

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Cornélio Artur Luís Mucaca

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO E IN VIVO* DE VINHO TINTO DO VALE
DO SÃO FRANCISCO *E SUA AÇÃO* SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS DE
RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETA OCIDENTALIZADA**

Recife – PE

2018

Cornélio Artur Luís Mucaca

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE VINHO TINTO DO VALE DO SÃO FRANCISCO E SUA AÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETA OCIDENTALIZADA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau Doutorado.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elizabeth do Nascimento, Universidade Federal de Pernambuco.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Leite de Andrade Lima Arruda – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Recife – PE

2018

Catálogo na fonte:
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

M942c Mucaca, Cornélio Artur Luís
Capacidade antioxidante in vitro e in vivo de vinho tinto do Vale do São Francisco e sua ação sobre parâmetros metabólicos de ratos wistar alimentados com dieta ocidentalizada / Cornélio Artur Luís Mucaca. – Recife: o autor, 2017.
102 f.; il.; 30 cm.

Orientadora: Elizabeth do Nascimento.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em nutrição.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Antioxidantes. 2. Polifenóis. 3. Doenças cardiovasculares. I. Nascimento, Elizabeth do (orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2018 - 027)

CORNÉLIO ARTUR LUÍS MUCACA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN-VITRO E IN VIVO DE VINHO TINTO DO VALE
DO SÃO FRANCISCO E SUA AÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS DE
RATOS WISAR ALIMENTADOS COM DIETA OCIDENTALIZADA**

Tese apresentada ao Programa de Pós – graduação
em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do título de
doutor em Nutrição, com área de concentração em
Bases Experimentais da Nutrição.

Tese aprovada em 24/01/2018

Profª Drª Elizabeth do Nascimento

Departamento de Nutrição / UFPE

Profª Drª Karina Correia da Silveira

Departamento de Nutrição / UFPE

Profª Drª Carol Virgínia Góis Leandro

Centro Acadêmico de Vitória / UFPE

Profª Drª Tânia Lúcia Montenegro Stamford

Departamento de Nutrição / UFPE

Profª. Drª. Gisélia de Santana Muniz

Departamento de Nutrição / UFPE

RECIFE

DEDICATÓRIA

À toda minha família, em especial aos meus saudosos pais Juliana Ricardo e Artur Luis Mucaca, aos meus irmãos Domingos do Rosário Artur, Maria do Rosario Artur, Cecília Artur, Ilda do Rosario Artur, Tecla do Rosário Artur, Mussanda Artur e Florino Artur, á minha esposa Nilza Muchuíne e meus filhos Thaynara, Nilson e Kawany.

AGRADECIMENTOS

À Deus que vem iluminando os meus caminhos;

À Prof^a. Dr^a. Elizabeth do Nascimento, orientadora, pela confiança depositada desde o início, paciência e orientação ao longo de todos esses anos (competente e comprometida), as palavras são limitadas para expressar minha gratidão;

À Prof^a. Dr^a. Luciana Leite de Andrade Lima Arruda, pela orientação, dedicação, envolvimento e que serviram de estímulo para o meu envolvimento junto à análise de alimentos;

Às Professoras Margarida Angélicada Silva Vasconcelos e Viviane Lansky e Damião Camilo, pelo apoio na parte da análise de alimentos, que concretizou o plano de atividades deste estudo;

Aos Professores Maria Bernardete de Sousa Maia e André Martins Galvão pelo apoio nas análises da atividade antioxidante *in vivo*;

Ao Edones França, pelo apoio nos ensaios *in vivo*;

Ao Prof. Dr. Raul Manhães pelo aconchego, carinho e transmissão de força e exemplo de profissional;

Aos colegas de turma de Doutorado: Alicinez Guerra, Bruna Merten Padilha, Esther Pereira, Geovanna Paiva, Julliet Araújo de Souza, Tatiane Leocádio Temóteo e Victor Souza. À Mariana Séfora em especial pelo apoio nos experimentos da atividade antioxidante *in vivo*;

À Ana Patrícia Jaques Marques pelo apoio nas análises bioquímicas;

Aos colegas José Henrique Tavares Filho, Ana Patrícia Jaques, Bárbara Paulino, Carolina Oliveira, Lucas Oliveira, Mariana Félix, Mariana Ramalho, Natalia Viana Trindade, Daniela Aquino, Nathalia Melo, Tamires Meira, Libânia pelo companheirismo nas atividades de pesquisa);

À Cecília Arruda e Neci Maria Nascimento pelo acolhimento e simpatia ao longo do curso (Secretária do PGN/UFPE);

À banca examinadora por disponibilizarem tempo e conhecimento na melhoria desse trabalho. Obrigado pelas contribuições;

À CAPES pela bolsa concedida para a viabilização dos estudos e para o desenvolvimento desse trabalho;

A todos, meu muito obrigado!

RESUMO

Os benefícios de compostos fenólicos do vinho tinto para a saúde ainda geram controversas na literatura, porém, a ingestão de dieta com padrão ocidental tem se propagado por populações no mundo. O estudo objetiva determinar polifenóis, parâmetros cromáticos e atividade antioxidante *in vitro* de vinhos do Vale do São Francisco, avaliar a capacidade antioxidante *in vivo* do vinho com maior atividade antioxidante *in vitro* e sua ação no perfil glicêmico e lipêmico de ratos Wistar alimentados com dieta ocidentalizada. Neste estudo determinou-se o teor total de polifenóis pelo método Folin-Ciocalteu a 725 nm, índice de polifenóis a 280 nm, antocianinas pelo método diferencial de pH, taninos condensados pelo método vanilina/HCl, perfil fenólico por cromatografia líquida de alta eficiência e atividade antioxidante pelo método DPPH*. Utilizou-se 63 ratos Wistar com 45 dias de idade, inicialmente divididos em dois grupos de acordo com a manipulação nutricional (controle, n=31 e ocidentalizado, n=32). Posteriormente os grupos foram subdivididos em três cada (n=10 a 11 ratos), tratados com água, solução hidroalcóolica (12%) e vinho tinto (12%), alimentados em livre demanda. Durante o estudo foi determinado peso corporal, consumo alimentar, tolerância à glicose, gordura abdominal, peso de órgãos, perfil bioquímico e estresse oxidativo. Para todas análises foi adotada significância de 5%. Os fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico variaram entre 1.528,90 mg.L⁻¹ e 4.003,96 mg.L⁻¹; antocianinas entre 98,94 mg.L⁻¹ e 501,2 mg.L⁻¹, taninos condensados entre 61,08 e 147,74 mg.L⁻¹ e atividade antioxidante entre 58,02% e 95,70%. A dieta causou aumento do peso corporal, ingestão energética, glicemia, triglicérides, colesterol e estresse oxidativo. A ingestão moderada de vinho foi responsiva na reversão dos efeitos causados pela dieta do que a solução hidroalcóolica. Estes resultados reforçam os referenciados benefícios do consumo de vinho tinto sobre as doenças cardiovasculares e estresse oxidativo.

Palavras-chave: Antioxidantes. Polifenóis. Doenças cardiovasculares.

ABSTRACT

The benefits of red wine phenolic compounds for health still generate controversy in the literature, however, dietary intake with a Western standard has been propagated by populations worldwide. This study aims to determine the polyphenols, color parameters and in vitro antioxidant activity of wines from the São Francisco Valley and to evaluate the in vivo antioxidant capacity of the wine with the highest antioxidant activity in vitro and its action on the glycemic and lipemic profile of Wistar rats fed a Westernized diet. In this study the total content of polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu method at 725 nm, polyphenols at 280 nm, anthocyanins by differential pH method, condensed tannins by vanillin/HCl method, phenolic profile by high performance liquid chromatography and antioxidant activity by the DPPH* method. A total of 63 Wistar rats aged 45 days was used, initially divided into two groups according to nutritional manipulation (control, n = 31 and westernized, n = 32). Subsequently, the groups were subdivided into three groups (n = 10 to 11 rats) treated with water, hydroalcoholic solution (12%) and red wine (12%) fed on demand. During the study, body weight, food intake, glucose tolerance, abdominal fat, organs weight, biochemical profile and oxidative stress were determined. For all analyzes a significance of 5% was adopted. Total phenolics equivalent to gallic acid ranged from 1,528.90 mg.L⁻¹ to 4,003.96 mg.L⁻¹; anthocyanins between 98.94 mg.L⁻¹ and 501.2 mg.L⁻¹, condensed tannins between 61.08 and 147.74 mg.L⁻¹ and antioxidant activity between 58.02% and 95.70%. The diet caused increased body weight, energy intake, glycemia, triglycerides, cholesterol, and oxidative stress. Moderate wine intake was responsive in reversing the effects caused by diet than the hydroalcoholic solution. These results reinforce the beneficial references of red wine consumption on cardiovascular diseases and oxidative stress.

Keywords: Antioxidants. Polyphenols. Cardiovascular diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa da região do Vale do São Francisco.....	18
Figura 2. Estruturas de alguns ácidos fenólicos: ácido hidroxi-cinâmico (A) ácido hidroxi-benzóico (B).	21
Figura 3. Estrutura química do Resveratrol.....	22
Figura 4. Estruturas de alguns flavanois (+)catequina (A) e (-)epicatequina (B) Galato de (-)epicatequina (C).	22
Figura 5. Estruturas de algumas antocianinas Malvidin-3-O-glucoside (A) e Peonidin-O-glucoside (B).	23
Figura 6. Estrutura química da procianidina, um exemplo de tanino condensado....	24
Figura 7. Efeito cardiovascular do consumo moderado do vinho tinto sobre a função endotelial (endotelina-1, óxido nítrico – NO, dilatação do fluxo-mediado – FMD); metabolismo da glucose; efeito sobre os lipídeos (proteínas de alta densidade – HDL, Apolipoproteína-1 - ApoA-1, paraoxonase-1); coagulação e função plaquetária; efeito antioxidante; efeito antiinflamatório (C-proteína reativa – CRP, leucócitos, fator nuclear-κB – NF-κB, adesão endotelial de moléculas	26
Figura 8. Internalização das lipoproteínas de baixa densidade LDL-c oxidadas por receptores <i>scavengers</i> (um grupo de receptores que reconhecem LDL modificadas por oxidação ou acetilação) e aterosclerose.	28
Figura 9: Gráfico da curva analítica, em mg.L ⁻¹ de equivalentes de ácido gálico.....	35
Figura 10. Curva de calibração de taninos condensados - concentração de catequina em mg/mL versus absorvância (abs); R ² = 0,968.....	36
Figura 11. Cromatógrafo Ultimate 3000 Dionex®, com degasificador, bomba quartenária, forno e detector UV/Vis.	37
Figura 12. Desenho esquemático dos grupos experimentais.....	39
Figura 13. Índice total de polifenóis (A), fenóis globais de concentração expressos como equivalentes de ácido gálico (B), antocianinas totais expressas em mg.L ⁻¹ de malvidina 3-glucose, (C) taninos condensados em mg.L ⁻¹ (D) dos vinhos Cabernet Sauvignon e Syrah. Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14). ANOVA one way seguido pelo pós-teste de Bonferonni. Letras diferentes indicam variação de significância (p <0,05).....	47
Figura 14. Atividade antioxidante, porcentagem de atividade de seqüestro de radicais livres (% SA) de DPPH* em vinhos de Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e	

Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14). ANOVA one way seguido pelo pós-teste de Bonferonni. Letras diferentes indicam variação de significância ($p < 0,05$).....50

Figura 15. Evolução do peso corporal (g) de ratos submetidos a dieta controle (GC, $n=31$) e ocidentalizada (GO, $n=32$) durante 22 semanas (A), ganho de peso corporal da 1ª a 10ª semanas (B) e de 11ª a 20ª semanas de acompanhamento (C). Teste *two way* RM ANOVA (A) e teste “*t*” de Student (B,C) ($*p < 0,05$).....52

Figura 16. Consumo alimentar médio (figura 16A) (g/100g) e ingestão energética (figura 16B) entre os grupos controle (GC, $n=31$) e ocidentalizado (GO, $n=32$). Dados expressos em média e desvio padrão. Teste “*t*” de Student (B), $*p < 0,05$52

Figura 17. Glicemia em jejum (mg/dL) (figura 17A) e área sob a curva do gráfico (figura 17B) de ratos do grupo controle (GC, $n=31$) e ratos com dieta ocidentalizada (GO, $n=32$). Teste *two way* RM ANOVA (A) e teste “*t*” de Student (B), ($*p < 0,05$) aos 200 dias de vida.53

Figura 18. Glicemia basal após jejum de 10h e aos 30, 60, 90 e 120 minutos a seguir a solução oral de glicose. Grupos: controle com água (GCwa, $n=10$), controle com solução hidroalcolica (GCalc, $n=10$) e controle com vinho tinto (GCwi, $n=11$); dieta ocidentalizada com água (GOWa, $n=10$), dieta ocidentalizada com álcool (GOalc, $n=11$) e dieta ocidentalizada com vinho tinto (GOWi, $n=11$). Teste *two way* RM ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. $*p < 0,05$ vs respectivo grupo água e $^{\#}$ vs respectivo grupo vinho.54

Figura 19. Área sob a curva da glicose dos grupos controle com água (GCwa, $n=10$), controle com solução hidroalcolica (GCwa, $n=10$) e controle com vinho tinto (GCwi, $n=11$), ocidentalizado com água (GOWa, $n=10$), ocidentalizado com álcool (GOalc, $n=11$) e grupo ocidentalizado com vinho tinto (GOWi, $n=11$). Teste *one way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. Resultados em média e desvio padrão. Diferenças significativas $*p < 0,05$ vs respectivos grupos com água.55

Figura 20. Consumo alimentar (A) e energético (B) 30 dias antes da gavagem de grupos controles (GCwa, $n=10$; GCalc, $n=10$; GCwi, $n=11$) e o consumo alimentar (C) e energético (D) de grupos ocidentalizados (GOWa, $n=10$; GOalc, $n=11$; GOWi, $n=11$) durante o período de gavagem. Teste *one way* ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni. $*p < 0.05$ vs grupos controles e $^{\#}p < 0.05$ vs grupos ocidentalizados. ...56

Figura 21. Espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS) equivalentes ao Malonaldeído (MDA) (A), Grupos sulfidrilas em proteínas (tiois) (B), atividade enzimática da catalase (CAT) (C) e do superóxido dismutase (SOD) (D). Grupos: controle com água (GCwa, $n=10$), controle com solução hidroalcolica (GCalc, $n=10$) e controle com vinho tinto (GCwi, $n=11$); ocidentalizada com água (GOWa, $n=10$), ocidentalizada com álcool (GOalc, $n=11$) ocidentalizada com vinho tinto (GOWi, $n=11$). Teste *two way* RM ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. $*p < 0,05$. * vs grupo controle correspondente; $^{\#}$ vs intragrupo controle; $^{\delta}$ vs GOalc.....59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal da dieta (g/100g).....	40
Tabela 2: Contribuição energética (%) de macronutrientes para o valor energético total.....	40
Tabela 3: Perfil dos ácidos graxos das dietas.....	41
Tabela 4: Parâmetros cromáticos de vinhos Syrah e Cabernet Sauvignon das safras de 2011, 2013 e 2014.	46
Tabela 5. Perfil fenólico dos vinhos tintos tipo Cabernet Sauvignon nas safras 2011, 2013 e 2014 do Vale do São Francisco.	49
Tabela 6: Correlações entre a atividade antioxidante (% SRL) e os diferentes parâmetros de vinhos de Cabernet Sauvignon de 2011, 2013, 2014 e Syrah 2014.	50
Tabela 7. Parâmetros bioquímicos do sangue: glicose, colesterol, triglicerídeos, HDL- Lipoproteínas de alta densidade; VLDL-Lipoproteínas de muito baixa densidade.....	57
Tabela 8. Efeito do álcool e vinho tinto sobre o peso do fígado, do estômago e de compartimentos de gordura visceral	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Produção de vinhos no Vale do São Francisco.....	17
2.2. Uva e o vinho Cabernet Sauvignon.....	19
2.3. Polifenóis dos vinhos.....	19
2.4. Ação antioxidante, hipolipemiante e hipoglicemiante dos compostos fenólicos dos vinhos tintos.....	24
2.5. Bases do mecanismo da ação antioxidante dos polifenóis	26
2.6. Estresse oxidativo, peroxidação lipídica e obesidade.....	29
2.7. Dietas hiperlipídicas e distúrbios metabólicos.....	31
3. OBJETIVOS	32
3.1. Objetivo Geral	32
3.2. Objetivos Específicos.....	32
4. HIPÓTESES.....	33
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
5.1. Experimento 1: ensaios <i>in vitro</i>	34
5.1.2. Caracterização fenólica do vinho.....	34
5.1.3. Determinação da atividade antioxidante " <i>in vitro</i> " pelo método DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).....	37
5.2. Experimento 2: ensaios <i>in vivo</i>	38
5.3. Animais e grupos experimentais	38
5.3.1. Dieta dos animais	39
5.3.2. Análise por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama GC-DIC de ácidos graxos	40
5.3.3. Consumo alimentar	41
5.3.4. Evolução ponderal.....	42
5.3.5. Glicemia e teste oral de tolerância à Glicose (TOTG)	42

5.3.6. Análises bioquímicas	43
5.3.6. Avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARs).....	44
5.3.7. Grupos sulfidrilas em proteínas	44
5.3.8. Análises estatísticas dos dados.....	45
6. RESULTADOS.....	46
6.1. Parte 1 – características fenólicas dos vinhos e sua atividade antioxidante “ <i>in vitro</i> ”	46
6.2. Parte 2 – estudos “ <i>in vivo</i> ” na fase de indução ao estresse oxidativo (45 a 200 dias de vida)	51
6.3. Parte 2 – estudos “ <i>in vivo</i> ” na fase de gavagem com solução hidroalcoólica e vinho tinto (200 a 241 dias de vida).....	53
7. DISCUSSÃO	60
7.1. Parte 1 - caracterização dos vinhos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon do Vale do São Francisco	60
7.2. Parte 2 – estudos “ <i>in vivo</i> ”	66
8. CONCLUSÃO	78
9. REFERÊNCIAS.....	79
Apêndices.....	91
Apendice 1: Artigo publicado na <i>Journal of Food and Nutrition Research</i> http://www.sci epub.com/jfnr/content/5/10 Qualis da área de nutrição B2, fator de Impacto 1.950.....	92
Anexo.....	101
Anexo: Parecer da comissão de ética no uso de animais em pesquisa- UFPE	102

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem uma importante causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Dentre os fatores associados à ocorrência de doenças cardiovasculares encontram-se as dislipidemias e a obesidade. A obesidade junto com doenças crônicas correlatas, respondem por 72% dos óbitos no Brasil, sendo que o excesso de peso cresceu 26,3% em dez anos passando de 42,6% em 2006 para 53,8% em 2016 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Em 2014, o excesso de peso já atingia 52,5% da população adulta do Brasil representando um crescimento de 23% no período em relação ao ano de 2013 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Entretanto, a prevalência da obesidade mostra estabilização no país desde 2014, apesar do excesso de peso na população demonstrar valores de 57,7% em homens e 50,5% em mulheres em 2016 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Ainda que a genética e a idade sejam referenciados como principais fatores de risco relacionados com a evolução das mortes por doenças cardiovasculares (DCV's), diversos outros fatores ganham relevância (SBC, 2015). Dentre estes podem ser citados as modificações no estilo de vida das populações, a exemplo do consumo de alimentos com alto teor de gorduras saturadas e elevados níveis calóricos, também conhecidos por "*fast food*" (MARCONATO et al., 2016)

Com vistas a minimizar os problemas relacionados com as doenças cardiovasculares e outras doenças metabólicas, a sociedade vem buscando cada vez mais o consumo de alimentos que possam prevenir e/ou tratar doenças, bem como aumentar a longevidade. Dentre estes, destacam-se os alimentos funcionais, a exemplo dos ricos em compostos antioxidantes (MS, 2016). Entre os compostos antioxidantes, os polifenóis podem ser encontrados em diversos vegetais e frutos como a uva *in natura* e nos produtos industrializados derivados da uva, a exemplo dos vinhos (FURLAN e RODRIGUES, 2016).

Vários estudos têm demonstrado que o consumo moderado de álcool e vinho tinto pode trazer benefícios para a saúde. A ingestão de doses moderadas deste vinho em aumentar os níveis de HDL e diminuir a oxidação de LDL, tem chamado à atenção da comunidade científica (MARKOSKI et al., 2016) em investigar seus

mecanismos de ação. O consumo moderado de vinho tinto, cerca de 125 mL de vinho com 12% de álcool, ($\approx 120 \text{ g.L}^{-1}$) por dia, favorece boa absorção dos polifenóis e confere proteção ao organismo contra a instalação de doenças cardiovasculares (CHIVA-BLANCH et al., 2013). Contudo, seus efeitos permanecem em investigação visto que o teor de compostos bioativos das uvas e respectivos vinhos variam em função da cultivar, safra, condições edafoclimáticas, manejo agrônomo, protocolo de vinificação e armazenamento (HORA, 2016).

A proposta de investigação dos vinhos, oriundos do Vale do São Francisco (Nordeste do Brasil), advém da iniciativa de obtermos informações de um produto oriundo de uma região que não possui tradição de cultivo de uvas e produção de vinho e que pode trazer mais desenvolvimento em nível regional. Em adição, a literatura é escassa para estudos que tenham avaliado *in vivo* a capacidade antioxidante, e sua ação sobre a glicemia e lipemia de vinhos oriundos do Vale do São Francisco. Ademais, a opção pelo vinho também se embasa em evidências de que os fenólicos presentes estariam mais biodisponíveis nesta bebida do que na uva, decorrente da menor quantidade de açúcares redutores.

Com base nas argumentações supracitadas, o estudo se propôs a responder aos seguintes questionamentos: Qual a composição fenólica dos vinhos tintos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon do Vale do São Francisco, e como estes atuam em face da sua atividade antioxidante *in vitro*? *E qual seria a ação, dos vinhos Cabernet Sauvignon, sobre o perfil antioxidante, homeostase da glicose e dos lipídios em ensaios in vivo de animais com dieta ocidentalizada?*

Portanto, o foco deste estudo foi avaliar a capacidade antioxidante de vinhos tintos do Vale do São Francisco *in vitro* e *in vivo*, sua ação sobre a glicemia e lipemia *in vivo*.

Os resultados obtidos neste estudo podem contribuir para o esclarecimento do papel dos vinhos tintos sobre a produção de radicais livres, na hiperlipemia e hiperglicemia, no excesso de gordura abdominal quando este é ingerido, concomitantemente a uma dieta “estilo ocidental”. Igualmente, os resultados obtidos poderão agregar valor ao produto local e incrementar a sua comercialização. Este estudo resultou em uma publicação na revista *Journal of Food and Nutrition Research* com qualis da área de nutrição B2, fator de Impacto 1.950, disponível

online no site <http://www.sciepub.com/jfnr/content/5/10> sob o título *Phenolic Composition, Chromatic Parameters and Antioxidant Activity “in vitro” in Tropical Brazilian Red Wines* como pode ser visto no apêndice 1.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção de vinhos no Vale do São Francisco

O Nordeste brasileiro é responsável por 26% da produção nacional de uvas, e esta produção está concentrada, principalmente, no Vale do São Francisco, localizada no sertão nordestino dos estados de Pernambuco e Bahia (BASTOS et al.,2016). Em 2014 ocorreu incremento de 1,64% na produção Nacional de uvas, destas 673.422 milhões de quilogramas, representando 46,89% desta produção, foi destinada ao processamento, com a elaboração de vinhos, sucos e outros derivados (LINS et al., 2015).

A vitivinicultura tropical, voltada para a elaboração de vinhos finos, é uma das atividades do agronegócio do estado de Pernambuco, mais precisamente no Vale do São Francisco (VSF). Além disso, a atividade vitivinícola encontra-se associada à geração de empregos, diretos e indiretos, demonstrando sua importância socioeconômica, e faz parte do Apelo Produtivo Local (APL) da Uva e do Vinho (IBAVIN, 2015).

O Vale do São Francisco está localizado entre os paralelos 8° e 9° de latitude Sul, cujo clima é caracterizado como tropical semiárido, com temperatura média anual em torno dos 26°C, pluviosidade anual entre 350 e 800mm, concentrada entre os meses de janeiro a abril, evapotranspiração de aproximadamente 3.000 mm anuais, 330 m de altitude e dispolidade heliotérmica superior a 3.000 horas por ano (Figura 1). Estas condições edafoclimáticas, que exigem irrigação, fazem desta região a única no mundo a produzir, comercialmente, uvas viníferas em período não convencional – inverno – e durante todo o ano, possibilitando o escalonamento da elaboração de vinhos (IBAVIN, 2015).



Figura 1: Mapa da região do Vale do São Francisco.

(fonte: <https://www.google.com.br/search?q=mapa+do+vale+do+s%C3%A3o+francisco&bi> e http://www.academiadovinho.com.br/regiao_mostra.php?reg_num=br04)

A Região elabora, principalmente, vinhos finos, ou seja, com cultivares *Vitis viniferas* L., a exemplo das cvs. Syrah, Tempranillo, Ruby Cabernet, Touriga Nacional, Alicante Buchet, Cabernet Sauvignon, Petit Verdot, Chenin Blanc, Moscato Canelli e Sauvignon Blanc (PEREIRA et al., 2011; FARIAS et al., 2011). Estes vinhos têm como principais características, acidez, doçura, presença de taninos, boa intensidade aromática, teor alcoólico elevado e corpo médio (GUERRA; ZANUS, 2004), que são atributos comuns em vinhos jovens, frutados e fáceis de beber. A avaliação e constatação da qualidade intrínseca dos vinhos, por meio de determinações analíticas, permite melhor compreender o equilíbrio entre os compostos e inferir nos ajustes vitícolas e nos protocolos de vinificação, com possibilidades de melhoria da qualidade (LIMA et al., 2011; PEREIRA et al., 2007). Ademais, a caracterização dos compostos responsáveis pelos principais atributos sensoriais dos vinhos (*flavour*, cor, aromas e sabor), permite valorizar a identidade regional dos produtos, identificando possíveis marcadores moleculares que diferenciam a produção regional (LIMA et al., 2011).

