



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Bruna Bresolin Roldan

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA
DE SUCO DE UVA BORDÔ (*Vitis labrusca*)**

**Porto Alegre
2016**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Bruna Bresolin Roldan

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA
DE SUCO DE UVA BORDÔ (*Vitis labrusca*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Vitor Manfroi
Coorientador: Prof. Dr. Eliseu Rodrigues

Porto Alegre
2016

CIP - Catalogação na Publicação

Bresolin Roldan, Bruna

Influência do método de extração sobre a composição química do suco de uva bordô (*vitis labrusca*) / Bruna Bresolin Roldan. -- 2016.

57 f.

Orientador: Vitor Manfroi.

Coorientador: Eliseu Rodrigues.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. suco de uva. 2. método de extração. 3. composição química. 4. arraste à vapor. I. Manfroi, Vitor, orient. II. Rodrigues, Eliseu, coorient. III. Título.

Bruna Bresolin Roldan
Engenheira de Alimentos

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: _____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. VITOR MANFROI
Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. ELISEU RODRIGUES
Coorientador – PPGCTA/UFRGS

Profa. Dra. SIMONE HICKMANN FLORES
Banca – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. JULIO MENEGUZZO
Banca – IFRS

Prof. Dr. JULIO ALBERTO NITZKE
Banca – UFRGS

Homologada em: _____

Por:

ROSANE RECH
Coordenadora – Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
(PPGCTA/UFRGS)

VITOR MANFROI
Diretor – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA/UFRGS)

*Dedico este trabalho a minha família, em especial
ao meu pai Hermes Bresolin (in memoriam) por ser
meu grande exemplo e meu incentivador.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Vitor Manfroi pela oportunidade e pela confiança em orientar uma aluna com o desafio de conciliar trabalho e estudo e ao meu coorientador Professor Eliseu Rodrigues pela disponibilidade, paciência e por todo o conhecimento dividido.

Aos agricultores cooperados da AECIA, por cederem as amostras.

Ao bolsista Wiliam Pagel Borges, por toda sua disponibilidade e por ter transformado estudo em amizade.

A minha família, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando para seguir em frente.

A Deus que sempre ilumina o meu caminho.

ÍNDICE GERAL

RESUMO GERAL.....	10
SUMMARY	11
OBJETIVOS	14

Capítulo I**REVISÃO DE LITERATURA**

1. Definição de suco de uva	16
2. Composição química do suco de uva	16
3. Composição fenólica do suco de uva	18
4. Métodos de extração	20

CAPÍTULO II

Influence of extraction method on the chemical composition of Bordo grape juice (*Vitis labrusca*)

ABSTRACT.....	24
1 INTRODUCTION	25
2 MATERIALS AND METHODS.....	26
2.1 Reagents and Standards.....	26
2.2 Grape Juice Samples	27
2.3 Methods of Extraction.....	27
2.4 Chemical Composition.....	32
2.4.1 BASIC ANALYSIS.....	32
2.5 Phenols	32
2.6 Statistical Analysis	34
3 RESULTS AND DISCUSSION	34
3.1 Basic Chemical Composition.....	34
3.2 Phenols	35
4 CONCLUSION.....	39
DISCUSSÃO GERAL	43
CONCLUSÃO GERAL.....	45

RESUMO GERAL

O aumento no consumo de uva que vem ocorrendo nos últimos anos está relacionado em parte a divulgação das propriedades benéficas à saúde associadas ao consumo de suco de uva. Estes efeitos benéficos são atribuídos à elevada concentração de compostos fenólicos presentes no suco. A composição química (incluindo os compostos fenólicos) do suco de uva é afetada por vários fatores, tais como: variedade de uva, condições edafoclimáticas de cultivo e método de extração do suco. O método de extração do suco de uva utilizado por grande parte dos pequenos produtores do Rio Grande do Sul é o método de extração por arraste à vapor, que é de fácil operação e possui um baixo custo de implantação. O produto obtido através deste método era denominado como suco de uva integral, sendo concedido registro pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. No entanto, no ano de 2010, foi cancelada a concessão de novos registros com esta denominação devido à possível incorporação de água exógena ao suco, o que descaracteriza o suco de uva integral. Os novos registros de produtos obtidos por este método são denominados de néctar ou bebida, o que deprecia e diminui o valor de mercado do produto, que é natural, puro e sem aditivos. Assim, surgiram grupos de trabalho para identificar uma solução para o problema. Uma das possíveis soluções é a criação de uma nova denominação, que seria exclusiva ao produto obtido pelo método de arraste à vapor. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar se o método de extração por arraste à vapor exerce influência (positiva ou negativa) sobre a composição química, com destaque para a composição de compostos fenólicos do suco de uva. Foram avaliados sucos obtidos de quatro variações de geração de vapor no método de arraste à vapor, sucos obtidos com uso de extrator de vapor e sucos obtidos pelo método enzimático. Todos os sucos foram produzidos a partir da variedade de uva bordô (*Vitis labrusca*). Os resultados de sólidos totais confirmam que há incorporação de cerca de 0-23% de água exógena. O perfil qualitativo dos compostos fenólicos não foi afetado pelo método de extração do suco de uva. Os teores de compostos fenólicos totais foram iguais ou superiores ao suco produzido pelo sistema enzimático. As antocianinas, que são termolábeis, tiveram o seu teor reduzido (27-71%) durante a extração por arraste à vapor, sendo uma exceção o método que utiliza caldeira como fonte de aquecimento. Os flavonoides (não antociânicos) não tiveram o seu teor reduzido pelo método de arraste à vapor. Assim, a influência do método de extração por arraste à vapor sobre os compostos fenólicos parece estar diretamente relacionada à estabilidade térmica destes compostos bioativos.

SUMMARY

The increase in grape consumption that has occurred in recent years is partly related to the disclosure of beneficial health properties associated with the grape juice consumption. These beneficial effects are attributed to a high concentration of phenolic compounds in grapes. The chemical composition (including phenolic compounds) of grape juice is affected by many factors, such as grape variety, soil and weather conditions of cultivation and juice extraction method. The method of grape juice extraction used by most small producers in RS is the method of extraction by drag steam, as it is easy to operate and has a low cost of deployment. The product obtained by this method was named as an integral grape juice, being granted registration by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. However, in 2010 it was canceled the grant of new registrations with that name due to possible incorporation of exogenous water to juice, which rules out the full grape juice. The new product registrations obtained by this method are called nectar or drink, which depreciates and decreases the market value of the product, which is natural, pure and without additives. Thus, working groups were formed to identify a solution to the problem. A feasible solution is to create a new denomination, which would be exclusive to the product obtained by the method of drag steam. In this sense, the objective of this study was to determine whether the extraction method by drag steam influences (positive or negative) on the chemical composition, especially the composition of phenolic compounds of grape juice. Juices obtained from four variations of steam generation in the method of drag steam were evaluated, as well as juices obtained with extraction of steam, and by the enzymatic method of selection of Bordeaux grape (*Vitis labrusca*). The total solids results confirm that there is incorporation of about 5-19 % of exogenous water. The qualitative profile of phenolic compounds was unaffected to extraction method of grape juice. The contents of total phenolic compounds were equal or superior to that produced by the enzymatic system juice. Anthocyanins are thermolabile had their low content (27-71 %) during extraction by drag steam, with one exception the boiler method. Flavonoids (not anthocyanins) that are less labile not had their content reduced by the method of drag steam. Thus, the influence of the method of extraction by steam distillation of the phenolic compounds appears to be directly related to the thermal stability of these bioactive compounds.

INTRODUÇÃO GERAL

O consumo de suco de uva aumentou nos últimos cinco anos, pois além de ser uma bebida que agrada ao paladar da maioria dos consumidores, contém os principais componentes da uva, como açúcares, minerais, ácidos orgânicos, vitaminas e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são os compostos responsáveis pelas propriedades antioxidantes do suco, sendo associados à diminuição do risco de desenvolvimento de várias doenças crônico-degenerativas (Rizzon, 2007; Medina-Remon et al., 2013; UVIBRA, 2015).

O suco de uva pode ser obtido de uvas viníferas (*Vitis vinifera*) ou americanas (*Vitis labrusca*). No Brasil, as uvas americanas são as mais utilizadas, pois geram sucos com boas características de cor, aroma e equilíbrio açúcar/acidez. Já as uvas viníferas originam um suco sem frescor e com sabor de “cozido”. As variedades americanas mais utilizadas para a elaboração de suco de uva são a Isabel, a Concord, a Bordô e a Niágara (Rizzon, 2007).

A extração do suco de uva pode ser realizada por diferentes métodos de extração, que são empregados conforme a tecnologia disponível na indústria e o volume a ser processado. Os métodos mais utilizados são o método *Flanzy*, com extração do suco através da sulfitação e o método *Welch*, com extração do suco através do aquecimento. O método de extração por arraste à vapor é conhecido como uma derivação do método *Welch* (Venturini Filho, 2010).

