. 355-363, 2001.
- KARBANCIOLU-GULER, F.; HEPERKAN, D. Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 32-36, 2008.
- KAWASHIMA, L. M. et al. Fumonisin B1 and ochratoxin A in beers made in Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 317-323, abr./jun. 2007.
- KRUEGER, S. et al. North Atlantic deep water and Antarctic bottom water variability during the last 200 ka recorded in an abyssal sediment core off South Africa. **Global and Planetary Change**, Amsterdam, v. 80/81, p. 180-189, Jan. 2012.
- LAMUELA-RAVENTOS, R. M. et al. Direct HPLC analysis of cis- and *trans*-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, London, v. 43, n. 2, p. 281-283, 1995.
- LASRAM, S. et al. Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in grapes from a Tunisian vineyard. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 114, n. 3, p. 376-379, 2007.
- LEONG, S. L. et al. Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 301-306, Sept. 2007.
- LEONI, L. A. B. et al. Ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffees. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 17, n. 10, p. 867-870, 2000.
- MAGNOLI, C. E. et al. Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South American countries. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 163, n. 5, p. 249-260, May 2007.
- MARIÑO-REPIZO, L. et al. Assessment of ochratoxin A occurrence in Argentine red wines using a novel sensitive quechers-solid phase extraction approach prior to ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 97, n. 8, p. 2487-2497, 2017.
- MOUNJOUENPOU, P. et al. Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa processing in Cameroon. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 121, n. 2, p. 234-241, 2008.
- NALLY, M. C. et al. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in table grapes by non-pathogenic indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated from viticultural environments in Argentina. **Postharvest Biology & Technology**, Amsterdam, v. 64, p. 40-48, 2012.
- OKUDA, T.; YOKOTSUKA, K. *Trans*-resveratrol concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 47, n. 1, p. 93-99, 1996.

- PADILHA, C. V. S. et al. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, London, v. 228, p. 106-115, 2017.
- PASSAMANI, F. R. F. et al. Effect of temperature, water activity, and pH on growth and production of ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian Grapes. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 77, p. 1947-2942, 2014.
- PATERAKI, M. et al. Influence of sulphur dioxide, controlled atmospheres and water availability on in vitro germination, growth and ochratoxin A production by strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 141-149, May 2007.
- PERRONE, G. et al. Positive correlation between high levels of ochratoxin A and resveratrol-related compounds in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 55, n. 16, p. 6807-6812, 2007.
- QUINTELA, F. M. Mammalia, Chiroptera, Rio Grande, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Check List: Journal of Species Lists and Distribution**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 443-447, 2011.
- RASINES-PEREA, Z.; TEISSEDE, P. Grape Polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. **Molecules**, Basel, v. 22, p. 68, 2017.
- RIBA, A. et al. Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 122, n. 1/2, p. 85-92, Feb. 2008.
- RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A. et al. *Trans*-resveratrol in wines from the Canary Islands (Spain): analysis by high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, Easton, v. 76, p. 371-375, 2002.
- ROUSSEAU, S. et al. Non-Botrytis grape-rotting fungi responsible for earthy and moldy off-flavors and mycotoxins. **Food Microbiology**, London, v. 38, p. 104-121, 2014.
- SCHOUTEN, A. et al. Resveratrol acts as a natural antifungal and induces self-intoxication by a specific laccase. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 43, n. 4, p. 883-894, 2002.
- SEKIYAMA, B. L. et al. Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 289-294, July/Sept. 2005.
- SELOUANE, A. et al. Impact of some environmental factors on growth and production of ochratoxin A of/by *Aspergillus tubingensis*, *A. niger*, and *A. carbonarius* isolated from Moroccan grapes. **Journal Microbiology**, London, v. 47, n. 4, p. 411-419, Aug. 2009.
- SERRA, R. et al. Influence of the region of origin on the mycobiota of grapes with emphasis on *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Mycological Research**, Cambridge, v. 110, p. 971-978, 2006.