2.2. Uva e o vinho Cabernet Sauvignon

A uva Cabernet Sauvignon é considerada uma das variedades viníferas de maior prestígio no mundo, É originária de Bordeaux na França e começou a ser conhecida por volta do final do século XVIII e início do século XIX. É uma das variedades de maior sucesso na produção de vinho tinto. Esta uva é resultado do cruzamento natural entre as variedades Cabernet Franc e Sauvignon Blanc, também naturais, também autóctones dessa Região (BURIN et al., 2010).

Essa importante cultivar tinta está atualmente difundida, além da França, na maior parte dos países vitivinícolas do Velho (Espanha, Itália e Portugal) e Novo Mundo (Austrália, Argentina, África do Sul, Brasil, Chile, Estados Unidos e Nova Zelândia). Apresenta brotação com maturação tardia, relativamente vigorosa, com ramos novos de porte ereto, elevada resistência à *Botrytis cinerea* - podridão cinzenta dos cachos, média produção e elevada qualidade para vinificação (cor intensa, taninos marcantes e película espessa). No entanto, é sensível ao dessecamento do cacho, especialmente quando é introduzida sobre os porta-enxertos SO₄ e 5BB, que atrasam a maturação da uva (RIZZON e MIELE, 2002).

Pelas suas características físicas, o vinho Cabernet Sauvignon é considerado o “rei dos vinhos tintos”. O vinho Cabernet Sauvignon caracteriza-se por apresentar cor vermelha com reflexos violáceos acentuados, riqueza em taninos e complexidade aromática (marcante presença da pirazina - aroma e sabor herbáceo - e aromas de frutas negras, especiarias) (DINIZ et al., 2011; BURIN et al., 2010).

Os vinhos desta cultivar apresentam elevados teores de compostos fenólicos (MARKOSKI et al., 2016 e STAVRIDOU et al., 2016), inclusive os vinhos oriundos do VSF conforme referido em pesquisas realizadas em vinhos experimentais (LIMA et al., 2011) e comerciais (LUCENA et al., 2010).

2.3. Polifenóis dos vinhos

As uvas são uma rica fonte de compostos fenólicos, principalmente na película e nas sementes, que desempenham um papel importante na enologia devido à sua influência nas características sensoriais de qualidade dos vinhos, tais como cor, estabilidade, amargor e astringência. Ademais, devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, os compostos fenólicos estão associados com

vários efeitos bioquímicos, farmacológicos (KOSIR et al., 2004) e fisiológicos benéficos ao homem, desde que consumido moderadamente (SILVA e QUEIROZ, 2016).

Os polifenóis são identificados como metabólitos secundários das videiras que contêm um ou mais grupos hidroxila (-OH), ligados a posições *-orto*, *-meta* ou *-para* sobre um anel de benzeno e estão, geralmente, envolvidos, na uva, com a defesa contra radiação ultravioleta, efeitos de poluentes ambientais, e hostilidade de patógenos (PANDEY e RIZVI, 2009). No organismo humano, os compostos fenólicos atuam como antioxidantes não enzimáticos que combatem radicais livres de Espécies Reativas de Oxigênio e/ou Nitrogênio (EROs ou ERNs) (SOARES et al., 2015). A atividade antioxidante é atribuída aos íons de hidrogênio (H^+) dos grupos hidroxila, às duplas ligações dos anéis benzênicos e à dupla ligação da função oxo ($-C=O$) de algumas moléculas. Sua atividade biológica depende da biodisponibilidade, absorção e metabolização que, por sua vez, estão relacionadas à estrutura química, grau de polimerização e solubilidade desses compostos (MIRA et al., 2008).

De acordo com a literatura, o vinho é uma excelente fonte de várias classes de compostos fenólicos, entre os quais se encontram os ácidos fenólicos (gálico, vanílico, caféico, p-cumárico, elágico, ferúlico e sirínico), flavanóis (rutina, miricetina, quercetina e caempferol, catequina e epicatequina) e estilbenos (*cis*- e *trans*- resveratrol), todos com proporção dependente da variedade da uva e do processo de vinificação (RODRÍGUEZ-DELGADO et al., 2002).

As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão relacionadas com a atividade antioxidante que cada fenol exerce sobre determinado meio. A atividade dos antioxidantes, por sua vez, depende de sua estrutura química, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor (velocidade de inativação do radical livre, reatividade com outros antioxidantes e potencial de quelação de metais) (CUEVA et al., 2017).

a) Compostos não flavonóides

• Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos (Figuras 2A e 2B) são compostos não flavonóides encontrados nas uvas e nos vinhos que influenciam as propriedades organolépticas (sabor, cor e aroma) a estabilidade e o controle microbiológico dos produtos. Os ácidos fenólicos são compostos de ácidos hidroxi-cinâmico e hidroxi-benzóico e são responsáveis por 30% dos compostos fenólicos (RAMOS, 2008). Estão presentes em material vegetal e por vezes existem na natureza como ésteres e glicosídeos e atuam como antioxidantes ao quelar e sequestrar radicais livres (SILVA e QUEIROZ, 2016).



Figura 2. Estruturas de alguns ácidos fenólicos: ácido hidroxi-cinâmico (A) ácido hidroxi-benzóico (B).

• Estilbenos

Os estilbenos (Figura 3) são compostos não flavonóides sintetizados em resposta a uma infecção ou lesão na videira, ou seja, metabólitos de estresse vegetal que atuam como fitoalexinas anti-fúngicos. Estes compostos têm um grande potencial em processos biológicos e celulares aplicáveis para a saúde humana. Caracterizados quimicamente pela sua estrutura de núcleo de 1,2-difeniletileno. Os estilbenos são referidos como importantes agentes quimioprotetores de câncer, pela sua capacidade de inibir os eventos celulares associados com a carcinogênese, incluindo iniciação, promoção e progressão do tumor (BURNS et al., 2002). A exemplo dessa constatação, o resveratrol, estilbeno presente nos vinhos, conferiu proteção às células epiteliais da córnea humana (HLEB) contra danos oxidativos induzidos por peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e o mecanismo de proteção ocorreu pela indução de três enzimas antioxidantes: a superóxido dismutase, heme-oxigenase 1 e a catalase (SOD, HO e CAT) (SOARES et al., 2015).

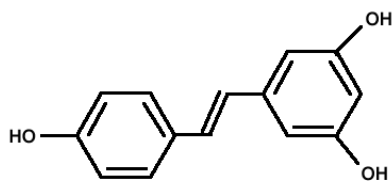


Figura 3. Estrutura química do Resveratrol

b) Compostos flavonóides

Várias propriedades benéficas têm sido atribuídas aos flavanóides da dieta, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e anticancerígenos. Os flavonóides (Figura 4A, 4B e 4C) demonstraram potencialidades para proteger o organismo contra infecções virais, bem como várias patologias tais como diabetes, doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias e neurológicas (NOROOZI et al., 2008).

- **Flavonóis**

Os flavonóis são fenólicos de natureza flavanóide, não coloridos mais abundantes na casca das uvas, a exemplo de monômeros flavan-3-ol, (+) catequina e (-) epicatequina, assim como seus dímeros, trimeros e polímeros (SILVA e QUEIROZ, 2016).

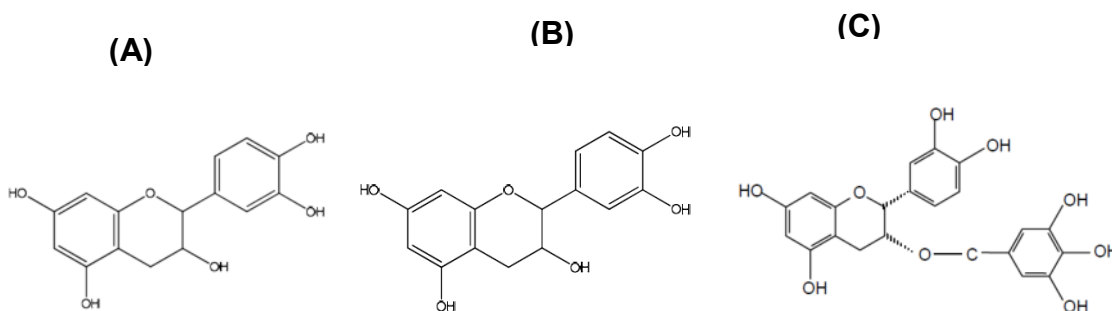


Figura 4. Estruturas de alguns flavonóis (+)catequina (A) e (-)epicatequina (B) Galato de (-)epicatequina (C) (CUEVA et al., 2017).

- **Antocianinas**

As antocianinas (figura 5A e 5B) pertencem a classe dos flavanóides, os principais pigmentos das uvas vermelhas, responsáveis pela cor dos vinhos tinto e rosado. A cor destes compostos varia em consonância com as estruturas químicas e as

condições físico-químicas do meio podendo variar de rosa ao azul com o aumento dos grupos hidroxila. As principais antocianinas encontradas nas uvas são derivadas de cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina e malvidina, e geralmente ocorrem como glicosídeos e acilglicosídeos, sendo a malvidina-3-glucosídeo a mais abundante. Nos vinhos, estes compostos são responsáveis pela tonalidade e intensidade da cor e podem dar informação sobre possíveis defeitos ou qualidades. (SILVA e QUEIROZ, 2016)

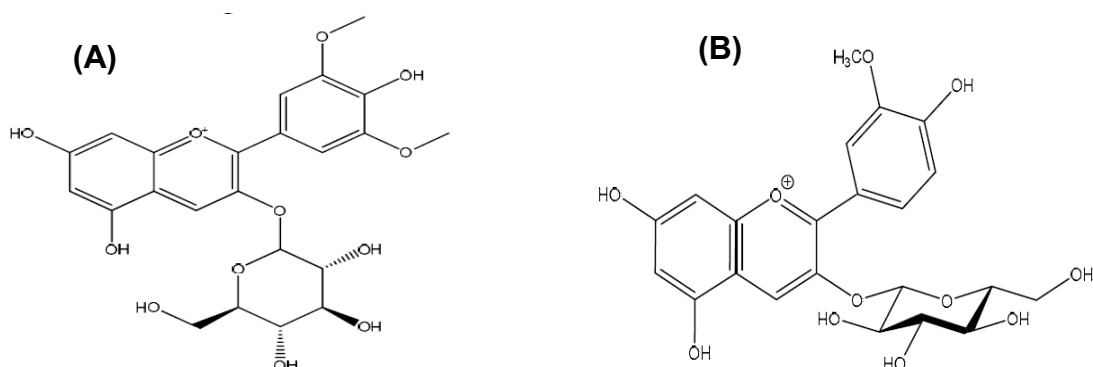


Figura 5. Estruturas de algumas antocianinas Malvidin-3-O-glucoside **(A)** e Peonidin-O-glucoside **(B)** (CUEVA et al., 2017).

c) Taninos

Os taninos são compostos fenólicos presentes na maioria das plantas, que podem ter sua concentração variando de acordo com os tecidos vegetais, bem como em função da idade e tamanho da planta, da parte coletada, da época ou, ainda, do local de coleta, são encontrados em muitas frutas, sendo caracterizados como compostos fenólicos de alto peso molecular que precipitam proteínas, incluindo proteínas salivares da cavidade oral. Essas propriedades são fundamentais para explicar o papel dos taninos na proteção do organismo contra doenças (BERNARDES et al., 2011).

Os taninos são classificados em dois grupos principais denominados taninos hidrolisáveis que incluem os galitaninos, elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico e os taninos condensados (figura 6) que compreendem um grupo de polihidroxi-flavan-3-ol e apresentam uma estrutura semelhante aos flavonoides, com coloração variando do vermelho ao marrom (RUBIN et al., 2017).

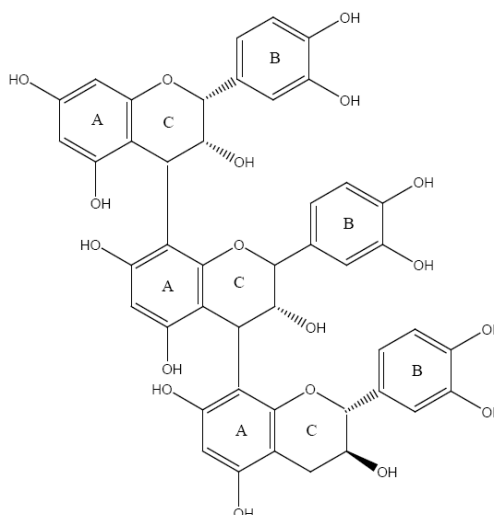


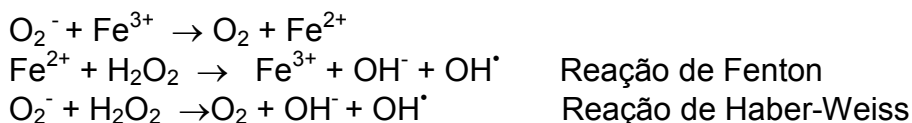
Figura 6. Estrutura química da procianidina, um exemplo de tanino condensado (BERNARDES et al., 2011).

2.4. Ação antioxidante, hipolipidemiante e hipoglicemiante dos compostos fenólicos dos vinhos tintos

Estudos epidemiológicos têm revelado que o consumo por longo prazo de uma dieta rica em polifenóis tem se mostrado promissora contra as doenças, tais como, cardiovasculares (DCVs), neurodegenerativas, diabetes e câncer (ABEGÃO, 2016). Porém, os mecanismos moleculares pelos quais os polifenóis presentes no vinho tinto atuam como antioxidantes ainda não estão totalmente esclarecidos (LALL et al., 2015). Entretanto, alguns estudos apontam para a modulação da atividade de várias proteínas e fatores de transcrição que estão envolvidos em vias metabólicas relacionadas à síntese de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão. Uma das possíveis vias refere-se à capacidade antioxidante destes compostos, os quais, ao combaterem o estresse oxidativo, ocasionado pelo excesso de EROs, atenuam os processos inflamatórios (SÉFORA-SOUSA e DE ANGELIS-PEREIRA, 2013).

Por outro lado, as substâncias fenólicas são conhecidamente possuidoras de ação antioxidante, podendo agir tanto na inibição da peroxidação lipídica como da lipoxigenase. As substâncias fenólicas desempenham um papel importante, agindo tanto na primeira etapa de iniciação como na segunda etapa que é a de propagação do processo oxidativo. Os fenólicos podem agir como neutralizadores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, e como quelantes de

metais, a exemplo do ferro e cobre, inibindo a formação de radicais livres por meio de reações de Haber Weiss/Fenton, equação 1 (HARB et al., 2016).



Equação 1. Reações de Fenton e Haber-Weiss.

No caso, o ferro ligado a proteínas não está normalmente disponível para estimular reações de radicais, a menos que o mesmo seja liberado das proteínas. Desta forma, seu transporte e armazenamento (ferritina e transferrina) proporcionam uma defesa antioxidante (VANNUCCHI et al., 1998).

Em relação à ação antioxidante e hipolipidemiante dos compostos fenólicos do vinho, estudo realizado com homens e mulheres saudáveis mostrou que o consumo do vinho tinto Siciliano (250 mL.dia⁻¹, por quatro semanas) reduziu os níveis de LDL-oxidada, fibrinogênio e Proteína C Reativa (PCR) e aumentou significativamente os níveis de HDL, Apo-A1 e fator β de transformação da proteína de crescimento (TGF-β1) (AVELLONE et al., 2006). Foi relatado também que o consumo de vinho tinto sem álcool (300mL.dia⁻¹) demonstrou um aumento da capacidade antioxidante no plasma e maior atividade das enzimas glutathione redutase, catalase e superóxido dismutase em indivíduos saudáveis, além de alterações em alguns antioxidantes internos (ácido úrico, bilirubina e albumina), figura 7 (FERRAZIN e GUEDES, 2015).

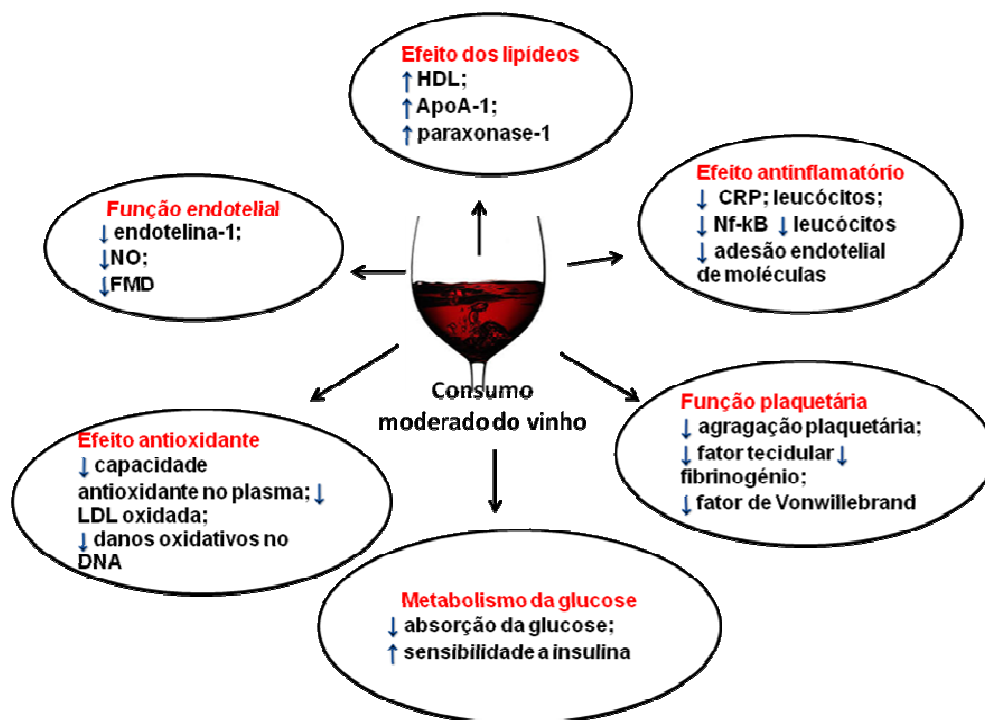


Figura 7. Efeito cardiovascular do consumo moderado do vinho tinto sobre a função endotelial (endotelina-1, óxido nítrico – NO, dilatação do fluxo-mediado – FMD); metabolismo da glicose; efeito sobre os lipídeos (proteínas de alta densidade – HDL, Apolipoproteína-1 - ApoA-1, paraoxonase-1); coagulação e função plaquetária; efeito antioxidante; efeito anti-inflamatório (C-proteína reativa – CRP, leucócitos, fator nuclear-κB – NF-κB, adesão endotelial de moléculas) (modificado de CHIVA-BLANCH et al. 2013).

Conjectura-se também que os polifenóis dos vinhos tintos têm efeitos preventivos sobre a síndrome metabólica através da redução do processo de formação de radicais livres, protegem e regeneram o α -tocoferol da LDL oxidada e sequestram metais que induzem à oxidação. Agem sinergeticamente inibindo a agregação de plaquetas e reduzem de forma relevante o desenvolvimento da arteriosclerose. Alguns polifenóis, a exemplo do resveratrol, associados à parte lipídica das LDL, inibem a agregação de plaquetas, e outros eventos associados ao risco de câncer e outras patologias importantes como doença vascular, infecção viral e processos neurodegenerativos (FERRAZIN e GUEDES, 2015).

2.5. Bases do mecanismo da ação antioxidante dos polifenóis

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas capazes de reagir no organismo e consequentemente interferir nos processos biológicos e fisiológicos.

Podem se formar de diferentes formas, entre elas, durante a redução do oxigênio a água na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria. A capacidade destas espécies em ocasionar danos depende da caracterização do tipo de radical e das moléculas que estão sendo atingidas. As EROs são moléculas instáveis e extremamente reativas capazes de transformar outras moléculas com as quais colidem. As EROs são geradas em grande quantidade durante o estresse oxidativo, condição em que são afetadas moléculas como proteínas, carboidratos, lipídeos e ácido nucleico (COTINGUIBA et. al., 2013).

Do mesmo modo, as EROs estimulam a transcrição de um grande número de genes que codificam citocinas inflamatórias e moléculas de adesão quando ativam o fator nuclear kappa B (NF- κ B) e quando o NF- κ B é ativado, várias citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas (IL) 1, 2, 6 e 12 são produzidos em excesso (SOARES et al., 2015).

Além disso, as citocinas podem levar à formação de EROs que em ação idêntica às mieloperoxidases, lipoxigenases, superóxido e peróxido de hidrogênio promovem a oxidação da LDL-c ao instalar-se na camada muscular íntima do vaso, favorecendo a formação das placas de ateromas que podem ser prevenidas a partir de mecanismos antioxidantes. Na ausência de estímulo, o NF- κ B se encontra no citoplasma ligado a sua proteína repressora I κ B (I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B 3, e Bcl3), porém o “*Nuclear fator-E2-related fator*” (Nrf2) atua positivamente como o elemento de resposta antioxidante (ARE), regulando a expressão de enzimas antioxidantes (SOARES et al., 2015).

Os polifenóis também podem agir via modulação da atividade de enzimas antioxidantes através da ativação do fator de transcrição nuclear “*Nuclear fator-E2-related fator*” (Nrf2) (MITSUISHI et al, 2012). Em condições basais, o Nrf2 encontra-se no citoplasma ligado ao complexo repressor Kelchlike proteína associada-ECH1 (KEAP-1) no proteasoma. Em resposta ao estresse oxidativo, o Nrf2 dissocia-se do KEAP-1 por ubiquitinação (modificação reversível que se traduz na formação de uma ligação isopeptídica entre a ubiquitina e a proteína-substrato por ação de enzimas) e transloca-se para o núcleo onde se liga aos elementos de resposta antioxidante (ARE) que incluem: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), NADPH quinona oxidoreductase 1 (NQO1), heme oxigenase-1(HO⁻¹), glutathione

peroxidase (GPx), e tioredoxina (Trx), dentre outras, as quais desempenham papéis fundamentais na defesa celular, atenuando os efeitos adversos de EROs (SOARES et al., 2015).

A figura 8 representa o processo de internalização da LDL-c oxidada por receptores scavengers e a ação conjunta dos polifenóis com Nrf2 para inibição da expressão de mediadores pró-inflamatórios.

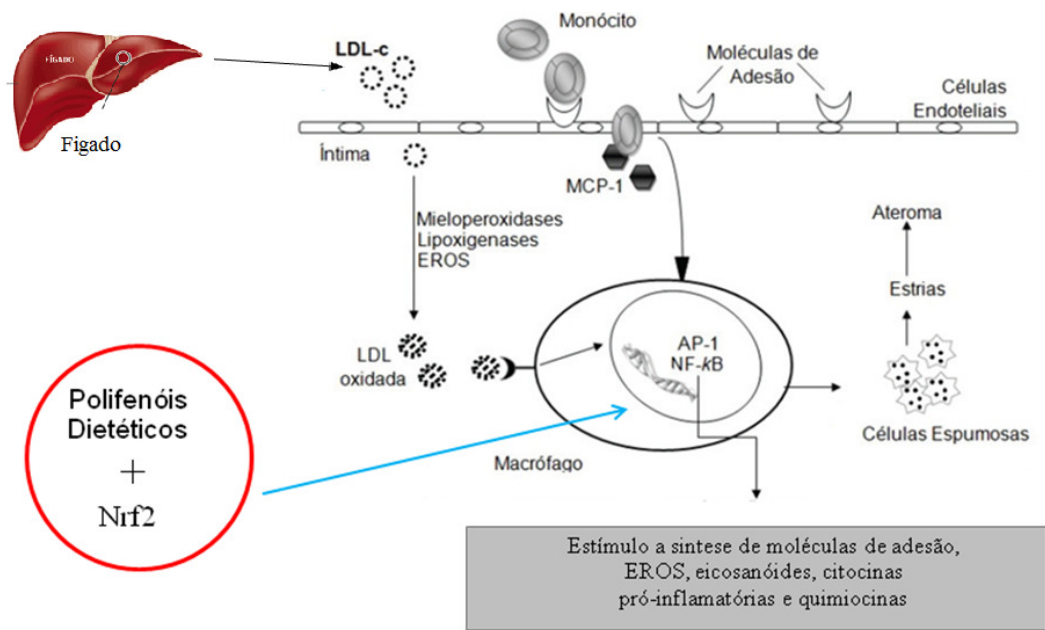


Figura 8. Internalização das lipoproteínas de baixa densidade LDL-c oxidadas por receptores *scavengers* (um grupo de receptores que reconhecem LDL modificadas por oxidação ou acetilação) e aterosclerose (modificado de SÉFORA-SOUSA e DE ANGELIS-PEREIRA, 2013).

O processo representado na figura 8 pode ser o mecanismo crucial pelo qual os polifenóis conferem cardioproteção. O consumo de alimentos com altos teores de colesterol e gorduras, principalmente a saturada, associado à baixa ingestão de substâncias antioxidantes e fibras, predispõe à elevação das taxas de colesterol sérico e suas frações e, conseqüentemente, ao aumento do risco de doenças cardiovasculares. Porém, quando a bebida consumida é o vinho tinto, independentemente da presença ou ausência de álcool, os seus componentes demonstram um papel cardioprotetor, através da ação antioxidante e inibição da síntese de proteínas pró-inflamatórias (STOCKLEY, 2015).

2.6. Estresse oxidativo, peroxidação lipídica e obesidade

Grande parte das reações metabólicas do organismo humano é realizada em meio aeróbico (ex.: respiração mitocondrial), o que irremediavelmente leva à geração de inúmeras espécies reativas de oxigênio (EROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), com destaque para radicais peroxila ($\text{ROO}^\cdot$), alcóxila ($\text{RO}^\cdot$), hidroxila ($\text{HO}^\cdot$), superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e oxigênio singlete (O_2) (SOARES et al., 2015).