O método de extração por arraste à vapor é um método simples e de baixo custo para implantação e operação, que foi desenvolvido no Rio Grande do Sul. O produto obtido através deste método, desde o seu desenvolvimento, foi denominado como suco de uva integral; e desde 1993 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) concedia registro a este produto com a denominação de suco de uva integral (Marcon, 2013). No entanto, no ano de 2010 foi cancelada a concessão de novos registros com esta denominação devido à possível incorporação de água exógena ao suco, através do contato entre a uva e o vapor utilizado para a extração, o que descaracteriza o suco de uva integral (Bresolin, Gularte e Manfroi, 2013). Os novos registros de produtos obtidos por este método teriam que ser denominados de néctar ou bebida. Os produtores, em grande maioria, agricultores que processam a matéria-prima que produzem, mostraram-se insatisfeitos com essa nova condição, pois consideram que esta denominação depreciaria o produto, que é natural, puro e sem aditivos. Assim, surgiram grupos de trabalho para solucionar o problema e uma das possíveis soluções seria a criação de uma nova denominação, exclusiva para o produto obtido

pelo método de arraste à vapor. Além disso, surgiram também, adaptações ao equipamento extrator, com o objetivo de diminuir a incorporação de água ao suco, nomeadamente: (1) extração com geração de vapor por vaso de aquecimento, (2) por fornalha, (3) por queimador a diesel de alta pressão, (4) por queimador a diesel de alta pressão com posterior extração de vapor e (5) por caldeira pressurizada.

OBJETIVOS

Considerando o contexto exposto na introdução, o objetivo deste trabalho foi determinar se o método de extração de suco de uva por arraste à vapor influencia na composição química do suco obtido.

Foram realizadas as seguintes etapas para alcançar o objetivo proposto:

- a) determinação da composição química de sucos de uva obtidos por diferentes métodos de extração por arraste à vapor;
- b) determinação da composição dos compostos fenólicos (antociânicos e não-antociânicos), por HPLC-DAD-MSⁿ, de sucos de uva obtidos por diferentes métodos de extração por arraste à vapor;
- c) comparação da composição química e de compostos fenólicos dos sucos obtidos pelas diferentes variações do método de extração por arraste à vapor e os sucos produzidos pelo método enzimático.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. Definição de suco de uva

O MAPA define que o suco de uva é a bebida não fermentada, obtida do mosto simples, sulfitado ou concentrado, de uva sã, fresca e madura, sendo tolerada a graduação até 0,5 °G.L. de etanol. O suco de uva pode ser (a) integral ou simples, quando não for adicionado de açúcares e estiver na sua concentração natural, (b) reconstituído, quando for obtido pela diluição de suco de uva concentrado ou desidratado até a concentração original do suco de uva integral, (c) desidratado, quando estiver na forma sólida, obtido através da desidratação e (d) concentrado, quando tiver sido parcialmente desidratado (BRASIL, 1988). Em relação a cor, o suco pode ser classificado em translúcido (branco), rosado ou vinho (tinto) (BRASIL, 2000).

O Regulamento Técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para o suco de uva estabelece os limites analíticos que devem ser respeitados na produção de suco de uva, como apresentado na **Tabela 1**.

Tabela 1. Limites analíticos estabelecidos para o suco de uva.

Parâmetro	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis em °Brix, 20 °C	14,00	n.e.
Acidez total expressa em ácido tartárico (g/100g)	0,41	n.e.
Açúcares totais naturais da uva (g/100g)	n.e. ^a	20,00
Sólidos insolúveis % v/v	n.e.	5,00
Acidez volátil em ácido acético	n.e.	0,05

Fonte: MAPA - Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. ^a n.e. = não estabelecido.

2. Composição química do suco de uva

A composição química do suco de uva é similar à da uva, pois contém todos os principais constituintes da uva, como açúcares, minerais, ácidos orgânicos, vitaminas e

compostos fenólicos. Estes compostos possuem importância para a cor e “estrutura” do produto. A solubilização e a intensidade de difusão das substâncias contidas na casca para o mosto dependem do método de extração utilizado, principalmente em relação ao tempo e temperatura utilizados (Rizzon; Meneguzzo, 2007).

A água é o principal constituinte do suco de uva, seguido pelos carboidratos (glicose e frutose) que lhe conferem o sabor doce. Em menores concentrações estão presentes os ácidos orgânicos, como ácido tartárico, málico e cítrico que lhe conferem um pH entre 2,90 e 3,43, e são responsáveis pela acidez do suco. Entre os minerais, o potássio é o mais abundante (634 - 1519 mg/L), seguido de cálcio, magnésio e sódio. Em menor concentração estão presentes ferro, cobre, zinco, manganês e lítio (Rizzon, Manfroi e Meneguzzo, 1998; Rizzon, 2007; Rizzon e Miele, 2012).

No Brasil, o suco de uva é produzido a partir de uvas americanas (*Vitis labrusca*), principalmente as variedades Isabel, Bordô, Concord e Niágara. Essas variedades se adaptam mais facilmente às condições climáticas do sul do Brasil (Burin et al., 2014).

A cultivar Concord origina um mosto com teor de açúcar entre 14 e 16 °Brix, com acidez relativamente baixa, que mantém as características de uva fresca durante o processamento. A cultivar Isabel responde por 45% das uvas produzidas na Serra Gaúcha, o teor de açúcar no mosto varia entre 14 e 18 °Brix, o teor de acidez no mosto é semelhante ao da cultivar Concord, porém, origina um suco com menor intensidade aromática e de cor. A cultivar Bordô origina um mosto com teor de açúcar entre 13 e 16 °Brix e a acidez total é considerada baixa (Rizzon, 2007).

Para a produção de suco é necessário que a uva escolhida mantenha as características aromáticas e de sabor durante o processamento e conservação, e que possua aroma, cor e equilíbrio açúcar/acidez responsáveis pela tipicidade e qualidade do suco. O grupo das uvas

americanas possui essas características, além de possuir um aroma “foxado”, que nos vinhos não é bem aceito, mas no suco torna-se uma característica positiva (Rizzon, 2007).

Na **Tabela 2** está descrita a composição química do suco de uva, de acordo com o USDA (2014).

Tabela 2. Composição química do suco de uva.

Nutriente	Unidade	Concentração por 100g de suco
Água	g	84,51
Proteínas	g	0,37
Cinzas	g	0,22
Gorduras totais	g	0,13
Carboidratos	g	14,77
Fibra alimentar	g	0,2
Açúcares totais	g	14,20
Cálcio	mg	11
Ferro	mg	0,25
Magnésio	mg	10
Fósforo	mg	14
Potássio	mg	104
Sódio	mg	5
Zinco	mg	0,07
Cobre	mg	0,018
Manganês	mg	0,239
Flúor	µg	138

Fonte: Adaptado de USDA (2014).

3. Composição fenólica do suco de uva

O consumo moderado de vinho e suco de uva está associado à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Uma das hipóteses que explica tal associação, afirma que os compostos fenólicos presentes na uva, no vinho e no suco são os responsáveis por este efeito benéfico à saúde. Um dos mecanismos pelos quais os compostos fenólicos

atuam é desativando espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, as quais estão relacionadas ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares (Freedman et al., 2001; Fragopoulou et al., 2003).

A uva é uma das frutas que contém as maiores concentrações de compostos fenólicos (Manach et al., 2005). Alguns estudos epidemiológicos e de intervenção indicam que uma dieta rica em compostos fenólicos pode ter um efeito benéfico sobre a pressão arterial, ajudando a reduzir a pressão arterial elevada e impedindo que ela aumente (Medina-Remon et al., 2013).

A maioria dos estudos presentes na literatura investiga o conteúdo de compostos fenólicos em uvas viníferas (*Vitis vinifera*). Assim, há pouca informação sobre o conteúdo individual de compostos fenólicos em variedades de uvas americanas (Mazzuca et al., 2005). Para a produção de suco de uva, no Brasil, são utilizadas uvas americanas (*Vitis labrusca*), principalmente as variedades Isabel, Bordô, Concord e Niágara.

O suco de uva possui em sua composição várias classes de compostos fenólicos, nomeadamente: (1) flavonoides: flavanóis, flavonóis e antocianinas, (2) ácidos fenólicos e resveratrol (Manach et al., 2005; Krikorian et al., 2012). Os flavonoides são representados principalmente por kaempferol, quercitina e miricetina e derivados de orto-metilados, que tem despertado interesse devido as suas propriedades antioxidantes (Mudnic et al., 2010). Entre os flavanóis, tem se destacado as catequinas e procianidinas, pois além de suas propriedades antioxidantes, também possuem atividade antimicrobiana e bactericida (Xia et al., 2010). As principais antocianinas encontradas no suco de uva são malvidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e pelargonidina-3-glicosídeo e o consumo dessas antocianinas está relacionado com a prevenção de doenças cardiovasculares (Xia et al., 2010). Já o consumo de ácidos fenólicos,

como o ácido gálico, cafeico e clorogênico está relacionado a dilatação de vasos sanguíneos, além de sua atividade antioxidante (Mudnic et al., 2010).