SOLEAS, G. J. et al. A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 3, p. 346-352, 1995.

SOUTO, A. A. et al. Determination of *trans*-resveratrol concentrations in Brazilian red wines by HPLC. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 14, p. 441-445, 2001.

TERRA, M. F. et al. Detection of ochratoxin A in tropical wine and grape juice from Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. 4, p. 890-894, Mar. 2012.

TRELA, B. C.; WATERHOUSE, A. L. Resveratrol: Isomeric molar absorptivities and stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 5, p. 1253-1257, 1996.

VISWANATH, P. et al. A survey of ochratoxin a in wheat and barley in India. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 27, n. 2, p. 111-123, May 2007.

ZINEDINE, A. et al. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. **Food Control**, Guildford, v. 17, n. 11, p. 868-874, Nov. 2006.

**CAPÍTULO 3****PHENOLIC COMPOUNDS OF CABERNET SAUVIGNON WINES**

## ABSTRACT

Polyphenols are the most abundant secondary metabolites present in the plant kingdom and they are related to several of the main characteristics of wine. These compounds have been shown to significantly influence the sensory characteristics of wines, such as mouthfeel, color, palatability, bitterness, and astringency. Similar to other foods, these compounds are the main contributors to the antioxidant capacity of wine, producing positive effects on antioxidant capacity, lipid profile and the coagulation system. The objective of this work was evaluating and quantifying phenolic compounds presents in red wines from different countries by *RP-HPLC/DAD*. It was found twenty two diferentes compounds, belonging to four classes: flavonols (Catechin, Epicatechin gallate, Epigallocatechin, Quercetin, Procyanidin A2, Procyanidin B1, Procyanidin B2, Rutin, Hesperidin, Kaempferol); anthocyanins (Malvidin 3-glucoside, Delphinidin 3-glucoside, Peonidin 3-glucoside, Pelargonidin 3-glucoside); phenolic acids (Gallic acid, Caftaric acid, Caffeic acid, Chlorogenic acid, p-Coumaric acid, Syringic acid) and stilbenes (*Cis* and *trans*-resveratrol). The content of flavonols is relatively low, however these results have enological and viticultural interest for grape growers as vineyard site selection for this cultivar can confer differentiable attributes in terms of grape composition and quality.

Keywords: Wine; Antioxidant, Red wines.

## 1 INTRODUCTION

Since ancient times wine has been closely associated with the diet, particularly in Mediterranean countries (WILLETT et al., 1995) and for many years, moderate and regular consumption of wine has been associated with health benefits, with no scientific basis. Over the last two decades, several epidemiological and clinical studies around the world have pointed out that the moderate intake of alcoholic beverages produces positive effects on antioxidant capacity, lipid profile and the coagulation system (LINDBERG; AMSTERDAM, 2008), that may be associated with the decreased incidence of cardiovascular disease (FRIEDMAN; KIMBALL, 1986; MUNTWYLER et al., 1998), overall mortality (GRONBAEK et al., 1995) and other diseases observed in such moderate drinkers.

Several studies have focused their attention on the components of red wine (mainly polyphenols and especially resveratrol) since the so-called “French paradox” was first described (RENAUD; LORGERIL, 1992) in order to explain the relationship observed between wine consumption and the incidence of cardiovascular disease. Although the chemical constituents of grapes and wine may vary, similar beneficial effects have been observed in different varieties of red wine related to their higher polyphenolic content.

Polyphenols are the most abundant secondary metabolites present in the plant kingdom. These constituents represents a large and diverse group of molecules and they are divided into the following two groups based on their chemical formulae: flavonoid compounds and non-flavonoid compounds (MA et al., 2014).