Nesse processo, a cadeia respiratória produz ânions superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) que podem ser transformados em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidróxido ($\text{HO}^\cdot$). Os radicais podem reagir com lipídeos de membrana (LH), promovendo o processo de peroxidação lipídica e originando radicais lipídicos ($\text{L}^\cdot$), radicais peróxido ($\text{LOO}^\cdot$) e lipídeos hidroperóxidos (LOOH). A síntese do óxido nítrico mitocondrial (NOS) produz óxido nítrico ($\text{NO}^\cdot$) que combina com ânions superóxido para produzir o peroxinitrílio ($\text{ONOO}^\cdot$) (SOARES et al., 2015).

Em organismos saudáveis, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e de nitrogênio (ERNS) está em equilíbrio com as defesas antioxidantes. Porém, o desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e a capacidade antioxidante no ser humano, por vezes pode levar a danos celulares que podem ou não ser reparáveis (ex: DNA) ou substituídos (ex: oxidação de proteínas) (VASCONCELOS et al., 2007).

Os antioxidantes produzidos pelo corpo agem enzimaticamente, a exemplo da glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) ou não enzimaticamente, a exemplo de glutathione reduzida (GSH) ou oxidada (GSSH), peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico entre outros. Esses compostos agem na regulação da concentração das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio por meio da produção de enzimas que catalisam reações de inativação de radicais ou nutrientes e compostos bioativos que atuam como moléculas antioxidantes (SOARES et al., 2015).

Além dos antioxidantes produzidos pelo corpo, o organismo utiliza aqueles provenientes da dieta como o α -tocoferol (vitamina-E), β -caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina-C), e compostos fenólicos. Porém, as espécies oxidantes (EROS/ERNS) geralmente se relacionam à estimulação da expressão de proteínas

envolvidas no controle de importantes processos fisiológicos (ciclo celular, resposta imune e neuroregulação) (PIETA, 2000).

A obesidade, por exemplo, aumenta a necessidade metabólica do miocárdio, com o consequente aumento do consumo de oxigênio estimulando a formação de espécies reativas de oxigênio (FRANÇA et al., 2013). Desta forma, as moléculas antioxidantes modulam negativamente os processos de formação das espécies reativas de oxigênio, sendo que, o desequilíbrio entre as modulações positiva e negativa levaria ao aparecimento do estresse oxidativo e de diversas doenças (DE GROOT, 2012). Porém, a inativação de um agente oxidante leva a produção do antioxidante, a exemplo da glutathiona oxidada (GSSG) e estimula a depleção da glutathiona reduzida (GSH). Entretanto, em situações onde o sistema de óxido-redução está íntegro, haverá recuperação da glutathiona reduzida. Por outro lado, em condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo da glutathiona reduzida (GSH) e a produção da glutathiona oxidada (GSSG), o que caracteriza a condição de estresse oxidativo (DE GROOT, 2012) ou de toxicidade.

A magnitude do estresse oxidativo pode ser monitorada pela razão da glutathiona reduzida e glutathiona oxidada (GSH/GSSG). Essa razão é normalmente utilizada para estimar o estado redox dos sistemas biológicos tomando em consideração que o antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo (DE GROOT, 2012). Assim, elevada produção de espécies reativas de oxigênio supera a capacidade antioxidante da célula, culminando com o estado de estresse oxidativo podendo desencadear a peroxidação lipídica. Por outro lado, a obesidade pode aumentar a peroxidação lipídica através da lesão celular progressiva e cumulativa devido à pressão pela grande massa corporal (FRANÇA et al., 2013).

2.7. Dietas hiperlipídicas e distúrbios metabólicos

Dietas hipercalóricas/hiperlipídicas têm sido utilizadas com sucesso para a reprodução de modelos experimentais de obesidade e síndrome plurimetabólica (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2014). Neste contexto, diversos estudos documentaram a ocorrência de hipertrofia miocárdica e fibrose intersticial, acompanhadas de desordens funcionais em diferentes modelos experimentais, incluindo estudos sobre obesidade induzida por dieta (MARTINS et al., 2015).

Assim, no conjunto metabólico, distúrbios relacionados à colesterolemia, à lipídemia e ao metabolismo glicêmico foram também demonstrados como comorbidades comuns a modelos experimentais de obesidade induzida por dieta hipercalórica. No entanto, poucos estudos distinguiram respostas específicas do tratamento dietético e efeitos atribuídos à adiposidade (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2014). Todavia, o consumo de dietas desequilibradas ou nutricionalmente inadequadas, a exemplo das elevadas em gorduras saturadas, sódio e açúcar, mas, deficientes em fibras estão entre os quatro maiores fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, de excesso de peso, e de efeitos adversos na pressão arterial, glicemia e lipídemia (CAO et al., 2015).

Previamente já foi demonstrado a relação entre mudanças no perfil lipídico após o consumo de uma dieta rica em gorduras saturadas e desenvolvimento de obesidade e diabetes melito tipo 2 (LOPES et al., 2016). Igualmente foi demonstrada a associação entre a peroxidação lipídica e a alteração das funções metabólicas, visto que os ácidos graxos livres obtidos a partir da dieta hiperlipídica ou pela síntese hepática podem ser utilizados de várias formas. Podem ser utilizados para a geração de energia através da β -oxidação, exportados do fígado para outros tecidos na forma de VLDL ou reesterificados na forma de triglicerídeos e estocados como gotas lipídicas no citoplasma dos hepatócitos (MAZEN NOUREDDIN, 2016). O acúmulo de lipídios no tecido hepático sugere que ocorra uma tendência ao dano oxidativo e desestabilização da homeostasia no metabolismo glicídico e lipídico com efeito no aumento nos valores dos produtos finais da peroxidação lipídica (SHINAGAWA et al., 2015). Como consequência, pode-se encontrar intolerância à glicose, associada a menor captação de glicose basal estimulada pela insulina (CREGE et al., 2016).

Diante das evidências supracitadas pode-se inferir que a dieta ocidentalizada tem promovido obesidade, aumento da glicemia e triglicerídeos séricos, tornando este modelo viável para estudos que contribuam nos progressos da compreensão da etiologia, patogenia e intervenções terapêuticas em distúrbios metabólicos associados a alimentação. Por outro lado, também se observa que existem positivas associações entre ingestão moderada de vinho tinto e proteção de risco cardiovascular em ensaios experimentais com ratos que sofreram intervenções com dietas hiperlipídicas, de forma a prevenir a intolerância à glicose e redução do estresse oxidativo.

Diante do exposto, hipotetiza-se neste estudo que os vinhos do Vale do São Francisco possuem composição fenólica e características similares a vinhos tradicionais consolidados no mercado internacional com relevante capacidade antioxidante. E, sua ingestão crônica pode atuar como um composto benéfico adicional em dietas desequilibradas, a exemplo da ocidentalizada, podendo reverter ou minimizar distúrbios no metabolismo glicídico e lipídico, bem como do estresse oxidativo. Sua realização se embasa na necessidade de estudos científicos que valorizem o produto regional e nacional a partir da investigação de sua ação no organismo vivo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Determinar a composição fenólica e capacidade antioxidante *in vitro* de vinhos tintos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon elaborados do Vale do São Francisco e a partir do vinho que apresentar melhor atividade, avaliar *in vivo* a ação sobre as taxas glicêmicas, lipêmicas e atividade antioxidante em ratos alimentados com dieta ocidentalizada.

3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar a composição fenólica e a atividade antioxidante “*in vitro*” de vinhos comerciais de Cabernet Sauvignon do Vale do São Francisco.

- Avaliar a evolução ponderal, ingestão alimentar e a tolerância à glicose em ratos alimentados com dieta ocidentalizada e submetidos a ingestão de vinho ou bebida hidroalcoolica.
- Investigar a ação do vinho de maior atividade antioxidante *in vitro* sobre parâmetros glicêmicos, lipêmicos e atividade antioxiante em ratos alimentados com dieta ocidentalizada.

4. HIPÓTESES

- a) Os vinhos tintos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon das safras de 2011, 2013 e 2014 do Vale do São Francisco, apesar de poderem diferir quantitativamente, possuem elevada concentração de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante *in vitro*.
- b) A safra que apresentar maior atividade antioxidante *in vitro* reproduzirá esta ação no ensaio *in vivo* concomitante a uma redução do acúmulo de gordura visceral, normalização da glicemia e lipemia e da tolerância à glicose em ratos alimentados com dieta ocidentalizada.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Experimento 1: ensaios *in vitro*

O estudo foi conduzido com vinhos tintos comerciais monovarietais cedidos por vinícolas do Vale de São Francisco, elaborados a partir da variedade tintas Syrah e Cabernet Sauvignon, safras de 2011, 2013 e 2014. A escolha destes vinhos deve-se ao fato de vinhos do cultivar Cabernet Sauvignon apresentarem evidências de serem amplamente estudados (FARIAS et al, 2011), bem como da importância desta uva na vitivinicultura no Brasil (SATO et al., 2011) e do Vale do São Francisco. Para além da demanda, a valorização dos vinhos Cabernet Sauvignon tem sido observada nos mercados nacional e internacional (RIZZON e MIELE, 2002; DINIZ et al., 2011; MARKOSKI et al., 2016 e STAVRIDOU et al., 2016).

Com estas amostras, fez-se a análise das suas características fenólicas e a atividade antioxidante "*in vitro*". Subsequentemente, o vinho que apresentou maior atividade antioxidante foi aplicado nos estudos *in vivo*.

5.1.2. Caracterização fenólica do vinho

a) Determinação dos parâmetros de cor

- *Análise colorimétrica*

As amostras foram diluídas a 10% em água destilada na proporção de 5:50. A intensidade da cor foi medida pela soma das absorvências a 420, 520 e 620 nm e a tonalidade por proporção entre 420 e 520nm (CAILLÉ et al., 2009). Os índices colorimétricos, porcentagem (%) de amarelo, % de vermelho e % de azul foram medidas em comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm, respectivamente, em relação à intensidade da cor (MONAGAS et al., 2006). A leitura foi feita com recurso a um espectrofotômetro (Varian 50 Bio UV/Vis ®).

b) Polifenóis totais

- *Índice a 280 nm (I_{280nm})*

O método é baseado na capacidade de absorção de radiação ultravioleta (UV) a 280nm pelos anéis aromáticos, cuja concentração obedece à lei de Lambert-Beer

(HARBERTSON; SPAYD, 2006). A amostra foi diluída em água destilada a 2% e lida em espectrofotômetro (Varian 50 Bio UV/Vis ®) a 280nm, em cubetas de quartzo, com percurso ótico de 1cm, e os resultados expressos através da absorvância, considerando o fator de diluição.

- **Concentração de polifenóis totais**

O reagente Folin-Ciocalteu é uma mistura dos ácidos fosfomolibidênico e fosfotungstênico, e o método está baseado em reações iniciais de redução dos compostos fenólicos a íons fenolatos, finalizada pela alcalinização do meio. Estas reações levam a alterações na coloração (amarelo para azul), determinadas por espectrofotometria (HARBERTSON; SPAYD, 2006). O conteúdo total de polifenóis foi medido espectrofotometricamente a 725 nm, após diluição a 0,1% e reação com reagente fenólico Folin-Ciocalteu estabilizada com solução saturada de carbonato de sódio (MIRA *et al.*, 2008). Para quantificação foi empregada uma curva padrão (Figura 9) com solução de ácido gálico (5,70 a 2,80 mg.L⁻¹ em equivalente de ácido gálico). Os resultados foram expressos, com base em curva analítica, em mg.L⁻¹ de equivalentes de ácido gálico (ARNOUS *et al.*, 2001).

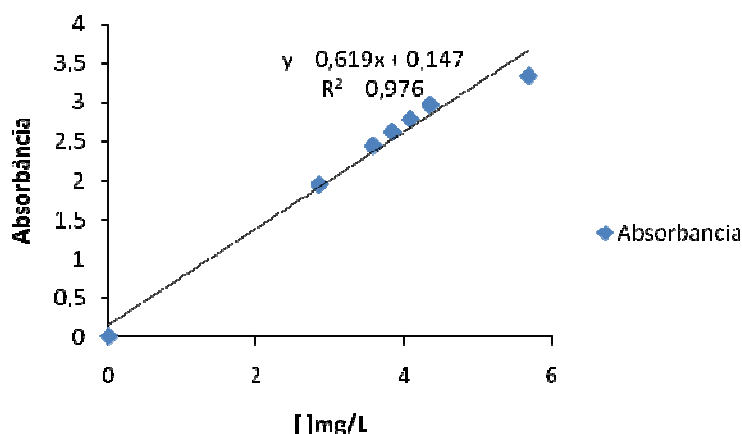


Figura 9: Gráfico da curva analítica, em mg.L⁻¹ de equivalentes de ácido gálico.

- **Antocianinas**

A determinação das antocianinas totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de diferencial de pH, através da transformação na estrutura cromófora das antocianinas em meio ácido (SILVA *et al.*, 2015). Foi feita a análise pela variação de absorbância entre amostras tratada com solução de ácido clorídrico a 2 % em água destilada e com solução tampão – fosfato dissódico/ácido cítrico (pH

3,5). A concentração de antocianina livre, expressa em mg.L^{-1} de malvidina, foi obtida pela diferença da absorbância, a 520nm. Na determinação das concentrações foi considerado o fator de linearidade de 388 (SILVA et al., 2015).

- **Taninos condensados**

O teor de taninos condensados dos vinhos foram determinados pelo método vanilina/HCl como descrito por PRICE, (1978) modificado por RODRIGUES et al., (1998) e WU et al., (2016). O reagente de Vanilina/HCl (volumes iguais de 2% de vanilina em metanol e 8% de HCl concentrada em metanol) foi preparado. Em 1ml do vinho adicionou-se 5ml de reagente de vanilina/HCl. A absorbância da solução resultante foi medida a 500nm após 1 minuto à temperatura ambiente num espectrofotômetro (Varian 50 Bio UV/Vis ®)).

A catequina foi utilizada como padrão para a curva de calibração com concentrações em mg/mL de 0,182; 0,364; 0,910 e 1,82 respectivamente com $R^2 = 0,968$ como mostra a figura 10. Para o cálculo do doseamento dos taninos utilizou-se a equação da curva padrão de catequina ($y = 0,025x - 0,003$). O teor de tanino condensado foi expresso como amostra de equivalentes de gramas da Catequina (CE). mg^{-1} .

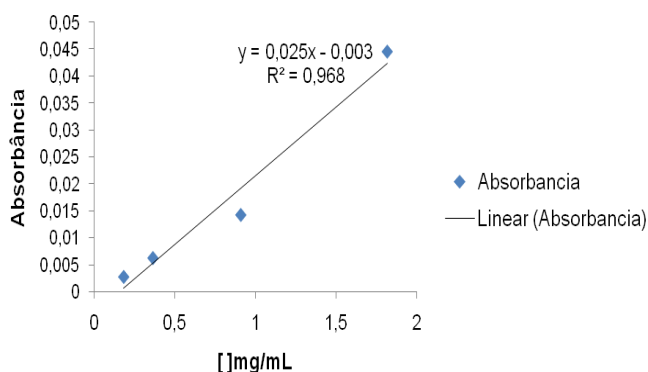


Figura 10: Curva de calibração de taninos condensados - concentração de catequina em mg/mL versus absorbância (abs); $R^2 = 0,968$.

- **Perfil fenólico**

Para identificar os flavonóis (rutina, miricetina, quercetina e caempferol), ácidos fenólicos (gálico, vanílico, caféico, p-cumárico, elágico, ferúlico e siríngico), flavanóis (catequina e epicatequina) e estilbenos (*cis*- e *trans*- resveratrol) foi utilizado o

cromatógrafo líquido de alta eficiência (*Ultimate 3000 Dionex®*), com coluna analítica *Acclaim®120 Dionex C-18* - 250 mm x 4,6 mm, 5 µm (Figura 8). Os flavonóis, ácidos fenólicos, flavanóis e estilbenos foram identificados e quantificados com fluxo da fase móvel 0,5 mL.min⁻¹, temperatura do forno de 36° C, volume de injeção de 20µL e comprimentos de onda de 280, 320, 368 e 372nm. A fase móvel foi constituída pela mistura gradiente de metanol e solução aquosa de ácido fórmico. A quantificação foi realizada por meio de curva analítica em metanol, com padronização externa e as amostras diluídas a 10% com metanol e filtradas a 0,45µm (LIMA *et al*, 2011; PORGALI & BYUKTUNCEL, 2012).



Figura 11. Cromatógrafo Ultimate 3000 Dionex®, com degasificador, bomba quartenária, forno e detector UV/Vis.

5.1.3. Determinação da atividade antioxidante “*in vitro*” pelo método DPPH* (2,2-difenil-1- picrilhidrazila)

Este método é baseado na reação de transferência de elétrons que produz uma solução violeta em metanol (HUANG, 2005). Este radical livre, estável à temperatura ambiente, é reduzido na presença de uma molécula antioxidante, dando origem a uma solução incolor de metanol. Conforme metodologia descrita por NIXDORF e HERMOSÍN-GUTIERREZ (2010) e PORGALI & BÜYÜKTUNCEL (2012) foi avaliada a capacidade de sequestro do radical DPPH*, 100 µL de vinho, diluído em metanol foi adicionado em 2,9 mL de solução metanólica do radical DPPH* (6×10^{-5} mol.L⁻¹). A mistura reagiu ao abrigo da luz por 30 minutos a 25°C e o percentual de redução da absorbância foi medido a 517 nm. A eficiência anti-radical foi estabelecida pelo

percentual de atividade sequestradora (% AS), calculado pela equação: $\%AS = 100 \times (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}$. Onde, A_{controle} é a absorbância da solução que contém radical DPPH $\cdot$ e metanol e A_{amostra} é a absorbância da amostra.

5.2. Experimento 2: ensaios *in vivo*

5.3. Animais e grupos experimentais

O experimento foi submetido e aprovado pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas da UFPE através do processo número 23076.047159/2014-13.

Para a realização dos experimentos *in vivo* foram utilizados 63 ratos da linhagem *Wistar* machos com 45 dias de idade pesando entre 170g e 200g, provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em biotério de experimentação em gaiolas plásticas sob as condições controladas (ciclos de 12h de escuro-luz, $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura, 50-60% de umidade relativa do ar, com ração e água controlada durante todo período experimental). Todos os animais utilizados neste estudo receberam cuidados humanos de acordo com os princípios dos requerimentos legais apropriados à espécie (*Guidling Principles for the Care and Use of Laboratory Animals*) e as diretrizes do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Inicialmente, os ratos foram, aleatoriamente, divididos em 2 grupos (controle, n=31 e ocidentalizado, n=32) (figura 12). A partir dos 45 dias de vida o grupo ocidentalizado foi alimentado com vistas à indução de hiperlipemia, hiperglicemia e peroxidação lipídica durante 22 semanas. A partir dos 170 dias de vida os animais foram subdivididos em três grupos cada para avaliação da ingestão alimentar. Os subgrupos formados foram assim distribuídos: grupo controle com água (GCwa, n=10), controle com solução hidroalcoolica (GCalc, n=10) e controle com vinho tinto (GCwi, n=11); grupos com dieta ocidentalizada com água (GOwa, n=10), dieta ocidentalizada com álcool (GOalc, n=11) e dieta ocidentalizada com vinho tinto (GOwi, n=11) (figura 12). Além de água corrente filtrada, os grupos GCwi, e GOwi receberam por gavagem vinho tinto da cultivar Cabernet Sauvignon, safra de 2014, com teor alcoólico de 12% v/v; os grupos GCalc, GOalc receberam por gavagem

solução hidroalcoolica a 12% v/v diluída a partir de vodca tridestilada com teor alcoólico 38% v/v. O tratamento com vinho tinto e solução hidroalcoolica iniciou na idade de 200 dias de vida e durou 40 dias. Neste periodo, os ratos receberam por gavagem volume de 0,7mL por 100g do rato (PAIVA, 2005). Prévio a administração da gavagem, os animais permaneceram sem alimento por 2 horas para evitar intolerância ou regurgitamento.

Na figura 12 está representado o desenho esquemático dos grupos experimentais manipulados durante o estudo.

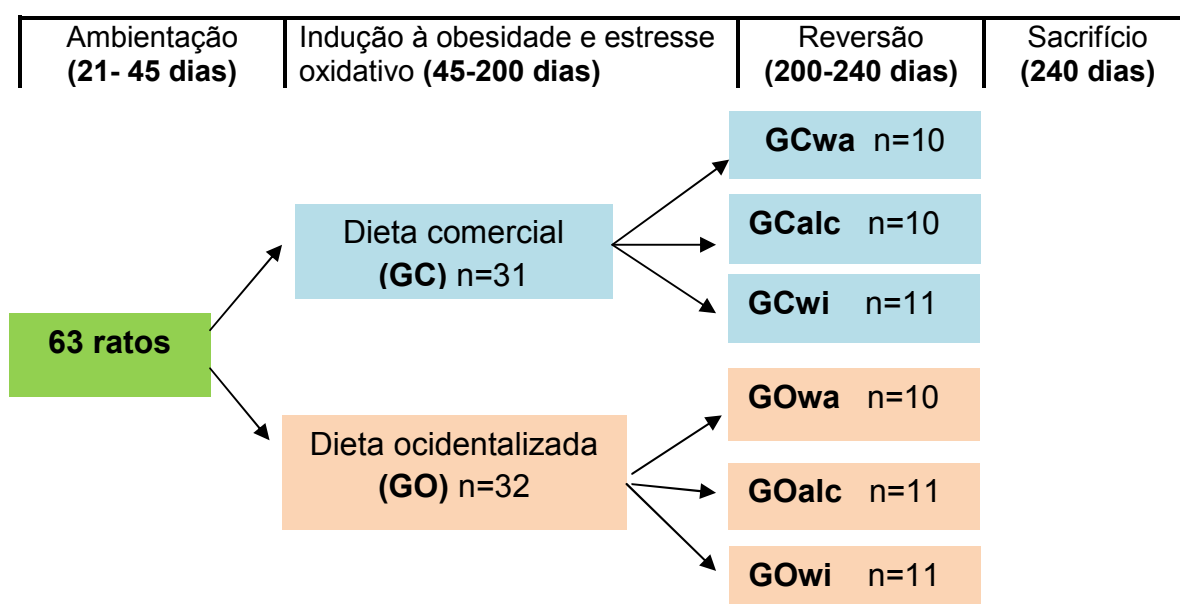


Figura 12. Desenho esquemático dos grupos experimentais

5.3.1. Dieta dos animais

A composição centesimal (g/100g) e a distribuição de Calorias (Kcal/100g) das dietas foram determinadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco:

- A **umidade e matéria volátil** foram determinadas por aquecimento direto a 105°C. A determinação de resíduo por incineração (cinzas) foi feita de acordo com a *American Oil Chemists Society* (1990);
- As **proteínas** foram determinadas através do método de Kjeldahl pesando 1g da amostra e colocando-a no balão de Kjeldahl segundo metodologia de Lutz, (1985);

- Os **lipídios** foram determinados de acordo com *International Standard Organization* (ISO, 1973).

As tabelas 1 e 2 mostram a composição centesimal da dieta em g/100g e a distribuição de calorias em Kcal/100g.

Tabela 1: Composição centesimal da dieta (g/100g).

Nutrientes/Calorias	Dieta Ocidentalizada	Dieta comercial
Proteínas (g/100g)	18,46	24,34
Lipídeos (g/100g)	22,61	3,18
Carboidratos (g/100g)	50,75	56,00
Fibras	4,0	5,0
Cinzas (g/100g)	3,94	7,52
Umidade e substâncias voláteis (g/100g)	4,42	8,96
Calorias (kcal/100g)	4,60	3,5

Tabela 2: Contribuição energética (%) de macronutrientes para o valor energético total.

Nutrientes/Calorias	Dieta Ocidentalizada	Dieta Comercial
Proteínas (%)	14,0	29,0
Lipídeos (%)	43	9
Carboidratos (%)	43	62

A dieta foi adaptada de CAVALCANTE et al., (2014) onde o incremento dos nutrientes citados (gordura, sacarose e sódio) se associa ao aumento dos lipídios séricos (CAVALCANTE et al., 2014) e da peroxidação lipídica (FRANCO et al., 2016).

5.3.2. Análise por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama GC-DIC de ácidos graxos

A extração, metilação e esterificação dos lipídeos foram realizadas de acordo com Lutz (1985) modificado, e a análise dos ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC) Agilent Technology 7890® no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), segundo ARAÚJO et al., (2016). O perfil de ácidos graxos apresentados pelas dietas encontra-se disposto na tabela 3.

Tabela 3: Perfil dos ácidos graxos das dietas

Ácidos graxos	Dieta comercial	Dieta Ocidentalizada
Ácido esteárico (C18:0)	7,00	9,52
Ácido octanoico (C8:0)	0,0	0,0
Ácido decanoico (C10:0)	0,0	0,50
Ácido láurico (C12:0)	0,0	1,09
Ácido mirístico (C14:0)	0,0	3,25
Ácido pentadecanoato (C15:0)	0,0	0,0
Ácido palmítico (C16:0)	18,85	21,54
Ácido heptadecanoato (C17:0)	0,0	0,0
Ácido araquídico (C20:0)	0,0	0,0
Total saturados	25,85	35,9
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,0	0,92
Ácido heptadecanoico (C17:1)	0,0	0,0
Ácido oleico (C18:1)	33,76	32,89
Ácido miristoleico (C14:1)	0,0	0,0
Ácido linoleico (C18:2)	38,61	27,67
Ácido linolênico (C18:3)	1,77	2,62
Total insaturados	74,14	63,18
Total	99,99	100
Razão N6:N3	21,81	10,56
Monoinsaturado	33,76	33,81
Saturados	25,85	35,9
Insaturados	74,14	63,18
Poliinsaturado Razão	2,87	1,76

Os ácidos graxos foram identificados segundo padrão externo (FAME Supelco™ mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA) e seu percentual (%) calculado conforme normalização das áreas dos picos. L – Ração comercial/Labina; DO1 – Dieta Ocidentalizada1; DO2 – Dieta Ocidentalizada 2.