Muitos fatores, como variedade da uva, práticas utilizadas no vinhedo e região geográfica e, principalmente, método de extração exercem grande influência sobre a composição fenólica do suco (Natividade et al., 2013).

O conteúdo de compostos fenólicos do suco de uva, de acordo com o USDA, está descrito na **Tabela 3**.

Tabela 3. Conteúdo de compostos fenólicos no suco de uva.

Composto	Concentração (mg 100g⁻¹)
Cianidina	0,9
Petunidina	1,0
Delfinidina	1,9
Malvidina	11,2
Peonidina	1,1
Catequina	0,8
Epicatequina	0,6
Miricetina	0,7
Quercitina	0,7
Proantocianidina (monômeros)	1,7
Proantocianidina (dímeros)	3,2
Proantocinidina (trímeros)	1,8
Proantocianidina (4-6meros)	7,5
Proantocianidina (7-10meros)	6,5
Proantocianidina (polímeros)	28,4

Fonte: Adaptado de USDA (2014).

4. Métodos de extração

O processo utilizado para obtenção do suco deve manter as características da uva utilizada, com a manutenção do frescor, da coloração e do aroma. Para isso, é imprescindível que se utilize uma matéria-prima de qualidade, com boa maturação e qualidade sanitária

satisfatória. Além da qualidade da uva, o processamento que será utilizado, principalmente em relação ao tempo e a temperatura utilizados será determinante para a extração e difusão das substâncias contidas na casca para o mosto (Rizzon, Manfroi e Meneguzzo, 1998; Venturini Filho, 2010). O método *Flanzy* é o método de extração que utiliza a sulfitação para obtenção do suco. É um método com baixo custo e fácil operação, mas que tem sido substituído por outros métodos devido aos problemas ambientais decorrentes do descarte dos sulfitos gerados. O método consiste no desengace e esmagamento da uva, com posterior abafamento do mosto com dióxido de enxofre (SO₂), que promove a extração da cor e garante a estabilidade enzimática e microbiológica. Após 2 a 4 dias os sólidos são separados do líquido. Assim, o suco pode ser conservado em tanques sem refrigeração até ser engarrafado. Antes do engarrafamento, o suco é submetido à retirada do dióxido de enxofre que consiste no aquecimento do suco entre 60 e 65 °C, sob vácuo ((Venturini Filho, 2010).

O método enzimático é uma alternativa ao método *Flanzy* e apesar de possuir um custo de operação mais elevado, a qualidade do suco obtido justifica o custo. O método consiste no desengace da uva, seguido do esmagamento e colocação em tanque de fundo cônico, onde se dará sequência ao processamento, de acordo com a uva utilizada, branca ou tinta. Para os sucos de uvas tintas é realizado o aquecimento do mosto, através do uso de tanques encamisados ou uso de tubos concêntricos, e são adicionados preparados comerciais enzimáticos que auxiliam na extração da cor e liberação de aroma. O tempo de contato fica em torno de duas horas e a concentração do preparado enzimático de 2 a 4 g/100 L de mosto. Após a extração, o suco é separado dos sólidos através de prensagem suficiente para extrair o suco retido nos sólidos, sem dilacerar excessivamente o bagaço, passando, opcionalmente, pelas etapas de clarificação e filtração. Grandes empresas realizam a estabilização tartárica, com o objetivo de evitar a formação de depósitos de bitartrato de potássio no fundo das

garrafas, através do resfriamento do suco a temperaturas próximas de 0 °C por alguns dias.

Em seguida o suco é pasteurizado em trocadores de calor do tipo tubo (Venturini Filho, 2010).

CAPÍTULO II

Influence of extraction method on the chemical composition of Bordo grape juice (*Vitis labrusca*)

Bruna Bresolin Roldan¹; Wiliam Pagel Borges¹; Eliseu Rodrigues²; Vitor Manfroi¹

¹Laboratório de Tecnologia de Bebidas, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS). Av. Bento Gonçalves 9.500, prédio 43212, Campus do Vale, Agronomia, CEP: 91501-970, Porto Alegre/RS, Brazil.

²Laboratório de Antioxidantes Naturais, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS). Av. Bento Gonçalves 9.500, prédio 43212, Campus do Vale, Agronomia, CEP: 91501-970, Porto Alegre/RS, Brazil.

Artigo para ser submetido à revista Food Chemistry.

ABSTRACT

The Rio Grande do Sul is the leading producer of grape juice from Brazil. Large companies use the enzymatic method or sulfite to extract the grape juice, while small producers extract the juice mainly using the method of drag steam (MAV). Some critical to the MAV report has two negatives when compared to the enzymatic method: (1) occurs incorporation of exogenous water to the juice, and (2nd) occurs the degradation of some phenolic compounds. There is different equipment and consequently different operating conditions applied for extracting juice by steam distillation, namely: (a) extraction by steam generation from the heating vessel, (b) a furnace, (c) a burner diesel high blood pressure, (d) burner for the high pressure diesel further vapor extraction (e) a pressurized boiler. Whereas there is no precise information in the literature to confirm or not the two negatives of the MAV, this study evaluated the basic and phenolic chemical composition (HPLC-DAD-MS) of grape juice (*Vitis labrusca* var. Bordô) obtained from five variations of the MAV. The results indicate that total solids is the incorporation of about 0-23% of exogenous water to the juices obtained in variations of the method of steam distillation. At variance with steam extractor and furnace is the lowest and the highest incorporation of exogenous water, respectively. The qualitative composition of the phenolic compounds of grape juice obtained by the method of steam distillation was equal to juice produced by enzymatic method, where the compounds caftaric acid, p-cumaril hexose-1 and p-cumaril-hexose 2 the majority. The contents of total phenolics (185,6-368,8mg / L) of juices produced by the method of drag steam were equal or superior to juice content produced by the enzymatic system. In contrast, the juices produced by the carrier to the steam system there was a decrease (27-71%) of the total anthocyanin content. These results indicate that the different variations of the method of drag steam have different effects on the composition of the grape juice, and the most suitable for juice production with

the lowest exogenous water content is the method with steam extractor and the method with less degradation of anthocyanins is that with use of the boiler.

Keywords: grape, alternative method, phenolic composition

1 INTRODUCTION

Grape juice consumption has increased in the last five years because this drink is pleasing to the palate of most consumers and contains the primary grape components, including sugars, minerals, organic acids, vitamins and phenols. Phenols are the primary components responsible for the antioxidant properties of grape juice and are associated with a decreased risk of developing several chronic degenerative diseases (Manach *et al.*, 2005; Medina-Rejon *et al.*, 2013).

Grape juice may be prepared from wine (*Vitis vinifera*) or American (*Vitis labrusca*) grapes. American grapes are the most used in Brazil because wine grape juice lacks freshness and has a “fermented” taste whereas American grape juice has good colour and aroma and an optimal sugar/acidity balance. The American grape varieties most often used in Brazil for juicing are Isabel, Concord, Niagara and Bordo (Rizzon, 2007).

There are various grape juice extraction methods, which are used depending on the technology available in the industry and the processing volume. The Flanzy method, using juice extraction by sulphitation, and the enzymatic method, using juice extraction by heating and enzyme addition, are the most commonly used extraction methods (Venturini Filho, 2010). Steam distillation is an alternative to those extraction methods and is used by the smallholders of Rio Grande do Sul (Brazil).

Steam distillation is a low-cost method of extraction developed in Rio Grande do Sul (Brazil) that is easily implemented and operated. However, the method has had two drawbacks: first, the incorporation of exogenous water into the grape juice and, second, the degradation of some phenols. Such issues decharacterize the grape juice, according to critics. Adaptations were introduced in the extraction equipment, such as extraction with steam generation by (a) heating vessel, (b) furnace, (c) high-pressure diesel burner, (d) high-pressure diesel burner with subsequent steam distillation and (e) pressurised boiler, to overcome both drawbacks. The enzymatic extraction method is considered the method of reference.

The literature contains no accurate information confirming either drawback of the method. Thus, the basic and phenolic compositions of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) juice prepared using the five variations of the steam distillation method were assessed (by High-Performance Liquid Chromatography - Diode-Array Detection - Mass Spectrometry [HPLC-DAD-MS]) in the present study.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Reagents and Standards

Gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, 5-caffeoylquinic acid, catechin, epicatechin, rutin, quercetin, kaempferol, quercetin-3-glucoside and cyanidin standards were purchased from Sigma-Aldrich (United States) and Extrasynthese (France). The solvents methanol (HPLC grade) and acetonitrile (HPLC grade) were purchased from J.T. Baker (United States). All other reagents used were of analytical grade.