Phenolic compounds are related to several of the main characteristics of wine (MA et al., 2014). These compounds have been shown to significantly influence the sensory characteristics of wines, such as mouthfeel, color, palatability, bitterness, and astringency. Similar to other foods, these compounds are the main contributors to the antioxidant capacity of wine (ISABELLE et al., 2009; MA et al., 2014). Many factors influence the phenolic compound contents in wines, such as sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>), grape variety, vineyard soil, geographical location, and climate conditions (referred to as “terroir”), vinification technology, grape qualities, such as pesticide residues and metal contents in grape must, and the aging process, including in-barrel and in-bottle, etc. (GORINSTEIN et al., 1984; MA et al., 2014; ROBINSON; WINGE, 2010; SUN et al., 2015, 2016).

Aromatic and phenolic compounds are the crucial compounds that determine the quality of wine, and their evolution during the wine-making process affects both wine



feature and maturation (GORDILLO et al., 2012; IVANOVA et al., 2012). Wine aroma is extremely complex. Some of the aromatic compounds are derived from grape berries, and they exhibit fruity notes (PISARNITSKII, 2001). The fermentation process results in the formation of fermented aromatic compounds in wine (SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2010). Moreover, the aromatic compounds with aging aroma notes are normally synthesized in wine during the aging process, which further helps wine maturation (UGLIANO, 2013). Aroma is usually the first choice for consumers (WANG et al., 2016). It is reported that the consumer acceptability of a wine is generally determined by whether or not it contains a complex but well-balanced aroma profile (VILLAMOR; ROSS, 2013). Phenolic compounds are mainly extracted from grape berries into wine during the fermentation process, and their evolution alters the color, mouthfeel, and palatability of the wine (ZHANG et al., 2015). Anthocyanins play an important role in the wine color attributes, whereas non-anthocyanin phenolic compounds determine the astringency and bitterness of wine (GAO et al., 2015).

Considering the importance of phenolic compounds in wine composition, contributing to the beverage's quality and presenting beneficial effects to the consumers' health, the objective of this work was evaluating and quantifying phenolic compounds presents in red wines from different countries.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Chemicals

Ethyl alcohol, potassium persulfate and Folin–Ciocalteu reagent were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). Methanol, acetonitrile and 85% phosphoric acid were obtained from Vetec Chemistry Ltda (Rio de Janeiro, Brazil), J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) and Fluka (Switzerland), respectively. Tartaric, malic, citric, succinic, lactic, acetic and ascorbic acids were purchased from Vetec chemistry Ltda (Rio de Janeiro, Brazil). Ultra-pure water was obtained by purification using a Purelab Option Q Elga System (USA). Malvidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, malvidin 3-glucoside, cyanidin 3-glucoside, peonidin 3-glucoside, delphinidin 3-glucoside and pelargonidin 3-glucoside, kaempferol 3-glucoside, myricetin, quercetin, rutin (quercetin 3-rutinoside), isorhamnetin 3-glucoside, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin, procyanidins A2, B1 and B2, and trans-resveratrol were purchased from Extrasynthese (Genay, França). Gallic acid, cinnamic acid and caffeic acid were purchased from Chem Service (West Chester, USA). p-Coumaric and chlorogenic acid were obtained from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA).

### 2.2 Wine Samples

Forty wine samples were randomly obtained, according to availability, in different commercial establishments of Lavras, State of Minas Gerais, Brazil. The samples consisted of wines from Chile, Argentina, Brazil, France, Italy, South Africa, Canada, Australia and United States. All wine samples were the Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) variety.

### 2.3 Phenolic compounds by RP-HPLC/DAD

Analyses were performed on a high performance liquid chromatograph (HPLC), Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with solvent quaternary pump (model G1311C), degasser, autosampler (model G1329B), thermostated column compartment (model G1316A) and Diodes Array Detector (DAD) (model G1315D). Chromatographic separation for phenolic compounds was performed in a

Zorbax Eclipse Plus RP-C18 column (100 × 4.6 mm, 3.5 μm) and the Zorbax C18 pre-column (12.6 × 4.6mm, 5 μm). The column temperature was set at 35 °C. Data acquisitions were performed using OpenLAB CDS ChemStation Edition™ software (Agilent Technologies).