5.3.3. Consumo alimentar

O consumo alimentar dos ratos foi medido através da diferença entre o alimento inicial ofertado e a sobra na gaiola após 24 horas a partir de 45 dias de vida dos ratos (CAVALCANTE et al., 2014), durante todo o período experimental. Os ratos do grupo ocidentalizado receberam alternadamente até o final do período experimental, duas dietas (comercial e ocidentalizada) para evitar a habituação. A dieta rica em açúcares simples, gordura e sódio mimetizava o estilo ocidental de alimentação atual com fins de reproduzir um padrão de ingestão característico de uma dieta “ocidentalizada” e era oferecida durante 5 dias, e, a comercial era ofertada durante 2 dias na semana.

5.3.4. Evolução ponderal

A aferição do peso corporal foi realizada, semanalmente, por meio de balança eletrônica digital, marca Marte XL 500®, classe II, capacidade máxima 2000g (menor divisão 0,001g), durante todo o experimento, entre 6:30 e 7:30 que corresponde ao: período de indução ao estresse oxidativo, alterações bioquímicas e indícios da obesidade (45 a 200 dias de vida). E, entre 13:00 e 14:00h quando realizado o período de tratamento com vistas à reverter os danos oxidativos (200 a 240 dias de vida). O ganho de peso foi determinado por meio da diferença entre o peso final e o peso inicial em cada período de acompanhamento. Em adição, foi obtido o peso de órgãos úmidos (fígado, estômago, gordura epididimal e gordura retroperitoneal) e sua massa foi relativizada pelo peso corporal com fins de detecção de alguma alteração do tamanho do órgão e possível dano funcional. Para a obtenção desses órgãos os animais foram colocados em jejum de 10-12h e anestesiados com dose combinada de Xilazina a 80% e Quetamina a 20%. Após detecção do estado anestésico, foi realizada uma incisão e abertura na região abdominal e os órgãos foram retirados e pesados.

5.3.5. Glicemia e teste oral de tolerância à Glicose (TOTG)

As dosagens de glicemia após jejum de 10 horas foram realizadas em ratos com idade em torno de 200 dias de vida (período antes do tratamento por gavagem) e na idade de 240 dias de vida (período de realização da gavagem). O registro foi realizado pelo aparelho *Accu-Check Active*®, modelo GU, utilizado na determinação de glicose no sangue.

Igualmente, foi realizado o teste oral de tolerância à glicose em idade próxima a 200 e 240 dias, períodos antes e após a gavagem com água, solução hidroalcolica e vinho. Para a realização do TOTG, os animais foram submetidos ao jejum de 6 horas, e, após este período foi obtida amostra de sangue da cauda dos animais por uso de lanceta. Foi coletada a primeira amostra de sangue (tempo 0) para dosagem da glicose basal e subsequentemente administrado por gavagem solução de glicose

a 50%, na dosagem de 2mg/g de peso do animal e mensurada subsequentemente as glicemias nos tempos de 30, 60, 90 e 120min após uso da glicose. A obtenção dos valores glicêmicos foi através do aparelho *Accu-Check Active®*. Posteriormente foi realizada a curva glicêmica e o cálculo da área sob a curva de glicose (ΔG) a partir do método trapezoidal de MATHEWS et al. (1990).

5.3.6. Análises bioquímicas

Aos 240 dias os animais foram sacrificados após jejum de 10-12 horas. Os animais foram anestesiados com fármacos combinados na quantidade equivalente a 40 mg/kg de quetamina a 20% e 10 mg/kg de Xilasina a 80%, por via intraperitoneal. O sangue foi coletado por punção cardíaca em tubos apropriados sem anticoagulante para realizar as dosagens bioquímicas. Em seguida à coleta, o sangue foi centrifugado, a 2500rpm por 20 minutos a temperatura ambiente de $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$, para separação do soro. O soro foi coletado e armazenado, por no máximo 35 dias, em tubos *eppendorfs* em *freezer* $-20^\circ \pm 1^\circ\text{C}$.

A partir das amostras de soro foram efetuadas as análises de glicose, colesterol, triglicérides e HDL-c utilizando os kits Labtest. Os valores de VLDL-c e LDL-c foram calculados a partir da equação de FRIEDEWALD et al. (1972): $LDL\text{ colesterol } mg/dL = \text{Colesterol total} - HDL\text{-colesterol} - (\text{Triglicerídeos}/5)$. Todos os procedimentos seguiram a recomendação do fabricante.

A leitura foi realizada por espectrofotometria, a 550nm, e os resultados foram obtidos após cálculo de conversão dos valores indicados nos kits. Também foi analisado no soro a dosagem de transaminases: glutâmico oxalacético (TGO) e glutâmica pirúvica (TGP), utilizando kits comerciais específicos para as respectivas enzimas.

5.3.7. Atividade enzimática da Catalase e da Superóxido dismutase

Para determinar a atividade da catalase (CAT), o tecido hepático foi homogeneizado em tampão fosfato 50 mM e a suspensão resultante foi centrifugada a 3.000 rpm durante 10min, em centrífuga refrigerada a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático. A atividade de CAT foi medida pela taxa de diminuição da absorbância do peróxido de hidrogênio a 240nm e expressa como U/mg de proteína, tal como descrito anteriormente.

Para determinar a atividade da superóxido dismutase (SOD), o tecido hepático foi homogeneizado em tampão de glicina 50mM usando um homogeneizador Potter-Elvehjem®. A atividade SOD foi avaliada pela medição da inibição da auto-oxidação da adrenalina no homogenato. A atividade da SOD é expressa como U/mg de proteína, tal como descrito em outros ensaios.

5.3.6. Avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARs)

Para a avaliação das espécies reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARs) o tecido hepático foi homogeneizado em tampão fosfato a 50mM, utilizando um homogeneizador Potter-Elvehjem® (DRAPER, 1990). Uma alíquota (200 µL) foi misturada com ácido tricloroacético 15% (400µL), centrifugaram-se por 10min (4.000rpm) , em centrífuga refrigerada a 4°C, e o sobrenadante foi misturado com igual volume de ácido tiobarbitúrico a 0,67%. Este sistema foi aquecido em banho-maria durante 15min e o TBARS foi determinado por espectrometria com comprimento de onda de 535 nm. A concentração de proteína foi avaliada pelo ensaio de Lowry e os resultados são expressos como nmol de TBARS/mg de proteína (equivalentes de MDA).

5.3.7. Grupos sulfidrila em proteínas

O teor de tiol total (grupos sulfidrílicos - SH) no tecido hepático foi determinado utilizando o método do 5,5-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) (AKSENOV, 2001). Foi misturado 30µL do tecido hepático com 1mL de PBS/1mM EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30µL de 10mM de solução estoque de DTNB em PBS. As amostras de controle, que não incluem DTNB ou proteína, foram executadas simultaneamente (BULAT, 1998). Após incubação de 30min à temperatura

ambiente, a absorbância a 412nm foi medida e as quantidades de TNB formadas (equivalente à quantidade de grupos sulfidrílicos) foram calculadas.

5.3.8. Análises estatísticas dos dados

As análises *in vitro* foram realizadas em triplicata e os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Para comparar os resultados foi aplicada a análise de variância (ANOVA) com testes de Duncan e Tukey ($p < 0,05$) para identificar possíveis diferenças entre as médias. Foi utilizado o programa *statistic for Windows* 6.0 ao nível de 5% de significância.

Para os estudos *in vivo* utilizou-se o teste de normalidade de Kolmogorov Smirnov. Na avaliação entre os múltiplos grupos utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), seguidos do teste de Bonferroni, quando detectada a diferença entre os grupos. Na avaliação intragrupo foi utilizado o teste “t” de Student pareado. Os resultados estão apresentados como média e desvio padrão. A análise foi feita no Graphpad Prism® versão 2007 (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, USA, Demo). Para todas as análises adotou-se a significância de 5%.

6. RESULTADOS

6.1. Parte 1 — Características fenólicas dos vinhos e sua atividade antioxidante *"in vitro"*

A caracterização fenólica dos vinhos do Vale do São Francisco mostra grande diversidade nos índices avaliados como intensidade de cor, fenólicos, antocianinas, taninos condensados e perfil fenólico. No entanto, a avaliação da atividade antioxidante *in vitro* mostra grande homogeneidade para o vinho Cabernet Sauvignon que também apresenta mais evidências científicas em estudos comparados ao vinho Syrah.

A tabela 4 mostra a variação dos parâmetros cromáticos dos vinhos tintos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon encontradas no nosso estudo.

Tabela 4: Parâmetros cromáticos de vinhos Syrah e Cabernet Sauvignon das safras de 2011, 2013 e 2014.

Amostra	IC	T	% amarelo	% vermelho	% azul
CS I 11	11.13±0.26 ^c	1.02±0.018 ^a	43.58±0.06 ^a	43.73±0.07 ^c	12.69±0.04 ^{c,a}
CS II 13	15.03±0.43 ^a	0.74±0.01 ^c	37.03±0.02 ^c	50.65±0.03 ^a	12.32±0.05 ^{a,b}
SY I 13	14.03±0.49 ^b	0.72±0.01 ^c	36.71±0.03 ^c	50.64±0.07 ^a	12.65±0.05 ^a
CS III 14	10.64±0.16 ^c	0.92±0.01 ^b	41.91±0.16 ^b	45.96±0.19 ^b	12.13±0.04 ^a
SY II 14	8.08±0.10 ^d	0.72±0.01 ^c	36.66±0.02 ^c	50.98±0.02 ^a	12.35±0.01 ^a

Intensidade de cor (IC), tonalidade (T), porcentagem de amarelo (% amarelo), porcentagem de vermelho (% vermelho) e porcentagem de azul (% azul); Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14). Análise de variância (ANOVA) de um jeito seguido pelo pós-teste de Bonferonni. Diferentes letras, na coluna, indicam variação de significância ($p < 0,05$).

A figura 13 mostra a variação dos parâmetros de índice de polifenóis totais (I280nm), polifenóis totais expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG em mg / L⁻¹) e antocianinas de vinhos estudados em mg / L⁻¹.

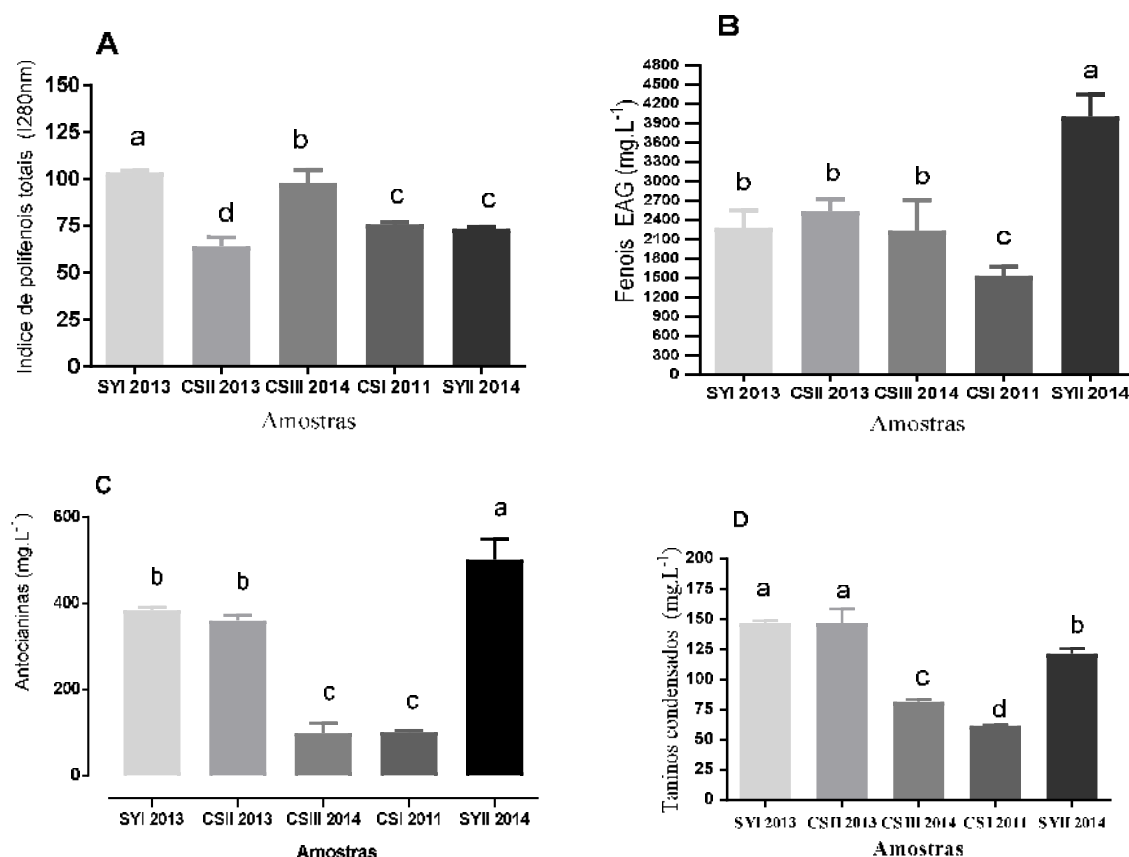


Figura 13. Índice total de polifenóis (A), fenóis globais de concentração expressos como equivalentes de ácido gálico (B), antocianinas totais expressas em mg.L⁻¹ de malvidina 3-glucose, (C) taninos condensados em mg.L⁻¹ (D) dos vinhos Cabernet Sauvignon e Syrah. Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14). ANOVA one way seguido pelo pós-teste de Bonferonni. Letras diferentes indicam variação de significância (p <0,05).

Em relação ao índice total de polifenóis (figura 13A), os resultados apresentaram médias variando de 103,6 na Syrah de 2013; 64,06 em Cabernet Sauvignon de 2013; 97,83 em Cabernet Sauvignon, de 2014; 75,87 em Cabernet Sauvignon de 2011 e 73,48 em Syrah de 2014. No entanto, esses vinhos não mostraram diferenças significativas (P <0,05) para o teor total de polifenóis entre os vinhos Cabernet Sauvignon 2011 e 2014 Syrah.

A média do conteúdo fenólico total expresso em equivalente de ácido gálico (figura 13B) variou nas amostras em cerca de 456,3 mg/L⁻¹ no vinho Syrah de 2013; 506,6 mg /L⁻¹ no Cabernet Sauvignon 2013; 446,6 mg/L⁻¹ no Cabernet Sauvignon, 2014; 305,8 mg/L⁻¹ no Cabernet Sauvignon de 2011 e 800,8 mg/L⁻¹ no Syrah de 2014. Não

observamos diferenças significativas entre os vinhos Syrah de 2013, Cabernet Sauvignon de 2013 e Cabernet Sauvignon de 2014 ($p < 0,05$).

O teor de antocianinas (figura 13C) variou em média de $384,3 \text{ mg/L}^{-1}$ no vinho Syrah de 2013; $359,7 \text{ mg/L}^{-1}$ no Cabernet Sauvignon 2013; $98,94 \text{ mg/L}^{-1}$ no Cabernet Sauvignon, 2014; $101,3 \text{ mg/L}^{-1}$ no Cabernet Sauvignon 2011; $501,2 \text{ mg/L}^{-1}$ no Syrah de 2014. Enquanto que o conteúdo de taninos condensados em nosso estudo (Figura 13D) mostrou diferenças significativas nas cultivares Cabernet Sauvignon de 2011 com $61,08 \text{ mg/g}$, a cultivar Cabernet Sauvignon de 2014 com $80,83 \text{ mg/g}$ e Syrah de 2014 com $121,27 \text{ mg/g}$, enquanto que as cultivares Syrah de 2013 com $147,74 \text{ mg/g}$ e Cabernet Sauvignon de 2013 com $146,89 \text{ mg/g}$ não apresentaram diferenças significativas entre si.

O perfil fenólico das amostras de vinho tinto de Cabernet Sauvignon e Syrah analisadas em nosso estudo (tabela 5) apresentou valores médios de ácido gálico variando de $29,78$ a $38,05 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Cabernet Sauvignon e $58,26$ a $69,05 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Syrah. A catequina variou de $32,99$ a $81,00 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Cabernet Sauvignon. Os valores médios de ácido vanílico variaram de $4,43$ a $44,36 \text{ mg/L}^{-1}$.

Entretanto, o Resveratrol apresentou valores médios variando de $2,75$ a $26,89 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Cabernet Sauvignon e $10,66$ a $10,48 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Syrah, o Ácido de siríngico variou entre $1,42$ a $0,56 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Cabernet Sauvignon e $0,34$ a $5,38 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Syrah. O ácido caféico variou em média de $7,81$ a $15,16 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Cabernet Sauvignon e $33,02$ a $38,10 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Syrah.

Para o ácido ferulico observamos variações médias de $3,94 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Cabernet Sauvignon e de $2,06$ a $3,11 \text{ mg/L}^{-1}$ nos vinhos Syrah. Mircetina com valores médios de $1,79$ a $14,76 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Cabernet Sauvignon e $0,62$ a $3,07 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Syrah, a quercetina variou de $12,52$ a $25,84 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Cabernet Sauvignon e $9,26$ a $13,66 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos de Syrah, Campferol com $0,22$ a $0,75 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos de Cabernet Sauvignon, Rutina Com valores médios variando de $0,56$ a $4,77 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos de Cabernet Sauvignon, $5,02$ a $5,29 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos Syrah e Ácido Cumarico apresentaram valores médios variando de $1,09$ a $1,09$ a $1,68 \text{ mg/L}^{-1}$ em vinhos de Cabernet Sauvignon.

Tabela 5. Perfil fenólico dos vinhos tintos tipo Cabernet Sauvignon nas safras 2011, 2013 e 2014 do Vale do São Francisco.

Componentes	Concentração nos vinhos (mg.L ⁻¹)				
	SY I 13	CS II 13	CS III 14	CS I 11	SY II 14
Ácido Gálico	58.26±0.26 ^a	29.78±0.13 ^b	38.05±0.82 ^a	32.73±0.00 ^b	69.05±0.00 ^a
Ácido Vanílico	4.80±0.05 ^c	4.43±0.12 ^c	44.36±0.75 ^a	3.12±0.00 ^d	6.13±0.00 ^b
Ácido Siringico	5.38±0.22 ^a	1.42±0.01 ^{b,a,c}	0.56±0.00 ^{c,d,b}	ND	0.34±0.00 ^{d,c}
Ácido Cafeico	38.10±0.23 ^a	7.81±0.35 ^d	15.16±0.30 ^c	ND	33.02±0.00 ^b
Ácido Ferulico	3.11±0.15 ^a	ND	3.94±0.00 ^a	ND	2.06±0.00 ^b
Ácido Cumárico	ND	1.09±1.00 ^b	1.68±0.00 ^a	ND	ND
Ácido Elágico	ND	ND	ND	ND	ND
Catequina	45.73±0.08 ^b	32.99±2.11 ^c	57.27±0.04 ^b	81.00±0.00 ^a	29.05±0.00 ^d
Resveratrol	10.66±0.05 ^b	2.75±0.05 ^c	2.67±0.52 ^a	2.89±0.00 ^a	10.48±0.00 ^b
Miricetina	3.07±0.14 ^b	1.79±0.03 ^d	2.75±0.13 ^{c,b}	1476±0.00 ^a	0.62±0.00 ^{c,d}
Quercetina	13.66±0.30 ^b	25.84±0.09 ^a	12.52±0.19 ^b	ND	9.26±0.00 ^c
Kaempferol	ND	0.22±0.02	0.75±0.00	ND	ND
Rutina	5.29±0.03 ^a	0.56±0.00 ^d	4.77±0.00 ^c	ND	5.02±0.00 ^b

As médias e desvios padrão com letras iguais na horizontal não diferem significativamente entre si por ANOVA one way seguido de testes de Benferoni ($p < 0,05$). ND - não detectável; Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14).

Os resultados do nosso estudo sobre a actividade antioxidante (Figura 14) determinados pelo método de 2,2-difenil-1-picrilidrazilo (DPPH*) expressos como percentagem da actividade de sequestro de radicais livres (%SRL), (figura 14) mostraram valores médios variando 58,02% no vinho Syrah de 2013; 82,32% em Cabernet Sauvignon 2013; 85,08% em Cabernet Sauvignon, 2014; 83,34% em Cabernet Sauvignon em 2011 e 95,70% em Syrah de 2014. Diferenças significativas foram encontradas nos vinhos Syrah e a ausência de significância foi observada entre os vinhos Cabernet sauvignon.

A figura que se segue (Figura 14) mostra a atividade antioxidante dos vinhos Syrah e Cabernet Sauvignon analisados em nosso estudo.

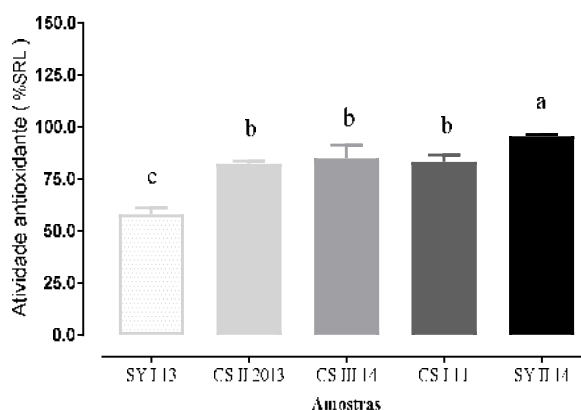


Figura 14. Atividade antioxidante, porcentagem de atividade de seqüestro de radicais livres (%SRL) de DPPH* em vinhos de Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14). ANOVA one way seguido pelo pós-teste de Bonferonni. Letras diferentes indicam variação de significância ($p < 0,05$).

A tabela 6 mostra as correlações entre os diferentes parâmetros dos vinhos Cabernet Sauvignon e Syrah das safras de 2011, 2013 e 2014.

Tabela 6: Correlações entre a atividade antioxidante (%SRL) e os diferentes parâmetros de vinhos de Cabernet Sauvignon de 2011, 2013, 2014 e Syrah 2014.

%SA of the samples	Correlation coefficient (r^2)					
	IPT	IC	T	ANT	PT	TN
CS II 13	0.543*	0.503*	0.114	0.588*	0.500*	0.555**
CS III 14	0.940*	-0.083	0.250	0.085	0.283	0.269
CS I 11	-0.144	0.361	0.139	-0.877**	-0.144	-0.565
SY II 14	-0.116	-0.003	-0.318	0.142	-0.116	0.865**
SY I 13	-0.354	-0.177	-0.038	0.230	-0.227	0.423

A correlação da pessoa é significativa para ($p < 0,05$ *) e ($p < 0,01$ **), 2-tailed eo intervalo de confiança é 95%. Os valores indicam o coeficiente de correlação de Person- r^2 da atividade de eliminação de radicais livres (% SA). Cabernet Sauvignon da vinícola I de 2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon da vinícola III de 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon da vinícola II de 2013 (CS II 13); Syrah da vinícola I de 2013 (SY I 13); e Syrah da vinícola II de 2014 (SY II 14), índice total de polifenóis (IPT); intensidade de cor (IC); tonalidade (T); antocianinas (ANT); polifenóis totais (PT); taninos (TN).

O vinho Cabernet Sauvignon 2013 obteve uma associação positiva moderada entre o teor total de polifenóis (IPT), o índice de cor (CI), antocianinas (ANT) e o teor total de polifenóis equivalente ao ácido gálico com atividade antioxidante (ASRL), ($r^2 > 0,5$). O vinho Cabernet Sauvignon de 2014 teve uma forte associação positiva entre o índice fenólico total e a atividade antioxidante (ASR) ($r^2 > 0,9$), enquanto o Cabernet

Sauvignon da safra 2011 teve uma forte associação inversa entre antocianinas (ANT) e atividade antioxidante (ASRL) ($r^2 < -0,8$). No entanto, não observamos relações entre os parâmetros analisados com a atividade antioxidante nos vinhos Syrah de cultivares 2013 e 2014.

6.2. Parte 2 – estudos “*in vivo*” na fase de indução ao estresse oxidativo (45 a 200 dias de vida)

A partir dos resultados da atividade antioxidante *in vitro*, utilizamos a cultivar cabernet sauvignon e a sua melhor safra para avaliar a atividade antioxidante *in vivo* e outros parâmetros metabólicos.

Em função do intercalado consumo de dietas (ocidentalizada e comercial), observa-se uma diferença de peso a partir da 2ª semana de uso da dieta até a 20ª semana. Essa diferença variou de 14% a 12% no grupo ocidentalizado – GO comparado ao grupo controle – GC (figura 15A). Observa-se também que esta diferença ocorreu nas primeiras semanas de uso da dieta (figura 15B) com diferença de ganho de peso detectada no período de acompanhamento da 1ª a 10ª semana (GC=177.1±7.2g; GO=211.0±6.5g, $p < 0.001$) e sem diferenças (figura 15C) quando este foi determinado entre a 11ª e 20ª semana de acompanhamento. Os resultados sugerem que os animais parecem ser mais responsivos a mudança de peso corporal nas primeiras semanas de uso da dieta e com a manutenção desta diferença até o final do período de acompanhamento.