2.2 Grape Juice Samples

Grape juice samples were provided by farmers from the Aecia Cooperative (Cooperativa Aecia), located in the municipality of Antônio Prado in the Gaucho Highlands (Serra Gaúcha) of Rio Grande do Sul (Brazil), which is a traditional grape-growing region. Grape juice samples of the American variety Bordo (*Vitis labrusca*) from the 2013 harvest were collected. The grapes were grown in an organic system, and the grapes used for juicing were harvested in the same vineyard (Latitude: 28° 49'49" South, Longitude: 51° 16'16" West).

All five manufacturers used a variation of the steam distillation method of extraction, as shown in **Table 1**. Manufacturer 5 used both systems, extraction by steam distillation and enzymatic extraction.

Table 1. List of manufacturers and variations of the steam extraction methods used for the production of grape juice

Manufacturer	Method used	ACRONYM
01	Steam distillation with heating vessel	SD-HV
02	Steam distillation with furnace	SD-FU
03	Steam distillation with diesel burner	SD-DB
04	Steam distillation with steam juicer	SD-SJ
05	Steam distillation with boiler	SD-BO
05	Enzymatic method	EM

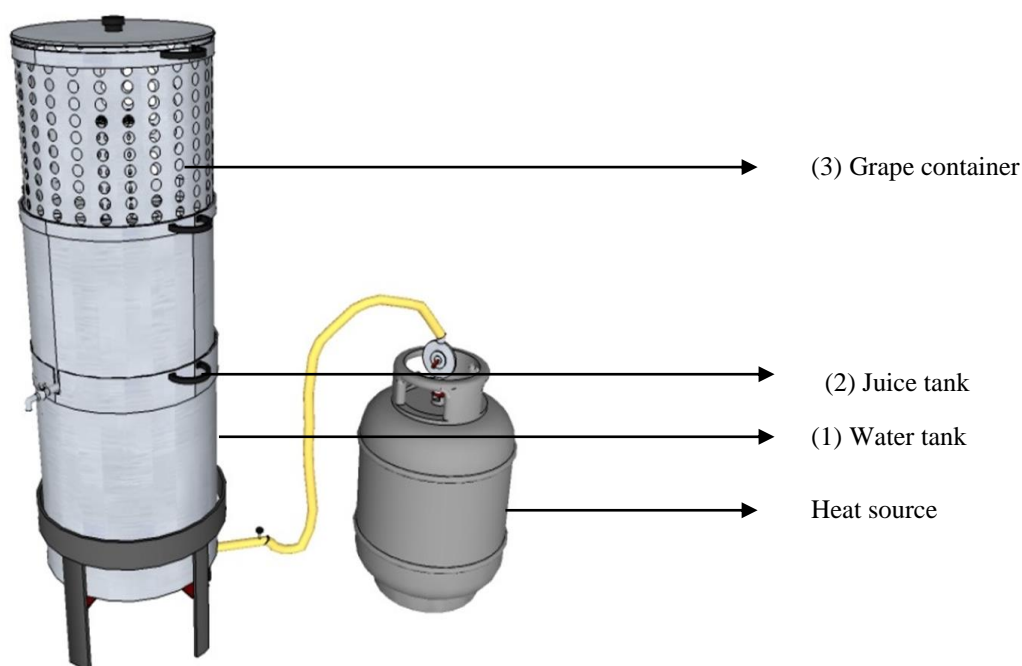
The juice was bottled hot, in 1-l glass bottles, and each manufacturer provided samples in triplicate.

2.3 Methods of Extraction

Juice extraction by steam distillation was performed using a device comprising three containers (Figure 1): (1) the first container is filled with water and remains in contact with

the heat source; (2) an intermediate container with a tap, to be used as a deposit for the extracted juice, is placed above the first container, (3) and the third container is a perforated container in which the de-stemmed grapes are placed and covered with a lid. As the water is heated, steam forms and comes into contact with the grapes through a perforated conical disperser, extracting the juice, which is prepared at a temperature of approximately 85°C and then bottled hot in glass bottles. The average capacity of the equipment is 20 kg of grapes (Rizzon, Manfroi and Meneguzzo, 1998; Venturini Filho, 2010). The trays may be arranged in series so that the juice tanks are connected and conducted to a buffer tank, which is kept warm. The size of the trays ranges from 10 to 200 kg, and this method of extraction has a yield ranging from 50% to 60% (Rizzon, Manfroi and Meneguzzo, 1998; Venturini Filho, 2010).

Figure 1. Shows the basic device used to prepare grape juice using the steam distillation method.



This study assessed 4 variations of heat sources: extraction with steam generation by (1) heating vessel, (2) furnace, (3) high-pressure diesel burner, (4) high-pressure diesel burner

with subsequent steam distillation and (5) pressurised boiler. Enzymatic extraction was considered the method of reference.

The method of steam distillation using a furnace comprised a stainless steel tank on top of a furnace with a wood fire door on one side and a chimney on the other. The stainless steel tank maintains the water level through the buoy. The set of extraction trays is on top of the tank. The steam-generating tank is heated by burning wood in the furnace; the burning rate and fire intensity depend on the quality of the firewood and the amount of fire, and the regularity of the generated steam depends on controlling the fire in the furnace. The initial heating time and juice extraction depend on the regularity of steam generation. Controlling the steam temperature variation is quite difficult, rendering the process uneven, and refilling with a new batch of grapes causes a considerable decrease in system temperature (Roldan, 2016).

In the system using a heating vessel, the steam-generating tank is heated by burning firewood in the heating vessel, which has an internal coil. The device generates free (unpressurised) steam that circulates through the internal coil of the steam-generating tank, heating the water in the extraction tank. The device condenses the excess steam in the system, increasing the steam released in the extraction system and facilitating condensation in the juice and therefore the incorporation of steam water. The water re-supply of the heating vessel is intermittent, promoting periods of temperature and steam generation drop. Condensation occurs in the extraction system at each resupply, given the need for constant steam circulation, forming water that is incorporated into the next batch (Roldan, 2016).

In the boiler system, the steam-generating tank is heated by burning firewood in a pressurised boiler. The device generates pressurised steam, which circulates because of the internal coil of the steam-generating tank and heats the water of the extraction tank. The pressurisation of the vapour defines the quality of the juice extraction and condensation, or

extraction heat loss occurs when the vapour pressure or its consumption is greater than the system requires. The use of a boiler permits control of the extraction temperature, and steam circulation through the system may be blocked during system resupply, thereby avoiding condensation, although the initial heating rate may promote thermal shock and consequent condensation in the system (Roldan, 2016).

The diesel burner has a stainless steel tank with internal heat dispersion pipes. The steam-generating tank is heated by high-pressure diesel burning in specific equipment. The heat generated by this burning forcibly circulates through the heat dispersion pipes located within the steam-generating tank. This device heats the water and generates unpressurised steam that circulates within the extraction trays, thereby promoting reduced condensation, albeit with the opposite effect if inadequately controlled. The extraction temperature is easily controlled, and the steam circulation through the system during refuelling may be blocked in this system. If the water temperature is not properly set for each device according to the initial water temperature (supply water), the initial heating rate may promote thermal shock, leading to condensation in the system and under- or overestimation of steam generation, enhancing condensation. Its initial installation cost is higher than the costs of other systems (Roldan, 2016).

The steam juicer tank comprises a pyramidal juice container with a coil to maintain a low heat, air inlet, and high-performance vacuum pump, installed before the buffer tank. This pump generates a negative internal pressure, which promotes the evaporation of “light” water (incorporated water – exogenous) at low temperatures (from 65° to 75°C). The entry of air in small amounts favours the suction of steam generated in the system, which is removed by the pump. The extraction of 100% of the eventually incorporated water may be achieved by adjusting the entry of air to the extraction capacity of the vacuum pump and adjusting the

negative pressure and juice temperature in the steam juicer tank. Extraction may occur at lower temperatures for shorter periods of time, enhancing aroma and preserving colour. This system has high implementation costs and may not be economically feasible for most small industries (Roldan, 2016).

All methods have a buffer tank to store the prepared juice, which remains heated to 85°C.

Such variations in heat source provide differences in the steam (pressurised or not) supplied to the extraction systems and the ability to pause steam generation, which causes decreased or increased incorporation of exogenous water into the obtained juice.

Table 2 outlines the initial and final extraction temperatures reached, steam pressure, extraction starting time and total extraction time.

Table 2. Operating parameters of the different variations in the method of extraction by steam distillation.

Extraction method	Time (min)	Steam temperature (°C)	Steam pressure (kgf/cm²)	Extraction starting time (min)	Total extraction time (min)
Furnace	10	127	1.49		47.3
	40	97	1.49	6	
Heating vessel	10	108	1.449		47.3
	40	108	1.491	18.5	
Boiler	10	105	1.499		59.45
	40	119.3	1.502	2.5	
Diesel burner	10	100	1.429		31.3
	40	100	1.471	2.5	
Steam juicer	10	100	1.431		34.4
	40	100	1.471	2.3	

Data were collected after 10 and 40 minutes of extraction, measuring the temperature and pressure. Furthermore, the extraction starting time (the time elapsed from heating start to the first drop of juice dripping into the tap) and the total extraction time (the time between the first and the last drop of extracted juice) were also assessed.