The method of Padilha et al. (2017) was used with adaptations for characterization of phenolic compounds. The grape extracts were filtered on 0.45 μm polypropylene filters (Chromafil® Xtra, Macherey-Nagel - Germany) and then injected (20 μL). The mobile phases was composed of water acidified with 0.1 M phosphoric acid (pH = 2.0, phase A) and acidified methanol with 0.5% phosphoric acid (phase B); a flow rate of 0.8 mL.min<sup>-1</sup> was used. Elution was complete in 33 minutes using a gradient: 0-5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14-30 min: 50% B; 30-33 min: 80% B (return of the initial conditions). The detection of the compounds was at 220 nm for (+) - catechin, (-) - epicatechin, (-) - epigallocatechin gallate, (-) - epicatechin gallate, procyanidin B1 and procyanidin B2; 280 nm for gallic and syringic acids, hesperidin, *cis*-resveratrol and naringenin; 320 nm for caftaric acid, caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid and *trans*-resveratrol; 360 nm for quercetin 3-glucoside, rutin and caempferol; and 520 nm for malvidin 3,5-diglucoside; malvidin 3-O-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3-O-glucoside, pelargonidin 3,5-diglucoside, pelargonidin 3-O-glucoside, peonidin 3-O-glucoside and delphinidin 3-O-glucoside.

## 2.4 Statistical analysis

The results obtained for the variables studied were subjected to analysis of variance (ANOVA) and followed by comparisons performed using the Tukey test with a probability of error of 5%. The correlation analysis was also conducted (with 5% and 1% probability) to investigate the relation between the phenolic compounds content and antioxidant activity, with the aid of the SPSS version 17.0 statistical package for Windows (SPSS, Chicago, USA).

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 Phenolics and flavanols compounds

The mean values and standard deviations for the contents of total phenolic compounds and flavanols of the wines are shown in Table 13. It was found twenty two different compounds, belonging to four classes: flavonols (Catechin, Epicatechin gallate, Epigallocatechin, Quercetin, Procyanidin A2, Procyanidin B1, Procyanidin B2, Rutin, Hesperidin, Kaempferol); anthocyanins (Malvidin 3-glucoside, Delphinidin 3-glucoside, Peonidin 3-glucoside, Pelargonidin 3-glucoside); phenolic acids (Gallic acid, Caftaric acid, Caffeic acid, Chlorogenic acid, p-Coumaric acid, Syringic acid) and stilbenes (*Cis* and *trans*-resveratrol).

Table 13 - Phenolic compounds of wines from different countries of Cabernet Sauvignon variety.

<b><i>Flavonols</i></b>	<b>Mean (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
(+)-Catechin	11.39±2.96
(-)-Epicatechin gallate	0.10±0.18
(-)-Epigallocatechin	0.04±0.01
Quercetin	3.99±2.03
Procyanidin A2	8.48±13.65
Procyanidin B1	3.89±1.35
Procyanidin B2	9.40±2.58
Rutin	0.45±0.88
Hesperidin	4.01±2.62
Kaempferol	0.22±0.07
<b><i>Anthocyanins</i></b>	
Malvidin 3-glucoside	3.26±4.50
Delphinidin 3-glucoside	0.06±0.10
<b><i>Phenolic acids</i></b>	
Gallic acid	44.79±12.08
Caftaric acid	67.82±33.15
Caffeic acid	4.74±1.53
Chlorogenic acid	9.79±3.79
p-Coumaric acid	2.90±1.07
Syringic acid	3.17±0.81
<b><i>Stilbenes</i></b>	
<i>Trans</i> -resveratrol	0.75±0.57
<i>Cis</i> -resveratrol	0.13±0.22

Source: Author (2017).