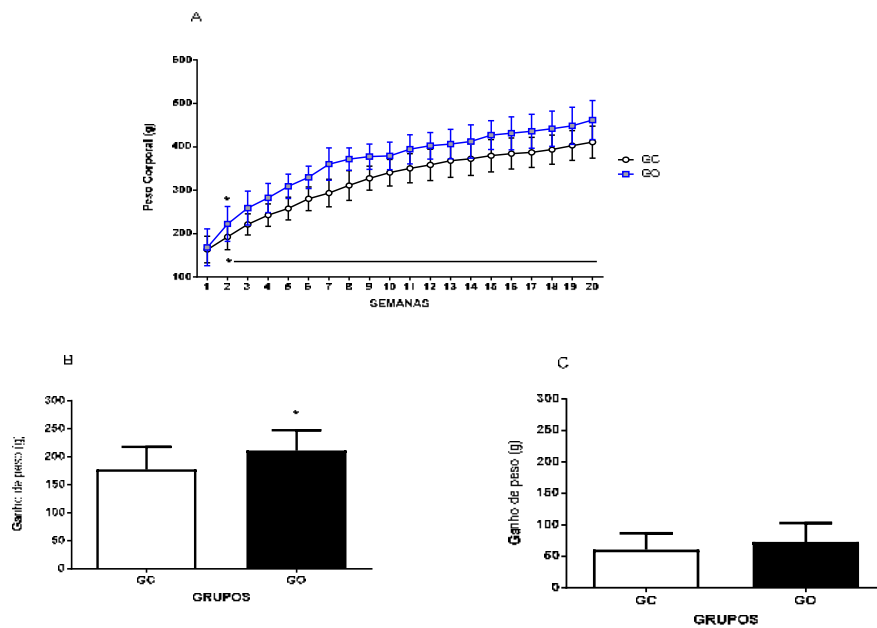


Figura 15. Evolução do peso corporal (g) de ratos submetidos a dieta controle (GC, n=31) e ocidentalizada (GO, n=32) durante 22 semanas (A), ganho de peso corporal da 1^a a 10^a semanas (B) e de 11^a a 20^a semanas de acompanhamento (C). Teste *two way RM ANOVA* (A) e teste “*t*” de Student (B,C) (**p* < 0,05).

Ao se observar a ingestão média de alimento (figura 16A) e de quilocalorias (figura 16B) ingeridos no período por animal, detecta-se uma menor ingestão de alimento no grupo GO comparado ao GC (20% menor no GO, *p* < 0.001) e um maior consumo energético do GO comparado ao GC (12% a mais, *p* < 0.001).

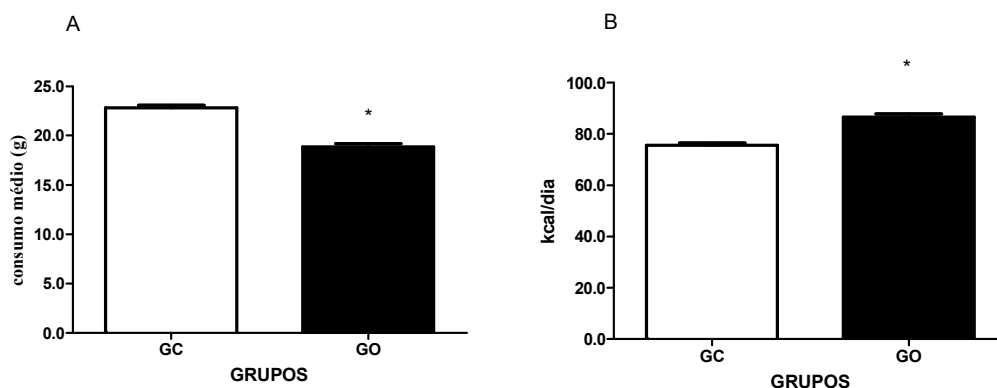


Figura 16. Consumo alimentar médio (figura 16A) (g/100g) e ingestão energética (figura 16B) entre os grupos controle (GC, n=31) e ocidentalizado (GO, n=32). Dados expressos em média e desvio padrão. Teste “*t*” de Student. (B), **p* < 0,05.

A figura 17 mostra a variação dos níveis de glicemia em jejum medido em mg/dL (figura 17A) pelo teste de tolerância oral a glicose a partir da glicemia basal e posteriormente aos 30, 60, 90 e 120 minutos. A alteração na glicemia basal é evidente, e nota-se no grupo GO que aos 90 e 120min ocorre reduzido poder de decaimento da glicose aos níveis basais. Na figura 17B encontra-se a área sob a curva da glicose do GC e GO corroborando a intolerância observada em 3 pontos da curva glicêmica, onde o grupo GO apresenta maior área que o grupo GC.

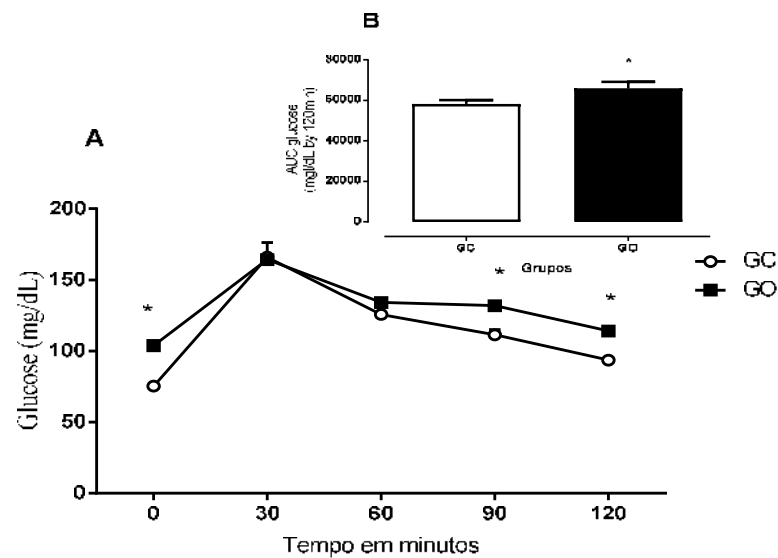


Figura 17. Teste oral de tolerância a glicose (figura 17A) e área sob a curva do gráfico (figura 17B) de ratos do grupo controle (GC, n=31) e ratos com dieta ocidentalizada (GO, n=32) aos 200 dias de vida. Teste two way RM ANOVA (A) e teste “t” de Student (B), (*p <0,05)

6.3. Parte 2 — estudos “in vivo” na fase de gavagem com solução hidroalcoólica e vinho tinto (200 a 241 dias de vida).

Após 40 dias de uso de vinho tinto ou solução hidroalcoólica, foi observado diferente perfil de tolerância à glicose no GC (figura 18A) e no GO (figura 18B). Tanto o uso de solução hidroalcoólica quanto de vinho tinto mostrou melhor responsividade de tolerância a glicose comparado aos respectivos grupos controles (GCwa e GOwa) e entre GCwi e GCalc ainda ocorreu diferença aos 30min (figura 18A). No grupo GO, o vinho foi bem mais efetivo que a solução hidroalcoólica em melhorar a responsividade à glicose comparado ao grupo GOwa (figura 18B).

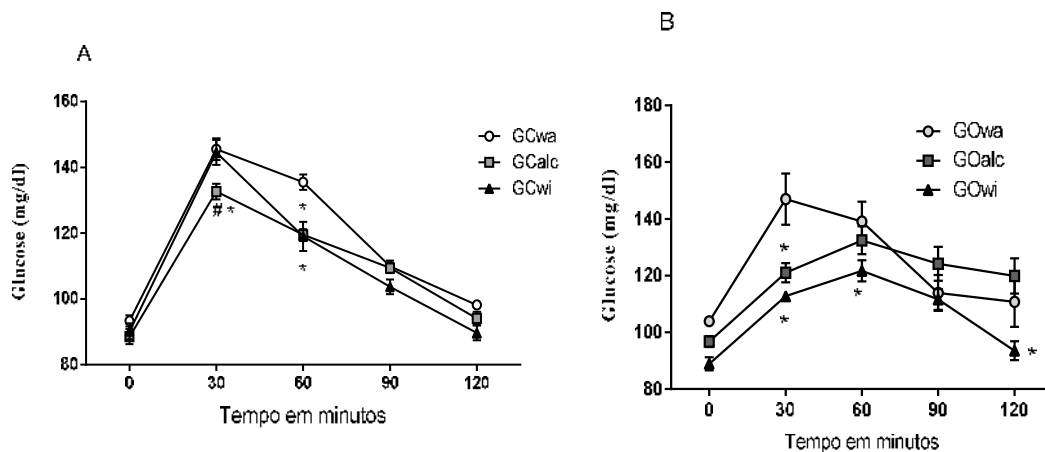


Figura 18. Teste oral de tolerância a glicose após jejum de 10h e aos 30, 60, 90 e 120 minutos a seguir a solução oral de glicose. Grupos: controle com água (GCwa, n=10), controle com solução hidroalcoólica (GCalc, n=10) e controle com vinho tinto (GCwi, n=11); dieta ocidentalizada com água (GOwa, n=10), dieta ocidentalizada com álcool (GOalc, n=11) e dieta ocidentalizada com vinho tinto (GOwi, n=11). Teste two way RM ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ vs respectivo grupo água e #vs respectivo grupo vinho.

A avaliação da glicemia entre grupos não demonstrou diferença entre GOwa e GCwa, mas sim entre GOwi e GCwi no tempo de 30 minutos (GOwi = $112,7 \pm 6,40$ mg/dL; GCwi = $144,5 \pm 10,7$ mg/dL). Houve diferenças ($p < 0,05$) entre o GOalc e GCalc aos 90 minutos (GOalc = $124,1 \pm 18,0$ mg/dL; GCalc = $109,3 \pm 5,28$ mg/dL) e aos 120 minutos (GOalc = $119,19 \pm 18,5$ mg/dL; GCalc = $94,1 \pm 6,96$ mg/dL) ($p < 0,05$).

Os resultados da glicemia, após ingestão de vinho e solução hidroalcoólica, referentes aos diversos pontos da curva após a sobrecarga de glicose foram corroborados a partir da área sob a curva glicêmica nos grupos controles (Figura 19A) e ocidentalizados (Figura 19B). Ambos os grupos, os alimentados com dieta controle e os alimentados com dieta ocidentalizada que ingeriram vinho ou bebida alcoólica mostraram menor área sob a curva glicêmica comparada aos seus pares controles que ingeriram água. (Figura 19A,B).

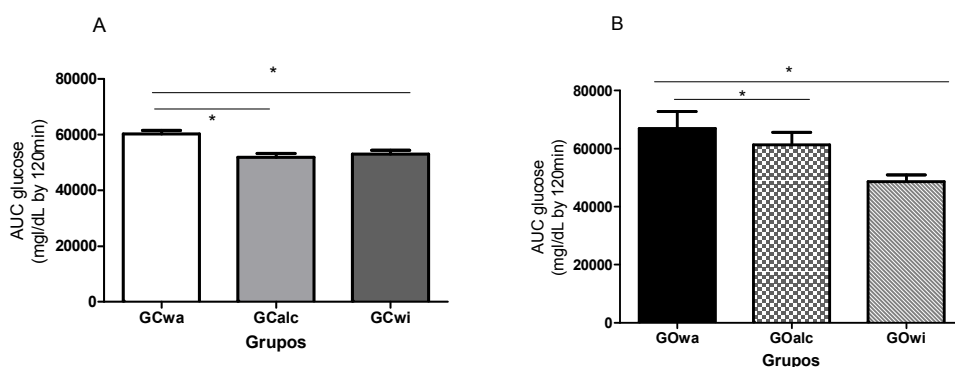


Figura 19. Área sob a curva da glicose dos grupos controle com água (GCwa, n=10), controle com solução hidroalcoolica (GCwa, n=10) e controle com vinho tinto (GCwi, n=11), oxidalizado com água (GOwa, n=10), oxidalizado com álcool (GOalc, n=11) e grupo oxidalizado com vinho tinto (GOwi, n=11). Teste *one way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. Resultados em média e desvio padrão. Diferenças significativas * $p < 0,05$ vs respectivos grupos com água.

A variação média de o consumo alimentar (figura 20A) e energético (figura 20B) dos grupos 30 dias antes do período de realização da gavagem com solução hidroalcoolica e vinho tinto encontra-se apresentada na figura 20 (A,B). E a ingestão de alimento e energia durante o período de gavagem com uso de solução hidroalcoolica, de vinho ou de água segundo os grupos alimentados com dieta controle ou oxidalizada, encontra-se representada na figura 20C e 20D, respectivamente.

Os gráficos mostram que antes da gavagem os grupos GO ingeriram menos alimento e mais energia que os grupos GC ($p < 0,05$). Mas na fase da gavagem com uso de solução hidroalcoolica e de vinho tinto, observaram-se diferenças entre os grupos GOwa GCwa (quantidade de alimento e energia) e entre os grupos em uso de solução hidroalcoolica (GOalc) ou vinho (GOwi) comparado ao seu par controle tratado com água (GOwa).

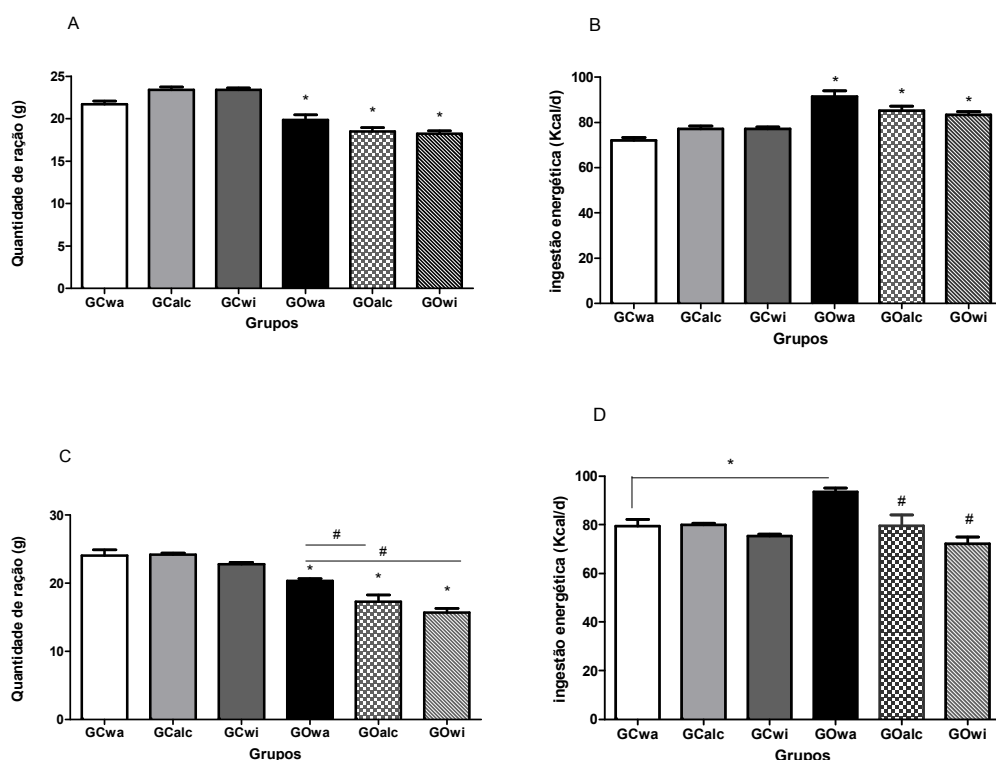


Figura 20. Consumo alimentar (A) e energético (B) 30 dias antes da gavagem de grupos controles (GCwa, n=10; GCalc, n=10; GCwi, n=11) e o consumo alimentar (C) e energético (D) de grupos ocidentalizados (GOwa, n=10; GOalc, n=11; GOwi, n=11) durante o período de gavagem. Teste *one way* ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni. *p < 0.05 vs grupos controles e #p < 0.05 vs grupos ocidentalizados.

Em conjunto com a alteração de consumo alimentar no grupo alimentado com dieta ocidentalizada durante a gavagem, observou-se: um aumento de peso em torno de 23% no GOwa comparado com GCwa. Nos grupos ocidentalizados ocorreu redução da ingestão em torno de 14% a 15% nos grupos GOalc e GOwi comparados ao ingerido pelo GOwa (GCwa= 409.0±35.1; GCalc=419.5±33.9; GCwi=409.0±21.6; GOwa=506.1±46.1; GOalc=431.6±31.2; GOwi=413.0±36.4g) (p<0.05).

Os resultados apresentados na tabela 7 indicam que a dieta ocidentalizada causou elevação da glicemia, triglicerídeos, colesterol e na VLDL-c em animais alimentados com dieta ocidentalizada, enquanto o uso de vinho reduziu esses parâmetros em ambos os grupos dietéticos tratados com vinho quando comparados aos seus pares controles e ao grupo que ingeriu solução hidroalcolica dentro de cada grupo (GOalc x GCalc). O grupo GOwi mostra redução do colesterol na comparação intragrupo, reforçando o efeito do uso de vinho em animais alimentados com dieta ocidentalizada.

Tabela 7. Níveis séricos de glicose, colesterol, triglicerídeos, Lipoproteínas de alta densidade (HDL)-; Lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e razão TG/HDL.-

Variáveis (mg/dL)	GCwa	GCalc	GCwi	GOwa	GOalc	GOwi
Glicose	156.3±9.07	249.5±14.8*	164.5±7.5 ^{δα}	266.7±18.6*	238.5±11.3	176.6±14.9 ^{#δ}
Triglicerídeos	62.8±6.9	84.3±9.2*	56.1±7.01 ^{*δ}	92.9±9.1*	90.7±16.6	57.7±6.4 ^{#δ}
Colesterol	48.5±5.2	68.5±4.7*	51.0±4.9	68.4±3.4*	74.5±1.4	50.3±3.8 ^{#δ}
VLDL-c	12.6±1.4	16.9±1.8*	11.2±1.4 ^{*δ}	18.6±1.8*	19.7±3.3	11.5±1.3 ^{#δ}
HDL-c	32.4±1.6	39.2±2.3	29.7±1.6 ^δ	35.6±2.9	37.3±2.9	28.6±2.3 ^δ
TG/HDL-c	1.9±0.2	2.5±0.2	1.6±0.3	2.6±0.4	2.4±0.3	2.0±0.2

Dados em média e desvio padrão. Grupos: controle com água – GCwa, n=10; controle com solução hidroalcolica – GCalc, n=10; controle com vinho – GCwi, n=11 e grupos ocidentalizado com água – GOwa, n=10; ocidentalizado com solução hidroalcolica – GOalc, n=11; ocidentalizado com vinho – GOwi, n=11. Teste *one way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. O número de animais variou entre 10-11 por grupo. P<0,05 *vs respectivos grupos controles; [#]vs wa intragrupo; ^δvs alc intragrupo.

A avaliação do peso úmido de órgãos (tabela 8), mostrou que o grupo GOwi apresentou um menor peso do fígado comparado ao GCwi, enquanto que o GOwa mostrou menor peso do estômago que seu par controle, o GCwa.

A avaliação da gordura epididimal, retroperitoneal e abdominal total mostraram que os grupos alimentados com dieta ocidentalizada acumularam mais gordura que os alimentados com dieta controle e que o uso de solução hidroalcolica ou vinho influenciou na redução da gordura dos animais alimentados com dieta ocidentalizada, mas não mostrou alteração nos grupos alimentados com dieta controle.

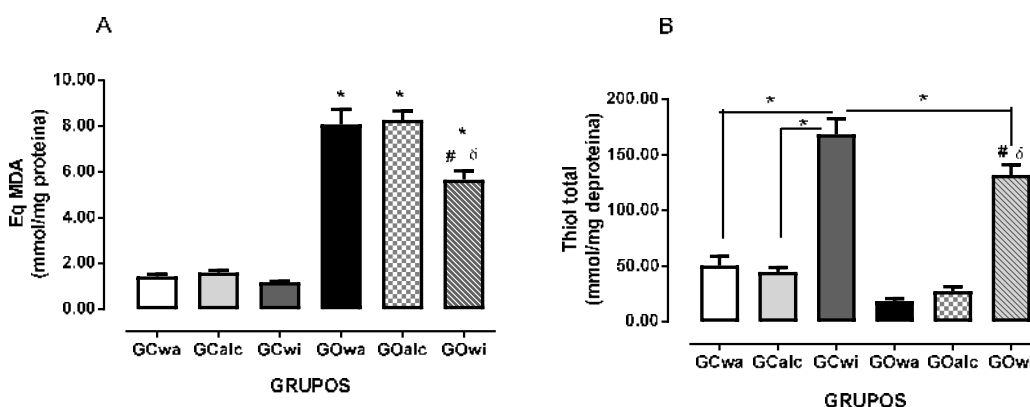
Tabela 8: Efeito do álcool e vinho tinto sobre o peso do fígado, do estômago e de compartimentos de gordura visceral

Órgãos (g/100g)	GCwa n=10	GCalc n=10	GCwi n=11	GOwa n=10	GOalc n=11	GOwi n=11
Fígado	2.65±0.08	2.61±0.06	3.00±0.06	2.60±0.13	2.92±0.06	2.54±0.10*
Estômago	0.51±0.02	0.50±0.02	0.44±0.02	0.40±0.01*	0.44±0.02	0.44±0.02
Gordura epididimal	1.14±0.06	1.33±0.06	1.41±0.07	2.21±0.09*	1.45±0.11 [#]	1.92±0.12 ^{*δ}
Gordura retroperitoneal	2.4±0.070	2.22±0.06	2.01±0.15	3.55±0.14*	2.33±0.25 [#]	2.51±0.09 [#]
Gordura abdominal	3.51±0.07	3.56±0.09	3.43±0.20	5.75±0.21*	3.79±0.31	4.43±0.19 [#]

Peso úmido de órgãos de ratos alimentados com dieta controle e ocidentalizada tratados com água (GCwa e GOwa), solução hidroalcolica (GCalc e GCalc) ou vinho (GCwi e GOwi). Resultados estão apresentados em médias e desvio padrão da média e significância obtida por ANOVA *one ways* seguido do pós-teste de Benferoni (p<0.05). *vs grupo controle correspondente; [#]vs intragrupo controle; ^δvs GOalc.

O uso da dieta ocidentalizada aumentou a quantidade de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) no tecido hepático em comparação com os grupos alimentados com dieta controle (figura 21A). Porém, o uso do vinho pelo grupo ocidentalizado GOwi reduziu significativamente essas espécies reativas ao mostrar diferenças não apenas em relação ao seu par controle GOwa e o GOalc, mas também aos demais grupos alimentados com dieta controle (Figura 21A). O teor de sulfidrilas (tiois) mostrou significantes diferenças inter e intragrupo, visto que os grupos suplementados com vinho demonstraram relevante incremento dessas moléculas antioxidantes (Figura 21B).

As atividades das enzimas antioxidantes, catalase (Figura 21C) e superóxido dismutase (Figura 21D) mostraram resultados distintos. A catalase mostra-se elevada no grupo GOalc comparado com seu par (GCalc) e com seus pares intragrupo (GOwa e GOwi). O uso do vinho reduziu sua atividade nos animais alimentados com dieta comercial comparado ao seu par GCwa, mas não alterou no GOwi comparado ao seu par GOwa (21C). Enquanto a SOD demonstrou reduzida atividade no grupo GOwi comparado aos pares intragrupo (GOalc e GOwa) e ao seu par controle (GCwi). Nenhuma diferença foi observada na atividade da SOD nos grupos alimentados com dieta controle (21D).



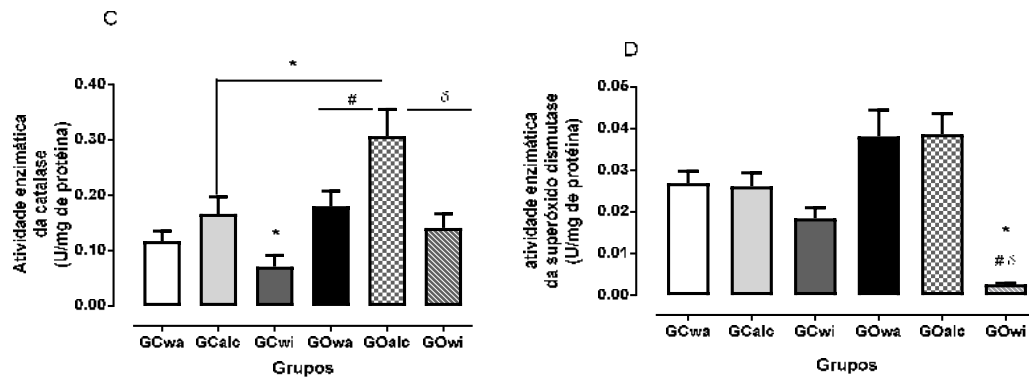


Figura 21. Espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS) equivalentes ao Malonaldeído (MDA) (A), Grupos sulfidrilas em proteínas (tiois) (B), atividade enzimática da catalase (CAT) (C) e do superóxido dismutase (SOD) (D). Grupos: controle com água (GCwa, n=10), controle com solução hidroalcoolica (GCalc, n=10) e controle com vinho tinto (GCwi, n=11); ocidentalizada com água (GOWa, n=10), ocidentalizada com álcool (GOalc, n=11) ocidentalizada com vinho tinto (GOWi, n=11). Teste *two way* RM ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$. *vs grupo controle correspondente; #vs intragrupo controle; δvs GOalc.

7. DISCUSSÃO

7.1. Parte 1 - caracterização dos vinhos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon do Vale do São Francisco

A caracterização dos vinhos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon das safras de 2011, 2013 e 2014 do Vale do São Francisco mostrou grande variação nos parâmetros avaliados (fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante). Igualmente, a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* apresentou diferenças significativas entre as safras estudadas. Porém, os valores obtidos apresentam melhores resultados quando comparado com outros estudos. Pelos resultados exibidos quanto ao índice de polifenóis totais, teor de antocianinas e a atividade sequestrante de radicais livres possibilitaram selecionar a variedade Cabernet Sauvignon da safra de 2014 para os estudos *in vivo*. Esta variedade reuniu maior número de aspectos favoráveis à realização do ensaio *in vivo*.