2.4 Chemical Composition

2.4.1 Basic Analysis

The analysis of total solids (TS), protein, ash and °Brix was conducted according to the protocols of Normative Instruction (Instrução Normativa) No. 24 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, BRASIL, 2005). The protein content was assessed according to the method from the Adolfo Lutz Institute (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

The parameter juice TS was used to assess the incorporation of steam water into the juice using **Equation 1**.

$$\text{Incorporation of exogenous water (\%)} = \left(\frac{TS_{EM} - TS_{SD}}{TS_{SD}} \right) \times 100 \text{ (Equation 1)}$$

wherein,

TS_{EM} = total solids of the juice produced using the enzymatic method

TS_{SD} = total solids of the juice produced using the steam distillation (SD) method

All analyses were performed in triplicate.

2.5 Phenols

The composition of phenols (anthocyanin and non-anthocyanin compounds) was determined using the Shimadzu HPLC system (Kyoto, Japan) connected in series to a Bruker

Daltonics (microTOF-Q II, Bremen, Germany) mass spectrometer (MS), using electron spray ionisation (ESI). Phenols were separated into an Atlantis T3 column (5 μm , 250 x 4.6 mm; Waters, Ireland) at 0.7 mL/min at 29°C, with the mobile phase comprising water (formic acid [99.5:0.5, v/v; solvent A]) and acetonitrile (formic acid [99.5:0.5, v/v; solvent B]) in a linear gradient (Rodrigues et al., 2013). Spectra were recorded from 200 to 600 nm and chromatograms processed at 280, 320, 360 and 520 nm. The eluate from the column was split to allow a flow rate of 0.35 mL/min in the ESI source. Mass spectra were recorded in the range of 100 to 800 m/z in the following condition: ESI source in positive (anthocyanins) and negative (other phenols) ionisation modes; capillary voltage, -2500 V; end plate offset, -500 V; dry gas (N_2); temperature, 310°C; flow rate, 8 L/min; and nebuliser pressure, 30 psi. MS^2 spectra were recorded in automatic mode applying 35eV fragmentation energy.

The phenols were identified based on the following data: elution order and peak retention time in the reverse phase column compared with that of standards, UV-visible and mass spectra compared with that of standards analysed under identical conditions and data from the literature.

The quantification of phenols was conducted using a 7-point calibration curve. The method has been validated, and some validation parameters are outlined in **Table 3**.

Table 3. Validation parameters for the method of determination of phenols by HPLC-DAD.

Standard	Concentration range (mg/L)	Coefficient of determination (R^2)	Limit of detection (mg/L)	Limit of quantification (mg/L)
Gallic acid	0.5 - 48	0.999	2.3	6.9
Caffeic acid	0.25 - 26	0.999	0.4	1.3

p-coumaric acid	0.25 - 23	0.999	1.0	3.0
Quercetin	0.88 - 57	0.997	4.4	13
Cyanidin	0.10 - 10	0.999	0.4	1.1

Prior to injection, the juice samples were filtered with a 0.22 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) filter and injected into the HPLC-DAD-MS system without prior dilution.

2.6 Statistical Analysis

Statistical data analysis was conducted using analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey's Test ($p < 0.05$), using the Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS) software (US), version 20.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Basic Chemical Composition

Juices produced using the steam distillation method generally have lower values of total solids, °Brix and reducing sugars than juices produced using the **EM** (**Table 4**). This may be explained by the incorporation of exogenous water, which ranged from 0% to 23% in the different methods of juice extraction by steam distillation. Incorporation of exogenous water occurs through condensation of the steam added to the system during heating. Such steam enters through the conical core of the containers and condenses when the steam comes into contact with the cold walls of the container.

No incorporation of exogenous water was observed in the **HV** and **SJ** methods, which may be related to the operating conditions of both methods. The method using the steam

juicer eventually incorporates that exogenous water into the juice and is then removed upon heating and vacuum. Conversely, the use of a heating vessel allows greater steam generation control than methods such as the furnace method.

Our results are similar to previously reported results with identical variations of SD, which showed incorporation of exogenous water ranging from 8% to 19% (Marcon, 2013). However, we observed no incorporation of exogenous water in the grape juices prepared using SD in our study, unlike the findings reported in the study by Marcon et al. (2013).

Table 4. Basic chemical composition of grape juices prepared using different methods of extraction by steam distillation.

Parameter	Extraction method					
	Enzymatic method (EM)	Heating vessel (HV)	Furnace (FU)	Diesel burner (DB)	Boiler (BO)	Steam juicer (SJ)
°Brix	20±0.00a	17.93 ±0.05b	14.33±0.58e	15.96±0.05d	17±0.00c	16.96±0.11c
Reducing sugars (% reducing glycosides in glucose)	20.19±0.16a	18.71±0.00b	14.43±0.12d	15.06±0.11c	14.88±0.38cd	14.81±0.32cd
Total solids (TS) (g/100 g)	18.19±0.04a	18.62±0.06a	14.83±0.84d	16.45±0.93bc	15.89±0.13cd	17.35±0.09ab
Ash (g/100 g)	0.04±0.01a	0.05±0.01a	0.04±0.01a	0.05±0.00a	0.04±0.01a	0.06±0.00a
Protein (g/100 g)	0.34±0.01a	0.26±0.00c	0.25±0.00cd	0.23±0.00d	0.28±0.00b	0.24±0.00cd
Incorporation of exogenous water (%)	n.a.	0	23	11	14	0

Means followed by the same letters, in rows, show no significant difference according to the Tukey's Test at 5% probability.

However, the °Brix values of juices prepared using variations of SD were generally lower than the values of juices produced using the enzymatic method. All juices tested had values higher than the minimum required by Brazilian law (14 °Brix) (Brasil, 2000).

3.2 Phenols

Bordo grape juice has a complex phenolic profile. More than 20 phenols were separated, including 14 that were identified (**Table 5**). We only discuss aspects relevant to the

present study because the identification of phenols by HPLC-DAD-MS has been extensively discussed in previously published studies (Soleas *et al.*, 1997; Yilmaz and Toledo, 2004; Malacrida and Motta, 2005; Aguil Santana *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2012; Natividade *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2014). A complete table with the chromatographic characteristics and UV-visible and mass (MS and MS²) spectra of the compounds identified in Bordo grape juice is shown in the supplementary material of the present study (**Tables S1 to S6 –Supplementary Material**).

The qualitative composition of phenols was not affected by the grape juice extraction method (**Table 5**); that is, the grape juices produced using different variations of SD have identical phenols to juice produced using SE. Caftaric acid was identified as the primary phenolic compound, accounting for 40% to 50% of phenols present in the juice (**Table 5**).

The quantitative composition of phenols varied between juices produced using SD and juices produced by EM. The total concentration of phenols in grape juices prepared using SD was higher than or similar to the concentration identified in grape juice produced by EM. The grape juice prepared using the steam juicer system is significant because that juice had a concentration of phenols approximately 62% higher than the concentration obtained by EM.

A total of 4 anthocyanins were identified in Bordo grape juice, predominantly peonidin-3-([p-coumaryl]-glucoside)-5-glucoside and petunidin-3-([p-coumaryl]-glucoside)-5-glucoside. Grape juices produced by SD generally have lower total concentrations of anthocyanins (27%-71%) than juices produced using the enzymatic method. This result may be related to the degradation of these thermolabile phenols during extraction by steam distillation. The use of extraction by steam distillation subjects the juice to temperatures higher than 80°C, which may cause degradation of anthocyanins (Lima *et al.*, 2014). Conversely, temperatures higher than 60°C are not used in the enzymatic extraction method.

Myricetin-3-glucoside and quercetin-3-glucoside were the non-anthocyanin flavonoids identified at the highest concentration in the Bordo grape juice samples. No difference in the concentration of both flavonoids was observed in juices produced using the steam distillation and enzymatic methods. This result may be explained by the higher thermostability of both flavonoids compared with the thermostability of anthocyanins (Mohd Zainol, Abdul-Hamid A. and Pak Dek, 2009).

In summary, different variations of SD of grape juice have different effects on the incorporation of exogenous water and phenolic composition. No incorporation of exogenous water occurs in the HV and SJ systems. No reduction of total phenolic content occurs in juices produced by SD although reduction of total content of anthocyanins occurred.

Table 5. Phenolic composition of grape juices prepared using the enzymatic and steam distillation methods.