In flavonols class, the catechin showed the highest level ( $11.39 \text{ mg.L}^{-1}$ ) followed by Procyanidin B2 ( $9.40 \text{ mg.L}^{-1}$ ) and Procyanidin A2 ( $8.48 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Quercetin showed an mean of  $3.99 \text{ mg.L}^{-1}$ . Malvidin 3-glucoside it was the anthocyanin that got the highest mean, with  $3.26 \text{ mg.L}^{-1}$ . Among the phenolic acids, caftaric acid, gallic acid and chlorogenic acid presented the highest values, with  $67.82 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $44.79 \text{ mg.L}^{-1}$  and  $9.79 \text{ mg.L}^{-1}$  respectively. A total of  $0.88 \text{ mg.L}^{-1}$  of stilbenes was detected, being  $0.75 \text{ mg.L}^{-1}$  of *Trans*-resveratrol and  $0.13$  of *Cis*-resveratrol  $\text{mg.L}^{-1}$ .

According to the literature, a total of 32 non-anthocyanin phenolic compounds were detected in chinese wines, including seven flavan-3-ols, 12 flavonols, eight phenolic acids, and five stilbenes (WU et al., 2014).

In other study, the main phenolic compounds in brazilian wines waste extracts were catechin and epicatechin, followed by procyanidin B3, procyanidin B1, procyanidin B2, gallic acid, epigallocatechin, and procyanidin B4 (SCOLA et al., 2010).

Jara-Palacios et al. (2016) analyzing concentrations of phenolic compounds in seeds from grape found nineteen compounds. Catechin showed the highest concentration ( $8.76 \text{ mg.L}^{-1}$ ) followed by epicatechin ( $8.50 \text{ mg.L}^{-1}$ ) and procyanidin B2 ( $7.83 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

The phenolic compounds, organic acids and the antioxidant activity were determined for grape juice samples from new Brazilian varieties grown in the Sub-middle São Francisco Valley in the Northeast Region of Brazil. The results showed that the Brazilian grape juices have high antioxidant activity, which was significantly correlated with the phenolic compounds catechin, epicatechin gallate, procyanidin B1, rutin, gallic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, cyaniding-3,5-diglucoside and delphinidin-3-glucoside (LIMA et al., 2014).

## REFERENCES

- FRIEDMAN, L. A.; KIMBALL, A. W. Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in framingham. **American Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 124, p. 481-489, 1986.
- GAO, Y. et al. Evolution of phenolic compounds and sensory in bottled red wines and their co-development. **Food Chemistry**, London, v. 172, p. 565-574, 2015.
- GORDILLO, B. et al. Comprehensive colorimetric study of anthocyanic copigmentation in model solutions: effects of pH and molar ratio. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 2896-2905, 2012.
- GORINSTEIN, S. et al. The relationship between metals, polyphenols, nitrogenous substances and treatment of red and white wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 35, p. 9-15, 1984.
- GRONBAEK, M. et al. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. **BMJ**, London, v. 310, p. 1165-1169, 1995.
- ISABELLE, M. et al. Peroxyl radical scavenging capacity, polyphenolics, and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 9410-9416, 2009.
- IVANOVA, V. et al. Validation of a method for analysis of aroma compounds in red wine using liquid-liquid extraction and GC-MS. **Food Analytical Methods**, London, v. 5, p. 1427-1434, 2012.
- JARA-PALACIOS, M. J. et al. The use of grape seed byproducts rich in flavonoids to improve the antioxidant potential of red wines. **Molecules**, Basel, v. 21, n. 11, p. E1526, 2016.
- LIMA, M. S. et al. Phenolics compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, London, v. 161, p. 94-103, 2014.
- LINDBERG, M. L.; AMSTERDAM, E. A. Alcohol, wine, and cardiovascular health. **Clinical Cardiology**, Mahwah, v. 31, p. 347-351, 2008.
- MA, T. T. et al. Phenolic characterisation and antioxidant capacity of young wines made from different grape varieties grown in Helanshan Donglu wine zone (China). **South African Journal of Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 35, p. 321-331, 2014.
- MUNTWYLER, J. et al. Mortality and light to moderate alcohol consumption after myocardial infarction. **Lancet**, London, v. 352, p. 1882-1885, 1998.
- PADILHA, C. V. S. et al. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, London, v. 228, p. 106-115, 2017.