Os valores para a tonalidade dos vinhos em nosso estudo apresentam similaridade aos observados em vinhos europeus de Cabernet Sauvignon da região da Eslováquia (BAJCAN et al., 2016). Porém, o índice de cor mostra uma variação média de 8,08 a 14,03 nos vinhos Syrah e 10,64 a 15,03 nos vinhos Cabernet Sauvignon neste estudo, mostrando ser superiores aos encontrados nos estudos de MANTOVANI et al. (2010) que encontrou índice de cor variando em torno de 10,4.

Por outro lado, SILVA et al., (2015) encontrou valores mais elevados na tonalidade da cor com 11% nos vinhos Syrah e 9% nos vinhos do Cabernet Sauvignon provenientes de vários países do Hemisfério Sul (Vale do São Francisco Brasil, Rio Grande do sul, Chile, Austrália e África do Sul). Entretanto, estudo realizado por ARENHART e FOGAÇA (2015) com vinhos de mesa tintos secos produzidos na região central do Rio Grande do Sul não apresentaram diferenças na intensidade de cor.

A diversidade de resultados entre os estudos pode ser devido à grande variação entre as amostras, uma vez que são bastante heterogêneos em relação ao tipo de uva, cultivar e cultura (ARENHART e FOGAÇA, 2015). No entanto, a cor é uma das principais qualidades sensoriais do vinho tinto, com grande importância, pois é o primeiro elemento de apreciação observado pelo consumidor, sendo uma

característica geralmente associada às propriedades benéficas para a saúde. Além disso, a intensidade da cor pode fornecer informações sobre possíveis defeitos ou qualidades de um vinho (ARENHART e FOGAÇA, 2015).

A variação dos percentuais de amarelo de 36,6% a 43,5%, vermelho de 43,7 a 50,9% e azul de 12 a 13% nas diferentes cultivares e colheitas analisadas mostra semelhanças em relação aos achados nos estudos de MANTOVANI et al. (2010) que descobriram que o percentual de amarelo variou em torno de 41,3% e o vermelho em 48,6%, entretanto, a porcentagem de azul mostrou-se inferior ao presente estudo, em torno de 10,6%.

Nossos resultados indicam que os vinhos Syrah e Cabernet Sauvignon do Vale do São Francisco das safras estudadas apresentam uma absorvância máxima a 520nm. Este achado responde a hipótese de que o espectro de vinhos vermelhos jovens exibe um máximo de absorção mais ou menos estreito em 520 nm devido a antocianinas e suas combinações na forma de íon de flavilium que diminui com o envelhecimento aumentando a sua absorvância aos 420nm (GLORIES, 1984 b).

A cor varia em consonância com as estruturas químicas e as condições físico-químicas do vinho, podendo variar de rosa a azul com o aumento de grupos hidroxilo. O efeito inverso é observado quando os grupos hidroxilo são substituídos por grupos metoxi (GLORIES, 1984 b). Nos vinhos, a cor também está relacionada às técnicas de vinificação e às numerosas reações que ocorrem durante a sua armazenagem. No caso particular dos vinhos tintos, a cor varia constantemente durante a vinificação e armazenamento, com conseqüentes mudanças organolépticas. Estas modificações ocorrem devido à reatividade dos compostos fenólicos do vinho (ARENHART e FOGAÇA, 2015).

Os compostos fenólicos desempenham um papel fundamental na determinação da qualidade do vinho (ŽIVKOVIĆ, et al., 2016). No entanto, essas diferenças são influenciadas pelo tipo de uva, condições de crescimento e vários fatores relacionados ao processamento (OLIVEIRA et al., 2012).

Em relação ao teor de fenólicos totais expressos em equivalentes ao ácido gálico as diferenças significativas observadas em nisto estudo entre os vinhos Syrah de 2013 e Cabernet Sauvignon de vinhos 2011 e 2014 corrobora com os estudos da SILVA

(2015). Esse autor encontrou diferenças significativas no conteúdo de polifenóis nos vinhos Cabernet Sauvignon e Syrah do Vale do São Francisco. Porém, os valores dos fenólicos equivalentes ao ácido gálico encontrados em nosso estudo são inferiores aos encontrados no estudo com vinhos tintos italianos da safra de 2015 por DI LORENZO et al. (2016), que apresentaram conteúdo total de polifenóis em torno de 180 nos vinhos de 13 clones da casta de Autoctone Prokupac, que tinha um teor de polifenóis equivalente ao ácido gálico variando de 114 mg/L^{-1} a 330 mg/L^{-1} , mas semelhante aos achados de ŽIVKOVIĆ, et al. (2016), que observaram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre diferentes cultivares de vinhos.

A proporção de diferentes polifenóis nos vinhos pode variar de acordo com o tipo de conteúdo fenólico total e processos de vinificação. Esses fatores, quando combinados com antocianinas, proantocianidina e conteúdo de taninos determinam a qualidade do vinho. A quantidade e composição de polifenóis também dependem das características genéticas da uva, fatores ambientais e culturais, bem como a morfologia da uva (ŽIVKOVIĆ, et al., 2016). Por outro lado, os compostos fenólicos podem ser influenciados pelo teor alcoólico do vinho, uma vez que o aumento do etanol durante a fermentação alcoólica resulta na desnaturação progressiva dos pigmentos devido à ruptura das pontes de hidrogênio entre os compostos fenólicos, transformando-os em substâncias incolores (CASTILLES e BIANCHI, 2012).

Em um estudo prévio de BAJČAN et al. (2016) com vinhos da cultivar Cabernet Sauvignon de diferentes áreas da Eslováquia, os níveis de antocianina variaram de $68,6 \text{ mg/L}^{-1}$ a $430,7 \text{ mg/L}^{-1}$. No entanto, ARENHART e FOGAÇA, (2015) encontraram níveis médios de antocianina de $299,4 \text{ mg/L}^{-1}$. Em outro estudo realizado em vinhos italianos de nove cultivares, os valores de antocianinas variaram de 18 a 687 mg/L^{-1} (CASSINO et al., (2016). Mas, SILVA (2015) encontrou vinhos de diferentes países das antocianinas do hemisfério sul que variam de 101,96 a $230,51 \text{ mg/L}^{-1}$ para a cultivar Syrah e 108,48 a $279,58 \text{ mg/L}^{-1}$ para a cultivar Cabernet Sauvignon, que são inferiores aos achados neste estudo para as mesmas cultivares.

As antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos em vinhos tintos e contribuem para os atributos sensoriais e a coloração do vinho (ABE et al., 2007). Embora seja provável que as quantidades de antocianinas

monoméricas não sejam responsáveis pelo alto conteúdo fenólico das amostras do Vale do São Francisco (LUCENA et al., 2010). Várias propriedades benéficas foram atribuídas a antocianinas (flavonóides alimentares), incluindo efeitos antioxidantes.

Os taninos condensados são os principais compostos fenólicos do vinho tinto. Os taninos desempenham um papel importante na adstringência e também contribuem para a sensação de amargura (VILELA et al., 2016). No entanto, a sua quantidade nos vinhos está relacionada com a forma de extração no processo de vinificação (ARENHART e FOGAÇA, 2015).

Por outro lado, os taninos são caracterizados como compostos fenólicos de alto peso molecular podem precipitar proteínas incluindo proteínas salivares da cavidade oral. Essas propriedades são fundamentais para explicar o papel dos taninos na proteção do corpo contra doenças (BERNARDES et al., 2011).

Os taninos, bem como outros compostos fenólicos são importantes para a qualidade do vinho, quantidades e qualidades extraíveis, dependem de uma série de fatores que interferem positivamente ou negativamente (condições climáticas, composição do solo, fatores genéticos inerentes à uva, tratamento cultural e estágio de maturação) (ARENHART e FOGAÇA, 2015). De acordo com VILELA et al., (2016), os taninos são extraídos no início da maceração e durante a fermentação alcoólica quando há formação de etanol que os solubiliza.

Em relação ao perfil fenólico dos vinhos analisados em nosso estudo, o ácido gálico apresentou valores médios mais baixos do que os vinhos da Turquia estudados por ANLI e VURAL (2009), variando de 40,8 a 70 mg/L⁻¹ e superiores aos valores médios de Catequina variando de 19,3 a 3,9 mg/L⁻¹. No entanto, o ácido gálico tem propriedades benéficas para a saúde, incluindo efeitos antioxidantes, neuroprotetores e antimicrobianos (VILELA et al., 2016) e a Catequina é o flavanol mais importante que pode ser encontrado em cascas e sementes de uva, representando 60% dos fenólicos responsáveis pela adstringência e estrutura de vinhos (MARKOSKI et al., 2016).

Os valores de concentração do Resveratrol encontrados em nosso estudo são mais altos do que os encontrados por SILVA et al. (2015), que variou de 0,00 a 0,32 mg/L⁻¹ em vinhos Cabernet Sauvignon e 0,00 a 0,29 em vinhos Syrah. No entanto, o

resveratrol por hidrólise enzimática de seus glicósidos pode levar a estruturas livres de trans e cis-resveratrol, cuja concentração depende da variedade de uva, possível contaminação por fungos e condições climáticas, o que condiciona sua variação (MENG et al., 2012).

Por outro lado, estudos demonstraram que o processo de vinificação é o fator responsável pelos altos níveis de resveratrol nos vinhos tintos, em comparação com os vinhos brancos (MACHADO e GUEDES, 2015). Embora o resveratrol seja o principal componente funcional dos vinhos tintos, sua concentração é baixa em relação a outros compostos fenólicos.

Entretanto, os valores médios de ácidos vânllico e sirigico achados neste estudo foram superiores aos de SILVA et al. (2015) de 5,89 mg /L-1, 3,89 mg /L-1 e 2,42 mg/L⁻¹ em vinhos africanos, Rio Grande do Sul e Australianos, respectivamente.

As diferenças significativas ($p < 0,05$) na atividade antioxidante dos vinhos Syrah das safras de 2013 e 2014 neste estudo, contradizem os achados de BAJČAN et al. (2016) para a determinação da atividade antioxidante que não apresentaram diferenças significativas. No entanto, GRANATO et al. (2011) enfatiza que a eficácia dos antioxidantes depende da energia necessária para proporcionar dissociações entre oxigênio e hidrogênio fenólico, pH, potencial de redução, solubilidade, estrutura e localização de radiação antioxidante (grupo - OH). Por outro lado, solventes, conservantes e aditivos alcoólicos excessivos podem influenciar a quantificação de compostos fenólicos e atividade antioxidante conforme demonstrado por SILVA et al. (2008) e RUBERTO et al. (2007).

No estudo de SILVA (2015) sobre a análise dos vinhos tintos da cultivar Cabernet Sauvignon e Syrah, produzidos em diferentes países do Hemisfério Sul (Brasil - Vale do São Francisco) e Rio Grande do Sul, Chile, Austrália e África do Sul da safra de 2012 observou variações da atividade antioxidante entre 96,8% e 97,47%. Estes valores são superiores aos valores médios encontrados em nosso estudo. No entanto, nossos resultados são superiores aos encontrados em amostras de vinhos de Cabernet Sauvignon de várias áreas da Eslováquia que tiveram atividade de seqüestro de radicais livres variando de 69,0% a 84,2%. (BAJČAN et al., 2016). A capacidade antioxidante dos vinhos tintos turcos em relação aos vinhos da Espanha, Portugal e Califórnia mostrou maior atividade antioxidante entre 18,1% e

22,6% (ANLI e VURAL, 2009). Estudos realizados no Brasil, Argentina e Chile mostraram, respectivamente, atividade antioxidante de 66,44%, 67,71% e 55,25% (GRANATO ET AL., 2011), mostrando uma grande semelhança com os resultados encontrados em neste estudo. Outras regiões do mundo mostraram atividade antioxidante em torno de 71,30 a 83,53% para vinhos da região dos Balcãs (RADOVANOVIĆ et al., 2010) e 54,6 a 82,6% para os vinhos tintos da Croácia (KATALINIĆ et al., 2004). Portanto, os resultados desses estudos permitem considerar que os vinhos analisados neste estudo possuem boa atividade antioxidante ou seqüestro de radicais livres.

As correlações avaliadas em nosso estudo revelam que as semelhanças entre o índice de cores (CI), o teor total de polifenóis (IPT) e o conteúdo total de polifenóis equivalentes ao ácido gálico estão de acordo com os resultados obtidos pelo SILVA, (2015). No entanto, ARENHART et al. (2014) encontraram uma correlação positiva entre a capacidade antioxidante e o teor total de fenólicos ($r^2 > 0,5$) em vinhos de mesa tintos secos produzidos na região do Rio Grande do Sul. Da mesma forma, GALLICE et al. (2011) demonstraram a existência de uma forte correlação ($r^2 = 0,99$) entre a atividade antioxidante e polifenóis totais em amostras de vinho tinto de Curitiba, Garibaldi e Campo Largo.

De acordo com ŽIVKOVIĆ, et al. (2016), entre os fatores externos que podem intervir na baixa extratibilidade dos compostos estão as antocianinas presentes nas células da casca de uva, na forma livre dentro das vacúolas, que podem ser diluídas pela seiva acidentalmente liberada na baga, fazendo com que seu conteúdo seja detectado em pequena escala durante a análise. Isso pode explicar em parte a baixa correlação encontrada nos resultados deste estudo entre a capacidade antioxidante, teor de antocianina e cor (ŽIVKOVIĆ, et al., 2016).

Este estudo resultou em uma publicação na revista *Journal of Food and Nutrition Research* com qualis da área de nutrição B2, fator de Impacto 1.950, disponível online no site <http://www.sciepub.com/jfnr/content/5/10> sob o título *Phenolic Composition, Chromatic Parameters and Antioxidant Activity “in vitro” in Tropical Brazilian Red Wines* (apêndice 1).

7.2. Parte 2 – estudos “in vivo”

No estudo “*in vivo*”, os animais foram alimentados com dieta ocidentalizada durante 05 meses (dos 45 aos 200 dias de vida) para indução ao excesso de peso, hiperglicemia, dislipidemia e estresse oxidativo. O acompanhamento do estudo revelou que a dieta ocidentalizada causou excessivo ganho de peso, acúmulo de gordura abdominal, dislipidemia, hiperglicemia, intolerância à glicose e estresse oxidativo.

No entanto, a administração por gavagem de vinho tinto em cerca de 0,7mL/100g de rato diário reverteu alterações fisiológicas e metabólicas adversas. A dieta ocidentalizada usada no estudo foi adaptada de estudos prévios do grupo de pesquisa (CARVALHO, 2013; CAVALCANTE et al, 2013) e mimetiza percentuais de macronutrientes utilizados por indivíduos que ingerem uma dieta de hábitos ocidentais em que é frequente o elevado teor de sódio, açúcar, gordura e alimentos processados ou ultraprocessados (ROSINI et al., 2012) comumente encontrado em refeições tipo “*fast-food*”.

A dieta ocidentalizada ofertada foi alternada por dois dias com dieta comercial com o objetivo de evitar a habituação dietética. O consumo descontínuo da dieta causou diferença de peso a partir da 2ª semana do estudo e se manteve até a 20ª semana onde se iniciou a intervenção por gavagem. A diferença de peso observada no grupo ocidentalizado comparado ao controle neste estudo está em torno de 14% a 15%.

Similar ao resultado do presente estudo, o uso de dieta hiperlipídica desde o primeiro mês de vida causou significativo aumento de peso corporal ($p < 0,001$), mantendo a diferença até o final de quatro meses de estudo (AUBERVAL et al., 2016). Igualmente, um aumento de 15% no peso corporal também foi encontrado em ratos alimentados durante 24 semanas com dieta elevada em gordura saturada (FORBES et al., 2013) e em mais de 40% em camundongos alimentados com dieta contendo 60% de lipídios (ROSENZWEIG et al., 2017).

O acúmulo de peso corporal pode ser decorrente do efeito dos componentes nutricionais sobre o metabolismo celular modificando a expressão gênica e de componentes que regulam o gasto energético (JACOB et al., 2012; FORBES et al, 2013). No entanto, a alta concentração de lipídeos por si só na dieta (60%) parece

não ser suficiente para assegurar um ganho de peso excessivo de forma unanime nos estudos.

Neste estudo, a ingestão de alimento foi reduzida, mas a quantidade de energia consumida mostrou-se cerca de 15% mais elevada (oriunda de um combinado aumento de gordura, açúcares e sódio). Este conjunto de práticas propiciou mesmo com redução da ingestão, um aumento consistente no peso corporal dos animais do grupo GO e relevantes alterações metabólicas.

As consequências sobre a ingestão de alimentos por animais submetidos a dietas elevadas em lipídeos ou carboidratos mostram controvérsias. Alguns estudos advogam aumento de ingestão, outros redução, e outros, não sabem, pois não controlam a quantidade de alimento ingerido. MARTINS et al., (2015) demonstraram em ratos alimentados com dieta ocidentalizada, redução da ingestão com elevado coeficiente de eficiência alimentar. A proporção de lipídeos dietéticos ou a densidade energética exercida pelos nutrientes parece ser um fator preponderante no controle da quantidade de alimento ingerido (MARTINS et al., 2015). A redução da ingestão alimentar encontrada neste estudo corrobora diversos estudos prévios (DE ABREU et al., 2012; CORREIA-SANTOS, 2012, JACOB et al., 2013; DE ANDRADE et al., 2015; ROSENZWEIG et al., 2017). Dentre os mecanismos possíveis associados a esta redução, pode-se citar a ocorrência de uma adaptação dos animais com possíveis alterações sensoriais e de saciedade (CORREIA-SANTOS, 2012).

Ainda em relação à redução da ingestão, estudo de revisão, (ANSANELLO NETTO e ANSANELLO, 2016) aponta diversos fatores envolvidos no apetite e saciedade para o controle da obesidade, entre os quais se destacam os fatores endócrinos, adipocitários, sinais intestinais e o estado psicológico (em humanos). Em associação ou isolados, esses fatores influenciam a homeostase energética, a qual é determinada pelo equilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto energético. Neste processo, a leptina, uma proteína de 16KDa, produzida principalmente pelo tecido adiposo subcutâneo, tem como tecido alvo o sistema nervoso central, na região hipotalâmica.

A leptina é transportada pela barreira hematoencefálica e exerce seus efeitos anorexígenos por meio do núcleo arqueado do hipotálamo onde inibe Neuropeptídeos Y e peptídeo relacionado com o gene agouti (NPY/AgRP) que são

potentes orexígenos, estimulando a ingestão alimentar. Por outro lado, a leptina sinaliza a pró-ópio melanocortina e transcritos relacionados à anfetamina e cocaína (POMC/CART) com papel anoréxico resultando em redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (ANSANELLO NETTO e ANSANELLO, 2016; LANDEIRO e QUARANTINI, 2011). Assim, o controle das reservas energéticas pode ser exercido. Quando o armazenamento de gordura está baixo, a redução da concentração de leptina estimula a produção de NPY com aumento de apetite (LANDEIRO e QUARANTINI, 2011). Por essa via, a leptina, mantém um controle em longo prazo da adiposidade e regula mudanças metabólicas adaptativas em resposta a modificações nutricionais. Contudo, o aumento de tecido adiposo promove aumento da leptina circulante e, em longo prazo, parece alterar a interação com os receptores de leptina causando tanto uma resistência à sua ação, como redução do gasto energético e da hiperfagia (HIGUCHI et al., 2012).

Segundo estudo de revisão sobre as repercussões no organismo a partir do uso de dietas hiperlipídicas/hipercalóricas observa-se além do aumento de peso corporal, o desenvolvimento de diversas patologias associadas, a exemplo da resistência à insulina, o aparecimento de diabetes mellitus, da hipercolesterolemia e da hipertensão arterial. (ROSINI et al., 2012; JACOB Eet al, 2012). No presente estudo foi observado hiperglicemia, intolerância à glicose e aumento da área sob a curva glicêmica e hipertrigliceridemia dos animais alimentados com dieta ocidentalizada.

Apesar da não realização do teste de tolerância à insulina, se observa que a curva definida no teste de tolerância à glicose demonstra prováveis ocorrências de resistência à ação da insulina. Esta afirmação decorre da observação que aos 30 minutos os grupos não diferiram nos valores de glicemia, o que nos sugere inferir que a secreção da insulina não se encontra alterada e a diferença média dos valores glicêmicos entre os grupos ocidentalizados (GO) e Controle (GC) situou-se em torno de 20%. A assimilação da glicose sanguínea pelos tecidos insulino dependentes demonstra comprometimento devido ao não retorno glicêmico do grupo ocidentalizado aos valores basais em até 2h após a sobrecarga de glicose. O aumento da área sob a curva glicêmica e a redução da sensibilidade à insulina foi observado em estudos prévios com dietas hiperlipídicas/hipercalórica (FORBES et al., 2013) ou isocalórica (JACOB et al., 2012). MARTINS et al., (2015) encontrou

alterada tolerância à glicose em animais alimentados com dieta hiperlipídica, mas sem alteração da área sob a curva glicêmica.

O uso de dietas hiperlipídicas causa alteração na fosforilação da proteína serina/treonina quinase (AKT) no fígado que mesmo independente da atividade de outras moléculas sinalizadoras como o inibidor proteína quinase K- β (IKK- β), relacionado a propagação da inflamação e a quinase c-Jun-N-terminal (JNK), com papel relevante sobre o estresse e ao desenvolvimento do diabetes (JACOB P et al, 2012) pode favorecer a instalação de um quadro de resistência a ação da insulina característico de indivíduos com diabetes tipo 2. Um dos possíveis mecanismos que levam à intolerância a glicose é a prejudicada interação da insulina com receptores celulares. A razão entre AKT fosforilada e AKT constitui um importante biomarcador da prejudicada sensibilidade à insulina. Esta razão mostrou-se reduzida no músculo gastrocnêmio de ratos alimentados com dieta hiperlipídica derivada de gordura animal (FORBES et al., 2013). A principal ação da insulina no organismo é a redução do nível de glicose sanguíneo, sendo considerado um hormônio hipoglicemiante (GEIJSELAERS et al., 2014).

Outro fator importante no processo de resistência à ação da insulina é o excesso de ácidos graxos livres (AGL) que aumentam sua liberação a partir da hidrólise do tecido adiposo principalmente o visceral (EBBERT e JENSEN, 2013). Os AGL circulantes ativam proteínas de membrana plasmática denominados TLR-4 (*toll like receptors 4*) desencadeando a ativação de vias inflamatórias que vão interferir na captação de glicose pela sinalização da insulina (FREITAS et al., 2014).

No fígado e músculo esquelético a IKK- β e JNK juntas prejudicam a sinalização da insulina pela fosforilação do substrato receptor de insulina (IRS) no resíduo de serina reduzindo a ativação da AKT e consequentemente, a captação da glicose, contribuindo para a intolerância à glicose e resistência a insulina (GAO et al., 2001). Sugerimos que estes mecanismos podem ter acontecido visto o excesso de peso e provavelmente de tecido adiposo encontrado nos animais alimentados com dieta ocidentalizada.

No período de intervenção, os grupos foram randomicamente subdivididos além da intervenção dietética, pela suplementação com água, solução hidroalcolica ou

vinho. O efeito do uso moderado de vinho como protetor aos episódios de doença cardiovascular tem mostrado controvérsias na literatura, incluindo dúvidas acerca do efeito do etanol por si só e do efeito dos polifenóis presentes no vinho. Os resultados deste estudo evidenciam que a ingestão crônica de vinho mostrou efeitos benéficos mais acentuados que o uso de bebida alcóolica apenas, mesmo com os animais continuando a ingerir uma dieta desequilibrada. Os benéficos efeitos observados nos animais com o uso de vinho se destacam em todos os testes que se mostraram desfavoráveis ao uso da dieta ocidentalizada (teste de tolerância à glicose, hiperglicemia e hipertrigliceridemia e o estresse oxidativo).

Após a caracterização de polifenóis, e o resultado da atividade antioxidante *in vitro* do vinho (MUCACA et al., 2017), selecionou-se a cultivar e safra de melhor atividade e esta foi corroborada no estudo *in vivo*. Os polifenóis do vinho são conhecidos por exercerem um efeito antioxidante, enquanto a bebida alcoólica (etanol) é conhecida por induzir um estado de estresse oxidativo (MARKOSKI et al, 2016).

O estresse oxidativo ocorre quando espécies reativas de oxigênio estão elevadas, e, os mecanismos antioxidantes intra e extracelulares estão reduzidos. O desequilíbrio entre sistemas oxidantes e antioxidantes resulta em algumas doenças crônicas e uma das maneiras de prevenir esses danos promovidos pelo estresse oxidativo seria a suplementação com compostos antioxidantes a exemplo dos polifenóis do vinho (FERRAZIN e GUEDES, 2015).

Porém, ainda há questionamentos acerca do efeito oposto entre polifenóis e álcool (etanol). A proteção cardiovascular exercida com o consumo moderado de vinho em detrimento de outras bebidas alcóolicas já foi relatada em estudos anteriores (STOCKER e O'HALLORAN, 2004 e BIASI et al., 2014). No entanto, parte deste efeito foi atribuído ao componente álcool do vinho comparado ao efeito do álcool sozinho em estudo investigando a aterosclerose em animais (STOCKER e O'HALLORAN, 2004). Neste caso, ensaios com a ingestão de vinho sem álcool ou com uso de suco de uva ou ainda, de subprodutos ou resíduos da uva poderiam esclarecer esta dúvida. Em humanos, a maioria dos ensaios relatam que o consumo "moderado" de álcool correspondente a cerca de 15 g/dia para mulheres e 30 g/dia para homens, correspondente de 1 a 3 copos por dia de vinho com teor alcóolico entre 12% a 14% pode proporcionar efeitos benéficos a saúde (BIASI et al., 2014).