Compound	Extraction method					
	Enzymatic method	Heating vessel	Furnace	Diesel burner	Boiler	Steam juicer
Unidentified ¹	3.26±0.36 ^a	2.50 ±0.50a	3.18±0.49a	5.76±0.47a	5.2±0.7a	8.23±0.63a
Gallic acid ¹	4.03±0.40bc	5.67±0.22ab	5.86±0.36ab	3.41±0.63c	7.22±1.26a	4.55±0.67bc
Gallic acid derivative ¹	10.76±3.32b	23.90±3.01ab	3.93±0.03b	51.74±4.70a	11.88±0.90b	34.58±1.91ab
Dimethyl-dihydromyricetin ²	4.40±0.06 ^a	5.19±0.90a	5.60±0.26a	4.66±0.60a	5.00±0.60a	4.83±0.09a
Petunidin-3-glucoside ³	5.61±0.22 ^a	1.00±0.21b	5.19±1.02a	2.82±0.34b	6.60±1.24a	1.09±0.01b
Caftaric acid⁴	107.37±1.22c	116.97±3.96b	98.46±2.24d	110.79±0.63c	117.85±1.32b	124.53±1.71a
p-coumaryl-hexose 1 ⁵	33.19±0.74 ^a	25.79±2.08b	19.90±0.68c	14.51±0.59d	31.93±0.61a	20.06±0.10c
p- coumaryl -hexose 2 ⁵	19.42±2.32 ^a	20.34±0.89a	14.06±0.75a	26.52±0.44a	79.79±1.88a	26.64±1.10a
p- coumaryl -hexose 3 ⁵	8.01±0.51cd	7.07±2.97cd	6.40±0.89d	12.13±0.42bc	13.71±3.55ab	18.26±0.92a
Caffeic acid ⁴	2.11±0.41b	4.03±0.86a	<LOQ	0.46±0.11ac	2.84±0.28ab	4.08±0.67a
Delphinidin-3-([p- coumaryl]-glucoside)-5-glucoside ³	2.15±0.22 ^a	0.43±0.12c	<LOQ	0.96±0.14bc	1.73±0.35ab	0.68±0.19c
Myricetin-O-glucoside	5.28±0.02 ^a	5.80±1.66a	5.23±0.13a	4.89±0.05a	6.76±2.48a	5.53±0.62a
Petunidin-3-([p- coumaryl]-glucoside)-5-glucoside ³	5.61±0.22 ^a	1.00±0.21c	5.19±1.02ab	2.82±0.34bc	6.60±1.24a	1.09±0.01ab
Peonidin-3-([p- coumaryl]-glucoside)-5-glucoside ³	13.91±0.36 ^a	5.60±1.39e	9.47±1.44cd	7.16±1.06de	12.70±1.3ab	10.55±0.42bc
Quercetin-3-glucoside ²	3.48±0.29 ^a	3.20±0.43a	3.14±0.17a	3.75±0.05a	3.61±0.57a	3.91±0.13a
Total phenolics (mg L⁻¹)	228.6±10.7	228.5±19.41	185.6±9.5	252.4±10.6	313.4±18.28	368.6±9.2
Total anthocyanins (mg L⁻¹)	27.28±1.02	8.03±1.93	19.85±3.48	13.76±1.88	27.63±4.13	13.41±0.63

Values expressed as mg/L.

Means followed by the same letters, in the same row, show no significant difference, according to the Tukey's Test at 5% probability. LOQ-limit of quantification.

¹Expressed as gallic acid equivalents. ²Expressed as quercetin equivalents. ³Expressed as cyanidin equivalents. ⁴Expressed as caffeic acid equivalents. ⁵Expressed as p-coumaric acid equivalents

4 CONCLUSION

No incorporation of exogenous water was observed in the **HV** and **SJ** methods, which may be related to the operating conditions of both methods, whereas the **FU** method showed increased incorporation of water resulting from the instability of the system, which has no heat generation control devices.

Juices prepared using the steam distillation method generally have total phenolic levels equal to or higher than the levels of juices prepared using the enzymatic method. The effect on the phenolic composition is apparently directly related to the thermal stability of such bioactive compounds. The content of anthocyanins, which are thermolabile, is reduced during extraction by steam distillation, except in the boiler method. The content of (non-anthocyanin) flavonoids, which are less thermolabile, was not reduced by the steam distillation method.

Acknowledgements

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq) and the Rio Grande do Sul Research Foundation (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - FAPERGS).

REFERENCES

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 01, de 07 de janeiro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta conforme consta do Anexo I desta Instrução Normativa. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 22 jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 24, de 08 de setembro de 2005**. Aprovar o Manual Operacional de Bebidas e Vinagre, onde constam o Modelo de Manual da Qualidade, o Protocolo de Validação de Métodos Físico-Químicos, o Protocolo de Cálculo da Incerteza Associada às Medições e os Métodos de Análise de Bebidas Fermentadas, Destiladas, Não Alcoólicas e de Vinagre, que passam a constituir padrões oficiais para análise físico-química de bebidas e vinagre Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 04 ago. 2014.

AGUIL SANTANA, M. T. et al. Characterization of different trading marks of grape juice in two regions of Brazil. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 882-886, May-Jun 2008. ISSN 1413-7054. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000258368800027 >.

BRESOLIN, B.; GULARTE, M. A.; MANFROI, V. **Água exógena em suco de uva obtido pelo método de arraste a vapor**. Ponta Grossa, Paraná. 07: 922-933 p. 2013.

BURIN, V. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, n. 0, p. 155-163, 5// 2014. ISSN 0026-265X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X13002749>>.

CASTANEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, Apr 15 2009. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000261857100001 >.

LIMA, M. D. S. et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, n. 0, p. 94-103, 10/15/ 2014. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614005123> >.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. **Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva**: Ciência e Tecnologia de Alimentos. 25: 659-664 p. 2005.

MANACH, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 230S-242S, Jan 2005. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000226401200004 >.

MARCON, A. R. **Avaliação da incorporação de água exógena em suco de uva elaborado por diferentes processos**. Dissertação de mestrado. Caxias do Sul: 63 p. 2013.

MEDINA-REMON, A. et al. The Effect of Polyphenol Consumption on Blood Pressure. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 1137-1149, Jun 2013. ISSN 1389-5575. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000318973800002 >.

MULERO, J.; PARDO, F.; ZAFRILLA, P. **Antioxidant Activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wine**: Journal of Food Composition and Analysis. 23: 569-574 p. 2010.

NATIVIDADE, M. M. P. et al. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**, v. 110, n. 0, p. 665-674, 9// 2013. ISSN 0026-265X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X13001513> >.

RIZZON, L. A. **Suco de Uva**. MENEGUZZO, J. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: 45 p. 2007.

RIZZON, L. A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves: 24 p. 1998.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciencia E Tecnologia De Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 93-97, Jan-Mar 2012. ISSN 0101-2061. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304352700014 >.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and Phenolic Compounds from *Solanum sessiliflorum*, an Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 12, p. 3022-3029, Mar 27 2013. ISSN 0021-8561; 1520-5118. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000317031800016 >.

ROLDAN, B. B. Influência do método de extração sobre a composição química de suco de uva bordô (*Vitis labrusca*). Dissertação de mestrado. Porto Alegre. 59 p.

SOLEAS, G. J. et al. Identifying the major phenolic antioxidants of wine. **Atherosclerosis**, v. 134, n. 1-2, p. 207-207, Oct 1997. ISSN 0021-9150. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1997XY10600949 >.

TENORE, G. C. et al. Antioxidant Profile and in Vitro Cardiac Radical-Scavenging versus Pro-oxidant Effects of Commercial Red Grape Juices (*Vitis vinifera* L. cv. Aglianico N.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 38, p. 9680-9687, Sep 26 2012. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000309099600019 >.

UVIBRA. União Brasileira de Vitivinicultura. Comercialização de vinhos e derivados. Disponível em:< http://www.uvibra.com.br/dados_estatisticos.htm>. Acesso em: 06 mai 2016.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Não Alcoólicas Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher. 2: 385 p. 2010.

XU, Y. et al. Quantification of anthocyanidins in the grapes and grape juice products with acid assisted hydrolysis using LC/MS. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 710-717, Oct 2012. ISSN 1756-4646. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000309569000002 >.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 255-260, Jan 28 2004. ISSN 0021-8561. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000188366300018 >.

DISCUSSÃO GERAL

A incorporação de água no método de extração de suco com uso de arraste a vapor proporciona a incorporação de água ao suco, que conseqüentemente não deve ser enquadrado na categoria de suco integral, que proíbe a adição ou retirada de componentes do suco, de acordo com a legislação brasileira (Bresolin, Gularte e Manfroi, 2013). No entanto, neste estudo foi possível verificar que a incorporação de água, apesar de provocar a diluição do suco, não reduz os teores de açúcares e °Brix a valores abaixo do mínimo permitido pela legislação (Brasil, 2014). Todos os compostos fenólicos identificados no suco de uva obtido pelo método enzimático foram também identificados nos sucos obtidos pelos métodos de extração por arraste à vapor. Porém, as antocianinas apresentaram quantidades inferiores, provavelmente devido a utilização de temperaturas altas na extração, que proporcionam a degradação. Os demais compostos fenólicos foram encontrados em quantidades similares, sem apresentar diferença significativa, ou apresentando valores superiores ao método enzimático. Entre as antocianinas encontradas, a peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo 3 foi o composto majoritário, seguido da petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo. Miricetina foi o flavonol encontrado em maior quantidade nas amostras estudadas, resultado similar ao encontrado para a variedade BRS Violeta (Natividade et al., 2013). Quercetina foi quantificada em todos os métodos de extração estudados, ao contrário do verificado em estudo realizado por Natividade et al. (2013) onde não foram quantificados valores de quercetina nas amostras ou foram encontrados baixos valores.