- PISARNITSKII, A. F. Formation of wine aroma: tones and imperfections caused by minor components: review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 37, p. 651-659, 2001.
- RENAUD, S.; LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary Herat disease. **Lancet**, London, v. 339, p. 1523-1526, 1992.
- ROBINSON, N.; WINGE, D. Copper metallochaperones. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 79, p. 537-562, 2010.
- SÁNCHEZ-PALOMO, E. et al. Characterization of aroma compounds of Verdejo white wines from the La Mancha region by odour activity values. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 25, p. 456-462, 2010.
- SCOLA et al. Flavan-3-ol compounds from wine wastes with in vitro and in vivo antioxidant activity. **Nutrients**, Basel, v. 2, n. 10, p. 1048-1059, 2010.
- SUN, X. Y. et al. High hydrostatic pressure treatment: An artificial accelerating aging method which did not change the region and variety non-colored phenolic characteristic of red wine. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, London, v. 33, p. 123-134, 2016.
- SUN, X. Y. et al. Profiles of phenolic acids and flavan-3-ols for select Chinese red wines: a comparison and differentiation according to geographic origin and grape variety. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 80, p. 2170-2179, 2015.
- UGLIANO, M. Oxygen contribution to wine aroma evolution during bottle aging. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 61, p. 6125-6136, 2013.
- VILLAMOR, R. R.; ROSS, C. F. Wine matrix compounds affect perception of wine aromas. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 4, p. 1-20, 2013.
- WANG, J. et al. Chemical and sensory profiles of rosé wines from Australia. **Food Chemistry**, London, v. 196, p. 682-693, 2016.
- WILLETT, W. C. et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 61, p. 1402S-1406S, 1995.
- WU, B. H. et al. Genome-wide transcriptional profiles of the berry skin of two red grape cultivars (*Vitis vinifera*) in which anthocyanin synthesis is sunlight-dependent or-independent. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, p. e105959, 2014.
- ZHANG, M. X. et al. Phenolic compound profiles in skins of white wine and table grape cultivars grown in the National Grape Germplasm Resource Nursery of China. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 36, p. 154-164, 2015.

## 4 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o consumo das amostras avaliadas não implica em um risco à saúde do consumidor, já que a presença de OTA não foi observada na maior parte dos vinhos analisados. Nas amostras em que ela foi detectada, os níveis de contaminação foram muito baixos, não comprometendo, assim, a segurança do produto.

A presença de resveratrol total foi verificada na maior parte das amostras, no entanto, o maior conteúdo observado foi do isômero *trans*, já que poucas amostras apresentaram valores de *cis*-resveratrol, comprovando que a fração *trans* é a mais estável, permanecendo no produto por mais tempo.

Os valores de resveratrol encontrados nos vinhos analisados estão próximos dos encontrados por outros autores, variando de 0 a 3,16 mg/L.

Diferente de outros estudos realizados, os resultados deste trabalho mostraram que não existe ligação entre os níveis de ocratoxina A e resveratrol, nos vinhos analisados.

O conteúdo de compostos fenólicos foi relativamente baixo, no entanto, estes resultados são relevantes, uma vez que a presença e a quantidade destas substâncias conferem diferentes atributos em termos de composição e qualidade do vinho. Desse modo, a compreensão dos efeitos do clima sobre a síntese de compostos fenólicos pode ser útil para a gestão dos vinhedos, com o objetivo de melhorar a qualidade da uva.