A associação entre ingestão de dieta hiperlipídica (PUNITHAVATHI et al., 2011) ou de açúcares simples como frutose (HERNANDEZ-SALINAS et al., 2015) e aumento dos níveis de glicose no sangue já foi previamente relatado. Neste estudo, a dieta ocidentalizada não apenas tem maior teor de lipídios, como também de sódio e açúcar simples, provocando tanto alterações glicêmicas quanto lipêmicas. Alguns autores advogam que este aumento pode ser evitado pela suplementação com polifenóis dietéticos, independentemente dos indicadores clínicos associados tais como a hipertrigliceridemia e concentrações reduzidas de HDL colesterol, e intolerância à glicose. (HERNANDEZ-SALINAS et al., 2015 e MARTINS et al, 2015).

Os efeitos do uso de vinho sobre a redução da glicemia ou melhora da tolerância à glicose foram observados anteriormente em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (ROSENZWEIG et al., 2017), e atribuiu-se esta melhora a um efeito dose dependente (ANYAKUDO e OLANUBI, 2016). No presente estudo, a suplementação com solução hidroalcóolica mostrou efeitos menos pronunciados sobre a tolerância à glicose se assemelhando a estudos anteriores (MARTINS et al., 2015; ROSENZWEIG et al., 2017). No entanto, apesar das controvérsias, há relatos que o consumo de etanol em bebidas de baixa concentração de álcool pode proteger pacientes diabéticos contra doenças correlatas e redução do risco de eventos coronários (BIASI et al., 2014).

A redução da glicemia basal, bem como, uma melhor resposta a uma carga glicêmica encontrada neste estudo, pode ser explicado pelo efeito intracelular dos polifenóis. Os polifenóis podem atuar na regulação da expressão gênica, de enzimas e alguns sinalizadores de processos inflamatórios. A capacidade dos polifenóis, a exemplo do resveratrol e da quercetina presentes nos vinhos em inibir a fosforilação e a degradação dos inibidores da quinase induzida pelo fator tumoral nuclear (TNF- α) foi demonstrado em estudos anteriores (BASTOS et al., 2009; SÉFORA-SOUSA e DE ANGELIS-PEREIRA, 2013 e LIU et al., 2014). Esta capacidade indica que esses compostos bioativos também atuam em etapas que precedem a fosforilação do IKB- α . Além disso, parecem capazes de inibir a ativação do fator de transcrição da apoproteína AP-1, frequentemente associada à resistência periférica à ação da insulina (BASTOS et al., 2009). Em ensaios *in vitro*, alguns destes compostos fenólicos efetivamente inibem a ativação da JNK em células estimuladas por TNF- α , agente inflamatório que causa resistência à insulina

por inibir a fosforilação da tirosina presente no substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1) (LIU et al., 2014). Esse fato revela que os polifenóis da dieta atuam como supressores de vias de sinalização da AP-1 e do NF- κ B, ativadores de genes que codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória (SÉFORA-SOUSA e DE ANGELIS-PEREIRA, 2013) que pode resultar em prejuízo a ação da insulina em tecidos insulino-dependentes.

Durante o período de gavagem com vinho ou solução hidroalcolica, a ingestão alimentar não foi modificada nos grupos alimentados com dieta controle. Mas, nos grupos alimentados com DO e suplementados com etanol (seja de solução hidroalcolica ou vinho) houve diminuição da ingestão quando comparados com o GOwa. Hipotetizamos que os grupos GOalc e GOwi podem ter tido redução de peso devido a diminuição da ingestão alimentar. Esses grupos mostraram respectivamente redução de 20 e 15% do peso corporal comparado ao GOwa. Este resultado está de acordo com estudos prévios que constataram redução de peso em ratos diabéticos tratados com vinho tinto (ANYAKUDO e EKISOLA, 2016; ANYAKUDO e OLANUBI, 2016) e alimentados com dieta hiperlipídica (ROSENZWEIG et al., 2017). Por outro lado, em contraste ao resultado deste estudo, que não observou nem aumento nem redução de peso do grupo alimentado com dieta comercial, BRITO-FILHO et al., (2016) observaram aumento de peso em camundongos alimentados com dieta padrão e tratados com vinho ou com etanol.

Quando avaliamos a ingestão entre os grupos alimentados com dieta ocidentalizada e seus pares alimentados com dieta controle, houve redução dos grupos com dieta ocidentalizada, mas, energeticamente o valor foi maior para GOwa comparado ao GCwa e igual para os GOalc e GOwi comparados aos seus pares alimentados com dieta controle. A redução da ingestão de alimentos é esperada em animais visto que cada grama de álcool metabolizado fornece em torno de 7,1kcal. O consumo crônico de álcool pode levar a um estado recorrente de redução de consumo alimentar, do aporte de nutrientes e instalação de um quadro de desnutrição (SILVA et al., 2011). No entanto, a redução alimentar não é observada em todos os estudos e há estudos que hipotetizam que o controle do peso corporal, a partir da ingestão de polifenóis do vinho, podem atuar na regulação do peso através de mecanismos anti-obesidade que envolve a regulação da β -oxidação de ácidos graxos, bem como aumento do gasto energético (RUPASINGHE et al., 2016).

Além da contribuição energética do etanol, o controle da ingestão alimentar se relaciona ao controle da expressão de neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos, bem como hormônios como a insulina e leptina, e peptídeos como a serotonina e diversos outros moduladores do apetite, impactando nas vias de saciação e saciedade. Os mecanismos de regulação da saciedade remetem a possibilidade dos polifenóis do vinho tinto ou do álcool *per si* interferir nos hormônios que atuam no núcleo arqueado (neuropeptídeo Y ou receptores da serotonina 5-HT1 e 5-HT2) produzindo efeitos de saciedade e/ou apetite (FEIJÓ et al., 2011; SILVA et al., 2011; COOPER, 2014 e MAGNO et al., 2014).

Em relação a isso, estudo de revisão de FEIJÓ et al., (2011) aponta a serotonina (5-HT) através da ação dos receptores 5-HT1B como modulador na liberação endógena de agonistas e antagonistas dos receptores da melanocortina, componentes principais do circuito de controle da homeostase do peso corporal. Estes mecanismos podem ter ocorrido em nossos animais contribuindo para a redução da ingestão observada nos grupos alimentados com dieta ocidentalizada.

Os parâmetros bioquímicos referentes à glicemia e lipemia também se mostraram bastante responsivos a suplementação com vinho. Recente estudo mostrou que ingestão moderada de vinho tinto reduziu os triglicerídeos e as concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) com aumento simultâneo em nível de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (ANYAKUDO e OLANUBI, 2016) culminando com significativa redução de marcadores de risco cardíaco (SOARES FILHO, 2011).

Diferente de alguns estudos, como o de GALAN et al., (2014) nossas taxas de HDL-c não foram aumentadas pela ingestão de vinho ou de solução hidroalcoólica. No entanto, chamamos atenção para a relação TG/HDL-c, que sinaliza redução do risco cardiovascular, e que não se mostrou alterada em nossos grupos. Apesar desta razão inalterada, ressalta-se neste estudo o aumento de triglicerídeos nos grupos alimentados com dieta ocidentalizada e no grupo com dieta controle suplementado com solução hidroalcoólica. Em relação a isso, a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2017) adverte sobre a divergência no impacto da ingestão de etanol nos triglicerídeos em situações de consumo moderado (até 30g/dia). A combinação de um consumo excessivo de etanol e ácidos graxos saturados potencializa a elevação da trigliceridemia substanciada pelo efeito do

etanol sobre a inibição da lipase das lipoproteínas com consequente redução na hidrólise de quilomícrons justificando a lipemia induzida pelo etanol. Além disso, o produto da metabolização do álcool é a Acetilcoenzima A (acetil-CoA), principal precursora da síntese de ácidos graxos (Arquivo Brasileiro de Cardiologia, 2017).

Entretanto, estudos em animais mostram resultados distintos acerca dos níveis lipêmicos. Mas, em humanos a ingestão de vinho sem ingestão de outras bebidas alcóolicas modificou o perfil inflamatório causado por dietas ricas em gorduras (TORRES et al., 2015, CHIVA-BLANCH et al., 2013, ANYAKUDO e OLANUBI, 2016 e KNOTT et al., 2014). Resultados prévios acerca do consumo de vinho e etanol não oriundo de vinho permitem deduzir que o consumo moderado de vinho tinto diariamente como parte de uma dieta saudável, melhora a taxa de mortalidade cardiovascular e que o consumo excessivo de álcool mostra-se associado ao aumento dos níveis de colesterol (ANYAKUDO e OLANUBI, 2016; GEPNER et al., 2015 e MARKOSKI et al, 2016).

Conjectura-se também que os polifenóis dos vinhos tintos tenham efeitos preventivos sobre a síndrome metabólica. Estes atuam através da redução do processo de formação de radicais livres, protegendo o α -tocoferol da LDL-c ou regenerando o α -tocoferol da LDL-c oxidada e sequestrando metais que induzem à oxidação. Os polifenóis agem sinergeticamente inibindo a agregação de plaquetas e reduzem de forma relevante o desenvolvimento da arteriosclerose. Alguns polifenóis, a exemplo do resveratrol, associados à parte lipídica das LDL-c, inibem a agregação de plaquetas, e outros eventos associados ao risco de câncer, doenças vasculares, infecção viral e processos neurodegenerativos (FERRAZIN e GUEDES, 2015).

Quanto ao efeito do álcool e vinho tinto sobre o peso dos órgãos, o menor peso relativo do fígado e menor peso do estômago no grupo GOwi quando comparado ao GCwi e o GOwa contrasta com estudo prévio de AUBERVAL et al., (2016) que não detectaram em ratos alimentados com dieta hiperlipídica alteração nos pesos do fígado. Do mesmo modo, AUBERVAL et al., (2016) constataram que a administração de vinho tinto em pó não teve impacto no peso bruto do fígado, em comparação com aqueles de ratos alimentados com dieta hiperlipídica apenas no mesmo período (respectivamente, $2,10 \pm 0,27$ g / L; $1490,00 \pm 209,74$ pmol / L, $2,70 \pm 0,46$ mmol / L e $3,42 \pm 0,08\%$ do peso corporal total).

Os resultados obtidos neste estudo também demonstraram evidente acúmulo de tecido adiposo na região abdominal dos ratos alimentados com dieta ocidentalizada. A suplementação com solução hidroalcoólica e com vinho reduziu o depósito de gordura nos grupos ocidentalizados, mas não alterou nos grupos alimentados com dieta comercial. A redução da adiposidade visceral em camundongos também foi observada por LEONETTI et al., (2017) ao suplementar ratos com polifenóis da uva. Flavonoides como quercetina e as antocianinas (ambos com 0,01 mol /kg de dieta) presentes no vinho, mostraram-se efetivos em diminuir o peso do tecido adiposo mesentérico em camundongos alimentados com dieta rica em gordura durante 12 semanas (HOEK-VAN DEN HIL et al., 2015). Os polifenóis podem exercer seus efeitos no tecido adiposo através de uma ou mais vias de sinalização e transcrição potencialmente, incluindo aquelas mediadas pelo fator nuclear de transcrição κB (NF- κB), atividade da proteína kinase (AMPK), receptor do proliferador da atividade da peroxissoma (PPAR γ) e o transcritor coativador 1 α (PGC-1 α) (WANG et al., 2014).

A dieta ocidentalizada causou evidente grau de peroxidação lipídica determinado pelo aumento do malonaldeído a partir da quantificação de TBARs (quantidade de espécies reativas responsivas ao ácido tiobarbitúrico) no tecido hepático, que pode indicar indícios de ocorrência do estresse oxidativo. O aumento de lipídios dietéticos tem se mostrado um dos principais fatores para o acúmulo de gordura hepática, dano oxidativo, desestabilização da homeostasia no metabolismo glicídico e lipídico e aumento dos produtos finais da peroxidação lipídica (SHINAGAWA et al., 2015), a exemplo do malonaldeído (MDA), que pode reagir com proteínas provocando danos oxidativos (MARINHO et al., 2014). Igualmente, o etanol também é apontado como um dos fatores responsáveis pelo aumento do estresse oxidativo com repercussões negativas culminando diversos processos patológicos (JACOB et al., 2013). A ingestão de etanol no presente estudo foi moderada, não causando aumento de malonaldeído nos grupos hidroalcoólicos com dieta controle. Mas, no grupo alimentado com dieta ocidentalizada, o aumento foi bastante expressivo em todos os grupos e minimizado pela ingestão de vinho. Este resultado nos permite conjecturar evidente ação dos polifenóis como atividade antioxidante.

Ao se avaliar a atividade de duas enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) reportamos neste estudo uma elevada atividade da SOD

nos grupos GOwa e GOalc e reduzida atividade no grupo GOwi. Além disso, a atividade da CAT mostra-se elevada nos grupos suplementados com etanol e reduzida em animais em ambas as dietas suplementados com vinho. A CAT é uma enzima que catalisa a degradação do peróxido de hidrogênio, portanto, sua atividade depende do produto gerado a partir da dismutação do anion superóxido. Assim, a baixa atividade da SOD pressupõe uma baixa formação de peróxido de hidrogênio o que também sugere uma atividade da CAT diminuída (PINHO et al., 2009).

Neste estudo, a ingestão de vinho junto com dieta ocidentalizada diminuiu a expressão da SOD. Contrário aos resultados obtidos neste estudo foi demonstrado anteriormente que a atividade da SOD hepática encontra-se aumentada frente à suplementação de ratos com resveratrol (CHEN et al., 2016) e que a resposta a ingestão de etanol difere entre os estudos de acordo com a dose. Contudo, baixa atividade da SOD foi encontrada em ratos alimentados com dieta ocidentalizada e suplementados com vinho tinto em pó (ZHENG et al., 2010). Uma acentuada redução da atividade da SOD pode ser devido à baixa necessidade de sua ação quando existir a disponibilidade de compostos antioxidantes, como é o caso dos polifenóis encontrados no vinho (ZHENG et al., 2010).

A ação de compostos antioxidantes tanto pode agir aumentando a atividade da enzima como atuar na inibição da própria peroxidação lipídica. Sustentamos que a segunda hipótese é plausível aos resultados deste estudo, pois, o aumento dos níveis de grupos sulfidrilas mostra-se inversamente associado aos níveis de TBARs semelhante ao usado em animais utilizando vinho tinto em pó (VAZQUES-PRIETO et al., 2010). Os grupos sulfidrilas representam grupos tióis encontrados em proteínas principalmente albumina e compostos nitrogenados de baixo peso molecular como a cisteína (MARINHO et al., 2014) que reagem com espécies reativas de oxigênio. A albumina apresenta alto potencial de oxidação e a cisteína, ação mais lenta (MUSUMECI et al., 2013; MARINHO et al., 2014). Alguns tióis a exemplo da glutathiona reduzida (GSH) são essenciais para reduzir o estresse oxidativo hepático (HAN et al., 2016).

Ademais, já foi reportado que os flavonóis quercetina e kaempferol (5 a 50 μ M) diminuíram os níveis de glutathiona oxidada (GSH), peróxidos, aniões superóxido e óxido nítrico em células do fígado tratadas com uma mistura de citocinas

inflamatórias (CHUANG e MCINTOSH, 2011). Por outro lado, o álcool etílico presente no vinho aumenta os níveis de paraoxonase (PON1), uma enzima que, entre outras funções, evita a oxidação do LDL-c. Em conjunto, a presença de álcool etílico e os compostos fenólicos presentes no vinho tinto (MARKOSKI et al, 2016) parece atuar benéficamente sobre os processos oxidantes do organismo. Esta afirmativa se embasa no fato de que o etanol leva ao enriquecimento do conteúdo total de polifenóis e a solubilização dos polifenóis no mosto da uva durante o processo de fermentação resultando na sua maior biodisponibilidade, absorção e utilização (BASI et al., 2014 e SOARES FILHO, et al., 2011).

8. CONCLUSÃO

Os vinhos das cultivares Syrah e Cabernet Sauvignon das safras 2011, 2013 e 2014 do Vale do São Francisco analisados no nosso estudo exibiram elevados valores de polifenóis totais e potente capacidade antioxidante *in vitro*, mostrando teores fenólicos e capacidade antioxidantes similares às cultivares de outros países mais tradicionais na produção de vinho.

A dieta ocidentalizada promoveu aumento de peso e de gordura abdominal, aumento de frações lipídicas, hiperglicemia e aumento do estresse oxidativo. Esses parâmetros foram responsivos ao consumo moderado de vinho e mostraram-se deletérios quando associados à ingestão de solução hidroalcoólica, que pode atuar como um fator pró-oxidante.

Em suma, este estudo ratifica os achados prévios sobre os benefícios da ingestão moderada e crônica de vinho tinto sobre fatores de risco associados à ocorrência de doenças cardiovasculares e outras relacionadas ao estresse oxidativo. Contudo, o diferencial é que são dados obtidos de um produto cultivado no Nordeste do Brasil. No entanto, o isolamento de frações de polifenóis pode ser útil para saber exatamente qual é o componente fenólico de maior ação sobre as respostas observadas.

9. REFERÊNCIAS

- ABE, L.T., DA MOTA, R.V., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I.. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2007.
- ABEGÃO, D.L.R.. Vinho e saúde - início de desenvolvimento de metodologia enzimática inovadora com vista ao aumento da absorção de compostos antioxidantes presentes no vinho tinto. Dissertação. Universidade de coimbra. 2016
- AKSENOV M.Y, MARKESBERYA W.R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2001
- ANDRADE JM, PARAISO AF, DE OLIVEIRA MV. Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed. 2014
- ANLI , R. E. and VURAL, N.. Antioxidant Phenolic substances of Turkish Red Wines from Different Wine Regions . *journal/molecules*. 2009
- ANLI, R. E.; VURAL, N. Antioxidant Phenolic Substances of Turkish Red Wines from Different Wine Regions. *Molecules*. 2014.
- ANSANELLO, E.B.S., ANSANELLO NETTO, W.. 5-HTP, precursor de serotonina, promovendo a saciedade, a termogênese e o emagrecimento – uma revisão ibliográfica. *Revista UNINGÁ Review*. Vol.28,n.1, 2016
- ANYAKUDO M., OLANUBI A. Beneficial Effects of Moderate Intake of Red Wine on Glycemic Control, Lipid Profile and Pancreas Histoarchitecture in Diabetic Rats Fed on High Carbohydrate Diet. *Int J Food Sci Nutr Diet*. 5(7), 2016a
- ANYAKUDO, M.M.C and EKISOLA, B.F. “Moderate Consumption of Red Wine Impacts Beneficial Anti-Obesity Potential and Histo-Protective Effect on Target Organs in Diabetic Rats”. *EC Nutrition* 5.3, 2016, pp. 1169-1180.
- ARAÚJO, K.S.; BARBOSA, M.O.; ESPINOSA, V.E. Center for Strategic Technologies ofNortheast – CETENE, Pernambuco, Brazil. 2016.
- ARENHART, M.; FOGAÇA, A. de O. Influência da cor e dos compostos fenólicos sobre a capacidade antioxidante de vinhos tintos gaúchos. *The influence of color and phenolic compounds on the antioxidant capacity of gaucho red wines. Disciplinarum Scientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 16, n. 1. 2015.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of age red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, 2001.
- ARQUVIO BRASILEIRO DE CARDIOLOGIA. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Volume 109, Nº 2, Supl. 1, 2017.

AUBERVAL, N, DAL, S,E, BIETIGER, W. PERONET, C., PINGET, M., SCHINI-KERTH, V., SIGRIS, S.. Beneficial effects of a red wine polyphenol extract on high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Eur J Nutr.* 2016.

AVELLONE G, Di GARBO V, CAMPISI D. Effects of moderate Sicilian red wine consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr .* 2006.

BAJČAN, D., VOLLMANNOVÁ, A., ŠIMANSKÝ, V., BYSTRICKÁ, J., TREBICHALSK, Á.J.C.P.. Antioxidant activity, phenolic content and colour of the slovak cabernet sauvignon wines. *Potravinárstvo Scientific Journal for Food Industry.* vol. 10, 2016.

BASTOS, Â.P.M.. Ação de diferentes fungicidas na fisiologia e produtividade de videira. Juazeiro – Bahia, 2016.

BASTOS, D.H.M., ROGERO, M.M., ARÊAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabo.* 2009.

BERNARDES, N.R., GLÓRIA, L.L., NUNES, C.R., PESSANHA, F.F., MUZITANO, M. F., DE OLIVEIRA, D.B. Quantification of the levels of tannins and total phenols and evaluation of the antioxidant activity of fruits of pepper tree. *Vértices, Campos dos Goytacazes/RJ*, v. 13, n. 3, 2011

BIASI, F; DEIANA, M, GUINA T, GAMBA, P, LEONARDUZZI, G., POLI, G. Wine consumption and intestinal redox homeostasis. *Redox Biology.* 2014

BRADFORD, M. *Analytical Biochemistry.* 1976

BRITO-FILHO, S. B., MOURA, E.G., SANTOS, O.J., SAUAIA-FILHO, E.N., AMORIM, E., SANTANA, E.E.C., BARROS-FILHO, A.K. D., SANTOS, R.A. P.. Efeito da ingestão crônica de vinho sobre a homeostase glicêmica, lipídica e ponderal em camundongos WDs. *ABCD Arq. Bras. Cir. Dig.* 29(3), 2016.

BULAT P., DUJIC I., POTKONJAK B., VIDA KOVIC A. Activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in workers occupationally exposed to mercury. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 71 suppl. 1998.

BURIN, Vívian Maria. Caracterização de clones da variedade Cabernet Sauvignon: uvas e vinhos de São Joaquim, Santa Catarina. Florianópolis-SC. 2010

BURNS, J.; YOKOTA, T.; ASHIHARA, H.; LEAN, M.E.; CROZIER, A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J. Agric. Food Chem*, 2002.

CAO, Yin; WILLETT, W. C; RIMM, E. B; STAMPFER, M. J, GIOVANNUCCI, E.L. Light to moderate intake of alcohol, drinking patterns, and risk of cancer: results from two prospective US cohort studies. *the bmj. BMJ.* doi: 10.1136/bmj.h4238; 2015.

CARVALHO, M. F., COSTA, M. K. M. E., MUNIZ, G., CASTRO, R. M., NASCIMENTO, E. Dieta experimental baseada em alimentos listados pela Pesquisa de Orçamento Familiar é mais agressiva ao crescimento que ao desenvolvimento reflexo de ratos. *Rev. Nutr., Campinas*, 26(2), 2013.

CASSINO, C., GIANOTTI, V., BONELLO, F.; CRAVERO, C.; TSOLAKIS, M. C. and OSELLA, D.. Antioxidant Composition of a Selection of Italian Red Wines and Their

Corresponding Free-Radical Scavenging Ability. Journal of Chemistry. doi.org/10.1155/2016/4565391, 2016.

COTINGUIBA, G.G., SILVA, J.R.N., AZEVEDO, R.R.S., ROCH, T.J.M., DOS SANTOS, A.F.. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde. 2013.

CASTILHOS, M. B. M. e DEL BIANCHI V. L. . Vinhos tintos do noroeste paulista: relação entre os perfis físico-químico e sensorial. Holos, Ano 28, Vol 4, 2012

CAVALCANTE, T.C. F., DA SILVA, A. A. M., LIRA, M. C. A., ALMEIDA, L. C. do A., MARQUES, A.P.J., and DO NASCIMENTO, E.. Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. Int J Food Sci Nutr, Early. DOI: 10.3109/09637486.2014.950208, 2014

CHEN, W., SHAW, L., CHANG, P., TUNG, S.i, CHANG T. , SHEN, C. , HSIEH, Y. , and WEI, K.. Hepatoprotective effect of resveratrol against ethanol-induced oxidative stress through induction of superoxide dismutase *in vivo* and *in vitro*. Experimental and therapeutic medicine, v. 11, n. 4, 2016.

CHIVA-BLANCH, G., ARRANZ, S., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. and ESTRUCH, R.. Effects of Wine, Alcohol and Polyphenols on Cardiovascular Disease Risk Factors: Evidences from. Human Studies. Alcohol and Alcoholism Vol. 48, No. 3, 2013.

CHUANG, C.; MCINTOSH, M.K. Potential Mechanisms by Which Polyphenol-Rich Grapes Prevent Obesity-Mediated Inflammation and Metabolic Diseases. The Annual Review of Nutrition, v.31, 2011.

COOPER, J. A. Factors affecting circulating levels of peptide YY in humans: a comprehensive review. Nutrition Research Reviews. 27, 2014.

CORREIA-SANTOS AM, SUZUKI A, ANJOS JS, RÊGO TS, ALMEIDA KCL, BOAVENTURA GT. Modelo animal de diabetes tipo 2. Medicina, Ribeirão Preto. 2012.

CREGE, D.R. X. de O., MIOTTO, A. M., BORGHI, F., NUNES, V.W.-, KASSISSE, D. M.G.. Alterações Cardiometabólicas em Ratos Wistar Alimentados com Dieta Hiperlipídica e Hipercolesterolêmica por Seis Semanas. International Journal of Cardiovascular Sciences. 2016.

CUEVA, C.; GIL-SÁNCHEZ, I.; AYUDA-DURÁN, B.; GONZÁLES-MANZANO, S.; GONZÁLES-PARAMÁS, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M. V. An integrated view of the effects of wine polyphenols and their relevant metabolites on gut and host health. Molecules, v. 22, 2017.

DE ABREU, E. S., SIMONY, DIAS R. F., SILVEIRA, D.H., RIBEIRO, OLIVEIRA, F. R.. Avaliação do desperdício alimentar na produção e distribuição de refeições de um hospital de são paulo. Rev. Simbio-Logias, V.5, n.7, 2012.

DE ANDRADE, IS, ZEMDEGS, JCS, DE SOUZA AP, WATANABE, TELLES, RLH, MM, NASCIMENTO, CMO, OYAMA, LM, and RIBEIRO, EB. Diet-induced obesity

impairs hypothalamic glucose sensing but not glucose hypothalamic extracellular levels, as measured by microdialysis. *Nutrition & Diabetes*. 2015.