Os ácidos fenólicos encontrados foram o ácido gálico, ácido caftárico, ácido p-cumárico e ácido cafeico, sendo que o ácido caftárico foi o ácido encontrado em maior quantidade. Em sucos de uva tintos de *Vitis vinífera* o ácido fenólico encontrado em maior concentração é o ácido gálico, que é também encontrado nas sementes de uva e possui atividades antifúngica e antioxidante (Yilmaz, 2004).

A legislação brasileira para bebidas precisa adequar-se as tecnologias de produção utilizadas, que originam produtos de qualidade que não se enquadram nos padrões existentes. O método de extração por arraste a vapor deve ser valorizado por ter se originado no Estado do Rio Grande do Sul, não ser patenteado e devido ao seu fácil manuseio e baixo custo de obtenção e operação possibilitou que vários pequenos produtores

e pequenas cooperativas da agricultura familiar processassem sua matéria-prima, agregando valor a produção primária.

O suco de uva obtido através deste método precisa ser diferenciado das categorias existentes de suco integral e néctar, pois é um produto diferenciado e que representa também a produção artesanal de alimentos, produzido em pequena escala, com mão-de-obra familiar e matéria-prima da propriedade rural.

CONCLUSÃO GERAL

Neste estudo foi possível verificar que o método de arraste à vapor influencia a composição química do suco de uva Bordô através de dois processos: (1) diluição devido a incorporação de água exógena ao suco de uva e (2) degradação dos compostos fenólicos termolábeis (antocianinas) devido as elevadas temperaturas que ocorrem em algumas variações do método de arraste à vapor, com exceção do sistema que utiliza vaso de aquecimento como fonte de calor. Apesar disso, os seus valores de °Brix são superiores ao mínimo exigido pela legislação brasileira e o suco de uva obtido ainda é um produto com boa concentração de compostos fenólicos.

Quanto aos teores de compostos fenólicos totais, verificou-se que são iguais ou superiores ao suco produzido pelo sistema enzimático. As antocianinas que são termolábeis tem o seu teor reduzido durante a extração por arraste à vapor, sendo uma exceção o método de caldeira. Os flavonoides (não antociânicos) que são menos termolábeis não tiveram o seu teor reduzido pelo método de arraste à vapor, isso demonstra que a influência sobre a composição de compostos fenólicos parece estar diretamente relacionada à estabilidade térmica destes compostos bioativos. Em geral, o processo de arraste à vapor diminuiu 39% a concentração de antocianinas, provavelmente devido a temperatura elevada de extração. Os resultados deste trabalho indicam que o suco de uva obtido pelo método de arraste à vapor possui uma composição química similar ao suco obtido pelo método enzimático (padrão ou referência), com exceção das antocianinas.

Hoje, devido a indefinição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sobre o registro deste produto como suco de uva integral, os agricultores que pretendem iniciar a atividade de processamento de suco estão optando pelo método enzimático. Aos que optam pelo método de arraste a vapor a recomendação seria utilizar uma fonte de calor

que permita o controle de temperatura e pressão, como uso de vaso de aquecimento e caldeira, que neste trabalho apresentaram os melhores resultados em relação ao teor de compostos fenólicos. Porém, estas fontes de calor também apresentam os maiores valores de investimento, o que limita muitas vezes a escolha do agricultor.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto n° 99.066, de 08 de março de 1990**. Regulamenta a Lei n° 7.678, de 08 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados do vinho e da uva. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2794>>. Acesso em: 22 jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 01, de 07 de janeiro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta conforme consta do Anexo I desta Instrução Normativa. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 22 jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 24, de 08 de setembro de 2005**. Aprovar o Manual Operacional de Bebidas e Vinagre, onde constam o Modelo de Manual da Qualidade, o Protocolo de Validação de Métodos Físico-Químicos, o Protocolo de Cálculo da Incerteza Associada às Medições e os Métodos de Análise de Bebidas Fermentadas, Destiladas, Não Alcoólicas e de Vinagre, que passam a constituir padrões oficiais para análise físico-química de bebidas e vinagre Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 04 ago. 2014.

BRESOLIN, B.; GULARTE, M. A.; MANFROI, V. **Água exógena em suco de uva obtido pelo método de arraste a vapor**. Ponta Grossa, Paraná. 07: 922-933 p. 2013.

BURIN, V. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, n. 0, p. 155-163, 5// 2014. ISSN 0026-265X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X13002749>>.

FRAGOPOULOU, E. et al. **Structure elucidation of phenolic compounds from red/white wine with antiatherogenic properties**. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*, v. 1632, n. 1-2, p. 90-99, Jun 10 2003.

FREEDMAN, J. E. et al. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. **Circulation**, v. 103, n. 23, p. 2792-2798, Jun 12 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000169353600017 >.

KRIKORIAN, R. et al. Concord Grape Juice Supplementation and Neurocognitive Function in Human Aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5736-5742, Jun 13 2012. ISSN 0021-8561. Disponível em:<Go to ISI>://WOS:000305107600007 >.

MANACH, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 230S-242S, Jan 2005. ISSN 0002-9165. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000226401200004 >.

MARCON, A. R. **Avaliação da incorporação de água exógena em suco de uva elaborado por diferentes processos**. Dissertação de mestrado. Caxias do Sul. 2013.

MAZZUCA, P. et al. Mass spectrometry in the study of anthocyanins and their derivatives: differentiation of *Vitis vinifera* and hybrid grapes by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, n. 1, p. 83-90, Jan 2005. ISSN 1076-5174.

MEDINA-REMON, A. et al. The Effect of Polyphenol Consumption on Blood Pressure. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 1137-1149, Jun 2013. ISSN 1389-5575. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000318973800002 >.

MIELE, A.; RIZZON, L. A.; ZANOTTO, D. L. Discrimination of 'Isabella', 'Concord', 'Ives' and 'White Niagara' Grape Juices by Their Free Amino Acid Composition. **Viii International Symposium on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics**, v. 872, 2010 2010. ISSN 0567-7572. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000323816000059 >.

MUDNIC, I. et al. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1205-1210, Apr 1 2010. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000272436200053 >.

NATIVIDADE, M. M. P. et al. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**, v. 110, n. 0, p. 665-674, 9// 2013. ISSN 0026-265X. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X13001513 >.

RIZZON, L. A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves: 24 p. 1998.

RIZZON, L. A. **Suco de Uva**. MENEGUZZO, J. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: 45 p. 2007.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciencia E Tecnologia De Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 93-97, Jan-Mar 2012. ISSN 0101-2061. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304352700014 >.

USDA. Agricultural Research Service United States Department of Agriculture. **National Nutrient Database for Standard Reference**. Disponível em: < <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2320?fg=&man=&lfacet=&count=&max=25&sort=&qlookup=GRAPE+JUICE&offset=&format=Full&new=&measureby=> >. Acesso em 23 jul. 2014.

UVIBRA.União Brasileira de Vitivinicultura. Dados estatísticos-Comercialização de vinho e derivados. Disponível em:< <http://www.uvibra.com.br/>>. Acesso em: jan. 2016.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Não Alcoólicas Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher. 2: 385 p. 2010.

XIA, E.-Q. et al. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 2, p. 622-646, Feb 2010. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000274973500013 >.

Material Suplementar

Tabela S1. Compostos fenólicos, determinados por HPLC-DAD-MS, de sucos de uva obtidos pelo MAV-VA

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ /M ⁺ ^d	MS ²
1	Não identificado 1	10.65	268	n.d	n.d
2	Ácido gálico	12.76	270	169	125
3	Ácido gálico hexosídeo	15.02	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromiricetina	16.00	281, 310	671	509, 491, 329, 297
6	Ácido caftárico	20.27	298 (sh), 328	311	179, 135, 149
7	p-cumaril- hexosídeo 1	22.01	298 (sh), 314	325	163, 145, 117
8	p-cumaril- hexosídeo 2	22.96	290 (sh), 310	325	163, 145, 205
9	p-cumaril- hexosídeo 3	24.06	290 (sh), 311	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.48	298, 311	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	25.99	283, 528	773	611, 465, 303
12	Miricetina-O-glicosídeo	27.20	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.57	283, 529	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	29.10	282, 532	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.50	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c

Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Tabela S2. Compostos fenólicos, determinados por HPLC-DAD-MS, de sucos de uva obtidos pelo MAV-EV

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ / M ^{+d}	MS ²
1	Não identificado 1	10.57	328	n.d.	n.d.
2	Ácido gálico	12.86	312	169	125
3	Derivado de ácido gálico	15.33	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromirecitina	15.78	281, 310	671	509, 491, 329, 297
5	Petunidina-3-glicosídeo	19.61	275, 524	449	317
6	Ácido caftárico	20.66	298 (<i>sh</i>), 329	311	179, 135, 149
7	p-cumaril-hexosídeo 1	22.23	298 (<i>sh</i>), 315	325	163, 145, 117
8	p-cumaril-hexosídeo 2	23.16	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
9	p-cumaril-hexosídeo 3	24.25	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.48	298, 311	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo3	25.99	283, 528	773	611, 465, 303
12	Mirecitina-O-glicosídeo	27.00	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.48	281, 529	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	28.99	279, 533	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.84	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Tabela S3. Compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD, de sucos de uva obtidos pelo MAV-FO

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ / M ⁺ ^d	MS ²
1	Não identificado 1	10.61	268	n.d	n.d
2	Ácido gálico	12.76	270	169	125
3	Derivado de ácido gálico	15.04	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromiricetina	16.01	281, 310	671	509, 491, 329, 297
5	Petunidina-3-glicosídeo	19.59	275, 524	449	317
6	Ácido caftárico	20.29	298 (<i>sh</i>), 328	311	179, 135, 149
7	p-cumaril-hexosídeo 1	22.04	298 (<i>sh</i>), 314	325	163, 145, 117
8	p-cumaril-hexosídeo 2	22.99	290 (<i>sh</i>), 310	325	163, 145, 205
9	p-cumaril-hexosídeo 3	24.09	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.48	298, 311	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo ³	26.00	283, 528	773	611, 465, 303
12	Miricetina-O-glicosídeo	26.98	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.57	283, 529	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	29.10	282, 532	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.48	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c

Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Tabela S4. Compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD, de sucos de uva obtidos pelo ME

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ / M^{+d}	MS ²
1	Não identificado 1	10.67	267	n.d	n.d
2	Ácido gálico	12.84	271	169	125
3	Ácido gálico hexosídeo	15.13	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromirecitina	16.09	281, 310	671	509, 491, 329, 297
5	Petunidina-3-glicosídeo	19.74	276, 524	449	317
6	Ácido caftárico	20.33	298 (<i>sh</i>), 328	311	179, 135, 149
7	p-cumaril-hexosídeo 1	22.07	298 (<i>sh</i>), 314	325	163, 145, 117
8	p-cumaril-hexosídeo 2	23.02	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
9	p-cumaril-hexosídeo 3	24.12	290 (<i>sh</i>), 310	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.48	298, 311	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	26.01	282, 528	773	611, 465, 303
12	Mirecitina-O-glicosídeo	26.98	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.62	283, 531	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	29.15	282, 532	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.52	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c

Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Tabela S5. Compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD, de sucos de uva obtidos por MAV-CA

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ / ⁺ M ^{+d}	MS ²
1	Não identificado 1	10.71	268	n.d	n.d
2	Ácido gálico	12.90	271	169	125
3	Derivado de ácido gálico	15.17	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromiricetina	16.09	281, 310	671	509, 491, 329, 297
5	Petunidina-3-glicosídeo	19.58	276, 524	449	317
6	Ácido caftárico	20.51	298 (<i>sh</i>), 328	311	179, 135, 149
7	p-cumaril-hexose 1	22.19	298 (<i>sh</i>), 314	325	163, 145, 117
8	p-cumaril-hexose 2	23.14	290 (<i>sh</i>), 310	325	163, 145, 205
9	p-cumaril-hexose 3	24.26	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.70	298, 310	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	25.92	281, 528	773	611, 465, 303
12	Mirecitina-O-glicosídeo	26.98	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.51	283, 529	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	29.07	282, 532	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.72	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c

Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Tabela S6. Compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD, de sucos de uva obtidos por MAV-QD

Pico ^a	Composto	Tempo de Retenção (min) ^b	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) ^c	[M-H] ⁻ /M ^{+d}	MS ²
1	Não identificado	10.62	268	n.d	n.d
2	Ácido gálico	12.78	271	169	125
3	Derivado de ácido gálico	15.17	282	331	169, 125
4	Dimetildihidromiricetina	16.03	281, 310	671	509, 491, 329, 297
5	Petunidina-3-glicosídeo	19.61	275, 524	449	317
6	Ácido caftárico	20.28	298 (<i>sh</i>), 328	311	179, 135, 149
7	p-cumaril-hexose 1	22.03	298 (<i>sh</i>), 314	325	163, 145, 117
8	p-cumaril-hexose 2	22.96	290 (<i>sh</i>), 310	325	163, 145, 205
9	p-cumaril-hexose 3	24.06	290 (<i>sh</i>), 311	325	163, 145, 205
10	Ácido cafeico	24.48	298, 311	179	135
11	Delfinidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	25.87	283, 528	773	611, 465, 303
12	Miricetina-O-glicosídeo	26.92	348	479	316, 317
13	Petunidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	27.44	283, 529	787	625, 479, 317
14	Peonidina-3-(p-cumaril)-glicosídeo-5-glicosídeo	28.99	282, 532	771	609, 463, 301
15	Quercetina-3-hexosídeo	29.93	290, 309	463	300, 301

^a numbered according to the chromatogram shown in **Figure S1**. ^b Retention time on the C₁₈Synergi Hydro (4 μ m) column. ^c Solvent: gradient of 0.5 % formic acid in water and acetonitrile with 0.5 % formic acid. ^d [M-H]⁻ for phenolic compounds and M⁺ for anthocyanins.

Figura 1. Cromatograma dos compostos fenólicos do suco de uva bordô obtido por HPLC-DAD a 280 nm.

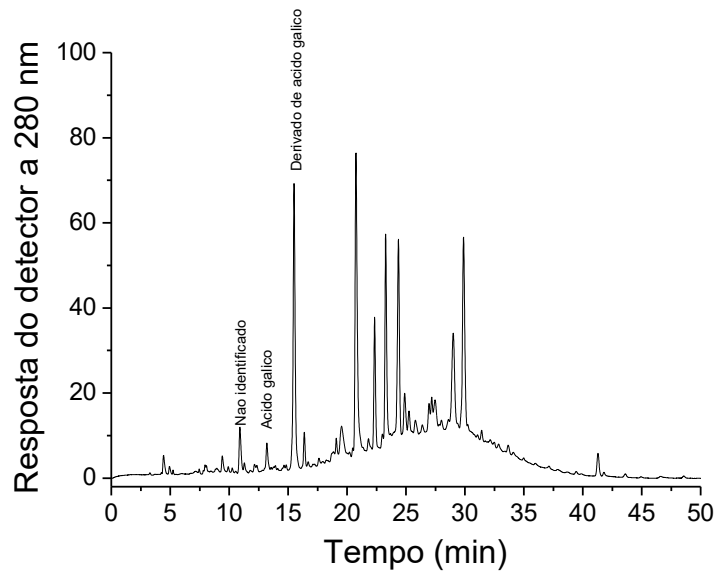


Figura 2. Cromatograma dos compostos fenólicos do suco de uva bordô obtido por HPLC-DAD a 320nm.

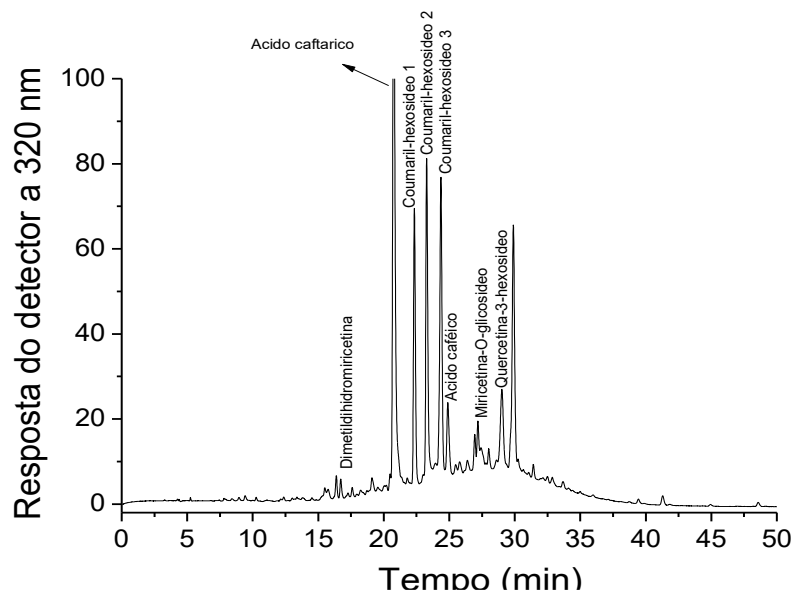


Figura 3. Cromatograma dos compostos fenólicos do suco de uva bordô obtido por HPLC-DAD a 520nm.