DE GROOT L, ABALOVICH M, ALEXANDER EK,. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012

DE SÁ, N. C.; SILVA, E. M. S., BANDEIRA, A. da S.. A CULTURA DA UVA E DO VINHO NO VALE DO SÃO FRANCISCO. *Revista de Desenvolvimento Econômico, RDE*. 2015.

DI LORENZO, A., BLOISE, N., MENEGHINI, S., SUREDA, A., TENORE, G. C., VISAI, L., ARCIOLA, C. R. Effect of Winemaking on the Composition of Red Wine as a Source of Polyphenols for Anti-Infective Biomaterials. doi:10.3390/ma9050316. *Materials*. 2016.

DINIZ, B. C. R.; MARTINS, A. M.; OLIVEIRA, V. de S.; SANTOS, A. F.. Avaliação das características físico-químicas e sensoriais do vinho rosado cabernet sauvignon no vale do submédio são Francisco. Petrolina, 2011

DRAPER H.H, HADLEY M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol*. 186, 1990.

EBBERT, J.O. and JENSEN, M. D. Fat Depots, Free Fatty Acids, and Dyslipidemia. *Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. Nutrients*, v. 5, n. 2, 2013.

FARIAS, T. F.. Viticultura e enologia no semiárido brasileiro (Submédio do Vale do São Francisco). Universidade federal de Santa Catarina. 2011

FEIJÓ, F.M., BERTOLUCI, M. C., REIS, C.. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. *Rev Assoc Med Bras* 57(1), 2011.

FERRAZIN, A. dos S.; GUEDES, M.C. S.. Vinhos Artesanais Da Região De Jundiaí: Caracterização E Teor De Compostos Fenólicos. *Revista Eletrônica FACP*, nº 08, 2015

FORBES J.M, COOPER M.E. Mechanisms of Diabetic Complications. *Physiol Revi*. VOL 93, 2013.

FRANÇA, B. K., ALVES, M. R. M., SOUTOA, F. M. S., TIZIANEA, L., BOAVENTURA, R. F, GUIMARÃES, A e J.R, A.A.. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. 2013.

FRANCO, E.S.. Avaliação do efeito antidiabético de *Parkinsonia aculeata* L. (Caesalpinaceae) em ratos wistar com síndrome metabólica: repercussões bioquímicas e moleculares. 2016.

FREITAS, M.C., CESCHINI, F.L., RAMALLO, B. T.. Resistência à insulina associada à obesidade: Efeitos anti-inflamatórios do exercício físico. *Revista Brasileira Ciencia e Movimento*. 22(3), 2014.

FRIEDEWALD WT, LEVY RI, FREDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18, 1972.

FURLAN, A.S.; RODRIGUES, L.. Consumption Of Polyphenols And Its Association With Nutritional Knowledge And Physical Activity. *Rev bras med esporte*. Vol. 22, 2016

GALAN, I., VALENCIA-MARTIN, J.L., GUALLAR-CASTILLON, P., RODRIGUEZ-ARTALEJO, F. Alcohol drinking patterns and biomarkers of coronary risk in the Spanish population. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 24, 2014.

GALLICE, W.C., MESSERSCHMIDT, I. e PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 3, 2011

GAO Z, HWANG D, BATAILLE F. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J. Biol Chem*, 277 (50), 2001.

GEIJSELAERS, S. L C, SEP, S. J S, STEHOUWER, C. D A, BIESSELS, G.. Glucose regulation, cognition, and brain MRI in type 2 diabetes: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014.

GEPNER, Y., GOLAN, R., HARMAN-BOEHM, I., HENKIN, Y., SCHWARZFUCHS, D. Effects of initiating moderate alcohol intake on cardiometabolic risk in adults with type 2 diabetes. *Annals of Internal Medicine*. 2015.

GLORIES, Y. La couleur des vins rouges. 2^a partie: mesure, origine et interpretation. *Connaissance Vigne Vin*, 1984 b.

GRANATO, D.. Associação entre a atividade antioxidante in vitro e características químicas, sensoriais, cromáticas e comerciais dos vinhos tintos sul americanos. Tese para a Obtenção do grau de Doutor. Universidade de São Paulo. FCF. 2011

GUERRA, C.C. e ZANUS, M.C.. Características analíticas e sensoriais de vinhos produzidos. No Vale do Submédio São Francisco, Brasil. I Workshop Internacional de Pesquisa. Petrolina e Recife - Brasil, 17 a 20 de agosto de 2004.

HAN, Kyu-Ho, HASHIMOTO, Naoto, FUKUSHIMA, Michihiro. Relationships among alcoholic liver disease, antioxidants, and antioxidant enzymes. *World J. Gastroenterol*, 7; 22, 2016.

HARB, Talissa B., TORRES, Priscila B., PIRES, Janaína S., DOS SANTOS, Déborah Y.A.C., CHOW, Fungyi. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do sistema quelante de metais para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2016.

HARBERTSON, J.; SPAYD, S. Measuring phenolics in the winery. *American Journal Enological and Viticultural*, n. 57, 2006.

HERNANDEZ-SALINAS, R., DECAP, V., LEGUINA, A., CÁCERES, P., PEREZ, D., URQUIAGA, I., ITURRIAGA, R. and VELARDE, V.. Antioxidant and anti hyperglycemic role of wine grape powder in rats fed with a high fructose diet. *Biological research*, 2015.

HIGUCHI, T., M., A., NARITA, K., ICHIMARU, T., MURATA, T.. Leptin resistance does not induce hyperphagia in the rat. *The Journal of Physiological Sciences*, v. 62, n. 1, 2012.

HOEK-VANDENHIL, E.F., VANSCHOTHORST, E.M., VANDERSTELT, I., SWARTS, H.J., VAN VLIET, M., AMOLO, T., Direct comparison of metabolic health effects of the flavonoids quercetin, hesperetin, epicatechin, apigenin and anthocyanins in high-fat-diet-fed mice. *Genes Nutr.* 2015.

HORA, G. B., MATTOSINHO, C. M.S., XAVIER, M. G.P.. Inovação na indústria vitivinícola do Vale do submédio São Francisco. 1ed., Aracaju : IFS, 2016.

HUANG D. J., Ou B.X., PRIOR R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005.

IBRAVIN. Wines of Brasil na vitrine da maior feira de bebidas do mundo. Bento Gonçalves, 2015.

<https://www.google.com.br/search?q=mapa+do+vale+do+s%C3%A3o+francisco&bi>

consultado em 12.09.2016

http://www.academiadovinho.com.br/regiao_mostra.php?reg_num=br04 consultado

em 12.09.2016

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: *Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985

ISO. International Standard Organization, 1973

JACOB, K. D.; HOOTEN, N. N.; TRZECIAK, A. R.; EVANS, K. markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related Disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, Amsterdam, v. 134, 2013.

Journal of American Oil Chemists Society. 97; 1990.

KATALINIĆ. V.; MILOS, M.; MODUN, D.; MUSIĆ, I.; BOBAN, M. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, v. 86, 2004.

KNOTT, C.S., COOMBS, N., STAMATAKIS, B., Emmanuel, Jane P. All cause mortality and the case for age specific alcohol consumption guidelines: pooled analyses of up to 10 population based cohorts. *BMJ*, doi: 10.1136/bmj.h384; 2015.

KOSIR, I.J.; ANDRENSEK, S.; WONDRA, A.G.; VRHOVSEK, U.; KIDRIC, J. Identification of anthocianins in wine by liquid chromatography, liquid Chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*, n. 513, 2004.

LALL, R. K.; SYED, D. N.; ADHAMI, V. M.; KHAN, M. I. and MUKHTAR, H. Dietary Polyphenols in Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. ISSN 1422-0067, 2015

LANDEIRO, F. M., QUARANTINI, L. de Castro. Obesidade: Controle Neural e Hormonal do Comportamento Alimentar. Revista de Ciências Médicas e Biológicas. Salvador, v.10, n.3, 2011.

LEONETTI, D., SOLETI, R., CLERE, N., VERGORI, L., JACQUES, C., DULUC, Lucie Catherine Dourguia, MARTÍNEZ, Maria C. and ANDRIANTSITOHAINA, Ramaroson. Estrogen Receptor α Participates to the Beneficial Effect of Red Wine Polyphenols in a Mouse Model of Obesity-Related Disorders. *Frontiers in Pharmacology*. 2017.

LI L., HAI J., LI Z. Resveratrol modulates autophagy and NF-kappaB activity in a murine model for treating non-alcoholic fatty liver disease. *Food Chem Toxicol* 63, 2014.

LIMA, D. B. de, AGUSTINI, B. C., SILVA, E. G., GAENSLY, F., CORDEIRO, R. B., FÁVERO, M. D., BRAND, D., MARASCHIN, M., BONFIM, T. M. B. Evaluation of phenolic compounds content and in vitro antioxidant activity of red wines produced from *Vitis labrusca* grapes. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 2011

LINS, A. D. F., ROQUE, I. M. B, LISBÔA, C.G. C., FEITOSA, R. M., COSTA, J. D. de S.. Qualidade durante o desenvolvimento de uvas viníferas 'Syrah' do Submédio do Vale São Francisco. *Agropecuária Técnica*, 2015.

LIU, K., ZHOU, R., WANG, B., and M.I, M.. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *American Society for Nutrition. Am J Clin Nutr*. 2014.

LOPES, L. L., PELUZIO, M. do C. G., HERMSDORFF, H. H. M. *Monounsaturated fatty acid intake and lipid metabolism*. *J Vasc Bras*. 2016.

LUCENA A.P.S., NASCIMENTO R.J.B., MACIEL J.A.C., TAVARES J.X., BARBOSA-FILHO J.M., OLIVEIRA J.E. Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines. *J. Food Compos Anal*, 2010.

MACHADO, I. P. L., GUEDES, F. F. avaliação do conteúdo de *trans*-resveratrol em vinhos elaborados a partir das variedades de uva bordô e isabel. *Rev. de Ini. Cient. da ULBRA*. 2015.

MAGNO F.C, DA SILVA M.S., COHEN L, S.L, ROSADO E.L, CARNEIRO J.R. Nutritional profile of patients in a multidisciplinary treatment program for severe obesity and preoperative bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig*. 27 Suppl 1, 2014.

MAHLI, A., HELLERBRAND, C.A. and Obesity: A Dangerous Association for Fatty Liver Disease. *Digestive Diseases* 34 (suppl 1), 2016, pp.32–39

MANTOVANI, K M; HORTA, R P; MESSERSCHMIDT, I. Quantificação do teor de fenóis totais e dos índices de cor em amostras de vinho. *Sociedade Brasileira de Química (SBQ)*, 2010.

MARCONATO, M.S.F., da SILVA, G.M.M, FRASSON, T.Z. Hábito Alimentar de Universitários Iniciantes e Concluintes do Curso de Nutrição de Uma Universidade do Interior Paulista. *Ver. Bras. De Obes., Nutri. e Emagr.*, São Paulo. V.10. 2016.

MARINHO, H. S. et al. Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. *Redox Biol*, v. 2. 2014.

MARKOSKI, M. M., GARAVAGLIA, J., OLIVEIRA, A., OLIVAES, J. and MARCADENTI, A. Molecular Properties of Red Wine Compounds and Cardiometabolic Benefits. *Nutrition and Metabolic Insights*. 2016.

MARTINS, F., CAMPOS, D. H. S., PAGAN, Luana Urbano, MARTINEZ, Paula Felipe, OKOSHI, Katashi, OKOSHI, Marina Politi, PADOVANI, Carlos Roberto, DE SOUZA, Albert Schiaveto, CICOONA, Antonio, DE OLIVEIRA-JUNIOR, Carlos Silvio Assis. High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity. *Arquivo brasileiro de cardiologia*. 2015.

MATHEWS, J.N.S., ALTMAN, D.G., CAMPBELL, M.J., ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. *British Medical Journal*, 27, 1990.

MAZEN NOUREDDIN, A.Z. & R.L. Promising Therapies for Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 2016.

MELLO, L. M. R. de O Brasil no contexto do mercado vitivinícola mundial: panorama 2014. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 2015.

MENG, J., FANG, Y., QIN, M., ZHUANG, X., ZHANG, Z.. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). *Food Chemistry*. 134, 2012.

MILIĆ S., LULIĆ D., ŠTIMAC D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol*. 20(28), 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Desmistificando dúvidas sobre alimentação e nutrição: material de apoio para profissionais de saúde. UFG. Brasília, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE.VIGITEL Brasil 2014 – Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças Crônicas por inquérito telefônico. 1ª edição,. Brasília. 2015.

MIRA, N.V.M.; BARROS, R.M.C.; SCHIOCCHET, M.A.; NOLDIN, J.A.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (*Oryza saliva* L.). *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 28, n. 4, 2008.

MITSUISHI Y., MOTOHASHI H., YAMAMOTO M. The Keap1–Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism. *Frontiers in Oncology*. 2012

MUCACA, C.A.L., TAVARES FILHO, J. H., NASCIMENTO, E., ARRUDA, L.L.A.L. Phenolic Composition, Chromatic Parameters and Antioxidant Activity “in vitro” in Tropical Brazilian Red Wines. *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 5, No. 10, 2017.

MUSUMECI, M. Role of SH levels and markers of immune response in the stroke. *Dis Markers*, v. 35, n. 3, 2013.

NIXDORF, S.L. e H.I. Brazilian Red Wines Made from the Hybrid Grape Cultivar Isabel: Phenolic Composition and Antioxidant Capacity. *Analytica Chimica Acta*, 659, 2010.

NOROOZI, M.; ANGERSON, W.J.; LEAN, M.E. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998.

OLIVEIRA, J. B. Influência do clima, porta-enxerto e clones sobre as características analíticas e sensoriais de vinhos tropicais cv. Syrah. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 2012.

OLIVEIRA, L.P.M., ASSIS, A. M.O., DA SILVA, M. da C. M., DE SANTANA, M. L. P., DOS SANTOS, N.S., PINHEIRO, S.M. C., BARRETO, M.L., SOUZA, C. de O. Factors associated with overweight and abdominal fat in adults in Salvador, Bahia State, Brazil, *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 2009.

OLIVEIRA-JUNIOR S.A, MARTINEZ P.F, GUIZONI D.M, CAMPOS D.H, FERNANDES T., OLIVEIRA E.M., AT1 receptor blockade attenuates insulin resistance and myocardial remodeling in rats with diet-induced obesity. *Plos One*. 2014.

PAIVA, F.P., MAFFILI, V.V. SANTOS, A.C.S. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. FIOCRUZ. Salvador, 2005

PANDEY, K.B.; Rizvi, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2009.

PEREIRA, G.E.; SOARES, J.M.; GUERRA, C.C.; ALENCAR, Y.C.L. De; LIRA, M.M.P.; LIMA, M.V.D. O.; Sãotos, J. *Caractérisation de vins rouges tropicaux produits au Nord-Est du Brésil*. In: German viticulture congress wine in motion, 59o, Stuttgart. Proceedings. Stuttgart, 2007.

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

PIETTA P. Flavonoids as Antioxidants (Review). *J. Nat. Prod.* 63(7). 2000

PINHO, R.A. de, SOARES, F.S., ROCHA, L.G. da C., PINHO, C.A. de, SILVA, L.A. da, SILVEIRA, P.C.L. Preventive and therapeutic effects of physical exercise on bleomycin-induced lung injury and oxidative stress. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum* 2009.

PORGALI, E.; BÜYÜKTUNCEL, E. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods *Food Research International*. v.45, 2012.

PRICE, M.L.; SCOYOC, S.V.; BUTLER L.G.A *Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain*. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 26, n.5, 1978.

PUNITHAVATHI, V.R., PRINCE, P.S. M., KUMAR, M.R., and SELVAKUMARI, C.J. Protective Effects of Gallic Acid on Hepatic Lipid Peroxide Metabolism, Glycoprotein

Components and Lipids in Streptozotocin-Induced Type II Diabetic Wistar Rats. J BIOCHEM MOLECULAR TOXICOLOGY Volume 25, Number 2, 2011.

RADOVANOVIĆ, B., RADOVANOVIĆ, A., Free Radical Scavenging Activity and Anthocyanin Profile of Cabernet sauvignon Wines from the Balcan Region, Molecules, 2010.

RAMOS, S. Cancer chemoprevention and chemotherapy: Dietary polyphenols and signalling pathways. Mol. Nutr. Food Res. 2008.

RIZZON, L.A.; MIELE, A.. Avaliação da cv. Cabernet sauvignon para elaboração de vinho tinto. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2002.

RODRIGO, R.; MIRANDA, A.; VERGARA, L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in humin disease. Analytical Chimica Acta v.412, 2011.

RODRIGUES, W.A., MAGALHÃES, P.C., DOS SÃOTOS, Fredolino Giacomini, BERTECHINI, Antônio Gilberto, TOSELL, Geraldo A. Assays to detect tannins in sorghum evaluating chicks performance and digestibility of dry matter. Ciênc. E agrotec., lavras, v.22, n.4, 1998.

RODRÍGUEZ-DELGADO, M.A.; GONZÁLES, G.; PÉREZ-TRUJILLO, J.P.; GARCÍA-MONTELONGO, F.J. Trans-resveratrol in wines from the Canary Islands (Spain). Analysis by high performance liquid chromatography. Food Chem., v.76, 2002.

ROMERO, C.E.M., ZANESCO, A. The role of leptin and ghrelin on the genesis of obesity. Rev. Nutr., Campinas, 19, 2006

ROSENZWEIG, T., SKALKA, N., ROZENBERG, K., ELYASIYAN, U., PINKUS, A., GREEN, B., STANEVSKY, M., DRORI, E. Red wine and wine pomace reduced the development of insulin resistance and liver steatosis in HFD-fed mice. Journal of Functional Foods 34, 2017.

ROSINI, T.C., DA SILVA, A.S.R., DE MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. Rev Assoc Med Bras. 2012.

RUBERTO, G., RENDA, A., DAQUINO C., AMICO, V., SPATAFORA, C., Tringali, C., DE TOMMASI N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. Food Chemistry, Barking, v.100, 2007.

RUBIN, R.H., DEUSCHLE, V.C.K.N., BOLIGON, A.A., DA CRUZ, R.C., DEUSCHLE, R.A.N. Caracterização fitoquímica, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Tabernaemontana catharinensis* DC. Rev. Bras. Farm. 2017.

RUPASINGHE, H.V., SEKHON-LOODU, S., MANTSO, T., PANAYIOTIDIS, M.I. Phytochemicals in regulating fatty acid β -oxidation: Potential underlying mechanisms and their involvement in obesity and weight loss. Pharmacology & therapeutics, 165, 2016.

SATO, A.J., JUBILEU, B.S., ASSIS, A.M., ROBERTO, S.R.. Fenologia, produção e composição do mosto da 'cabernet sauvignon' e 'tannat' em clima subtropical. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 33, n. 2; 2011

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio com Supradesnível do Segmento ST. V.105, 2015

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. Volume 109, Nº 2, Supl. 1, 2017

SÉFORA-SOUSA, M., DE ANGELIS-PEREIRA, M.C.. Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.4, 2013.

SHINAGAWA, F.B.; SANTANA, F.C.; MANCINI-FILHO, J. Efeito do óleo de semente de uva prensado a frio nos marcadores bioquímicos e perfil inflamatório de ratos. Rev. Nutr., Campinas. 2015.

SILVA, A.B. de J, OLIVEIRA, A.V.K, SILVA, J.D., QUINTAES, K.D., FONSECA, V.A. da S, NEMER, A.S.A. *Relationship between alcohol consumption by female college students and body adiposity*. J Bras Psiquiatr. 2011.

SILVA, L.R., QUEIROZ, M. Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2015.

SILVA, T.M. da. VASCONCELOS, M.A. da S. Caracterização fenólica e capacidade antioxidante de vinhos tintos do Hemisfério sul. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco/CCS-Departamento de Nutrição. Recife, 2015.

SOARES FILHO, P.R., CASTRO, I., STAHLSCHMIDT, A.. Efeito do Vinho Tinto Associado ao Exercício Físico no Sistema Cardiovascular de Ratos Espontaneamente Hipertensos. Arq Bras Cardiol 2011

SOARES, E. dos R., MONTEIRO, E.B., DA SILVA, R.C., BATISTA, A., SOBREIRA, F., MATTOS, T., DA COSTA, C.A., DALEPRANE, J.B.. Compostos bioativos em alimentos, estresse oxidativo e inflamação: uma visão molecular da nutrição. revista.hupe.uerj.br v. 14, n. 3, 2015.

SOARES, L.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. Ciênica e Tecnologia de Alimentos, v. 28, 2008.

STAVRIDOU, K., Soufleros, E.H., BOULOUMPASI, E. and DAGKLI, V. The Phenolic Potential of Wines from French Grape Varieties Cabernet Sauvignon, Merlot and Syrah Cultivated in the Region of Thessaloniki (Northern Greece) and Its Evolution during Aging. Food and Nutrition Sciences. 2016.

STOCKER, R. and O'HALLORAN, R.A. Dealcoholized red wine decreases atherosclerosis in apolipoprotein E gene-deficient mice independently of inhibition of lipid peroxidation in the artery wall. Am J Clin Nutr. 79, 2004, pp.123–30.

STOCKLEY, Creina S. The relationships between alcohol, wine and cardiovascular diseases – A review. Nutrition and Aging. 2015.

TORRES, A., CACHOFEIRO, V., MILLÁN, J., LAHERA, V., NIETO, M.L., MARTÍN, R., BELLO, E., ALVAREZ-SALA, L.A. Red wine intake but not other alcoholic beverages increases total antioxidant capacity and improves pro-inflammatory profile after an oral fat diet in healthy volunteers. Rev Clin Esp. 2015.

VANNUCCHI, H., MOREIRA, E.A.M, DA CUNHA, D.I.F., JUNQUEIRA-FRANCO, M. V.M., BERNARDES, M.M., JORDÃO-JR, A.A. Role of nutrients on lipid peroxidation and antioxidant defense system. Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: NUTRIÇÃO CLÍNICA 31: 31- 44. 1998.

VASCONCELOS, S.M.L.; MOURA, J.B. de F., MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L.T. Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, Antioxidantes e Marcadores de Dano Oxidativo em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos Para Sua Determinação. Quim. Nova, Vol. 30, No. 5, 2007.

VAZQUEZ-PRIETO, M.A., GONZALEZ, R.E., RENNA, N.F., GALMARINI C.R., and MIATELLO, R.M. Aqueous Garlic Extracts Prevent Oxidative Stress and Vascular Remodeling in an Experimental Model of Metabolic Syndrome. J. Agric. Food Chem., Vol. 58, No. 11, 2010

VILELA, A., JORDÃO, A. M., COSME, F.. *Wine phenolics: looking for a smooth mouthfeel*. SDRP Journal of Food Science & Technology. volume 1: issue 1, 2016.

WANG YI, BETTAIEB A, SUN C. Triglyceride-rich lipoprotein modulates endothelial vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 expression via differential regulation of endoplasmic reticulum stress. PLoS One. 2013.

WU, G., JOHNSON, S. K., BORNMAN, J.F., BENNETT, S.J., SINGH, V.S.A., FANG, Zhongxiang. Effects of Genotype and Growth Temperature on the Contents of Tannin, Phytate and In Vitro Iron Availability of Sorghum Grains. Journal pone, 2016.

ZHENG Y, LIU Y, GE J. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂- induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. Molecular Vision. 2010.

ŽIVKOVIĆ, J., ŠAVIKIN, K., ZDUNIĆ, G., GOĐEVAC, D., MARKOVIĆ, N., PRŽIĆ, Z. and MENKOVIĆ, N. Influence of bunch morphology on quality of wines produced from clones of grape variety Prokupac. J. Serb. Chem. Soc. 81; 2016.

Apêndices

Apendice 1: Artigo publicado na *Journal of Food and Nutrition Research* <http://www.sciepub.com/jfnr/content/5/10> Qualis da área de nutrição **B2**, fator de Impacto **1.950**.

Journal of Food and Nutrition Research, 2017, Vol. 5, No. 10, 754-762
Available online at <http://pubs.sciepub.com/jfnr/5/10/6>
©Science and Education Publishing
DOI:10.12691/jfnr-5-10-6



Phenolic Composition, Chromatic Parameters and Antioxidant Activity “in vitro” in Tropical Brazilian Red Wines

Cornélio Artur Luís Mucaca¹, José Henrique Tavares Filho¹, Elizabeth do Nascimento¹,
Luciana Leite de Andrade Lima Arruda^{2,*}

¹Universidade Federal de Pernambuco, Department of Nutrition, Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife - PE CEP 50670-901

²Universidade Federal Rural de Pernambuco/Rural Technology Department, Av. D. Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife - PE CEP 52171-900

*Corresponding author: cmucaca@gmail.com

Abstract Red wines are a rich source of several classes of polyphenols that have the ability to act as antioxidants chelating metals, inhibiting lipid peroxidation and sequestering free radicals scavenging. Our study aims to determine the phenolic composition, chromatic parameters and antioxidant activity “in vitro” in tropical Brazilian red wines from the Syrah and Cabernet Sauvignon varieties of the 2011, 2013 and 2014 vintages from São Francisco Valley. Total polyphenols, polyphenols index, total anthocyanins, condensed tannins, color intensity, tonality and the phenolic profile was determined. Consequently, color index ranged from 8.08 to 15.03; tonality between 0.72 and 1.0; total phenolics expressed as gallic acid equivalents ranged between 1,528.90 mg.L⁻¹ and 4,003.96 mg.L⁻¹; anthocyanins ranged between 98.94 mg.L⁻¹ and 501.2 mg.L⁻¹ and condensed tannins between 61.08 and 147.74 mg.L⁻¹. Resveratrol presented means ranging between 2.75 and 26.89 mg.L⁻¹, and the antioxidant activity ranged from 58.02% to 95.70%. We did not observe correlation between anthocyanins and color with antioxidant capacity. The results of this study showed better values of polyphenols and potent antioxidant activity when compared with other studies. These results can be associated with possible beneficial effects on health.

Keywords: antioxidant activity, phenolic profile, polyphenols, red wines, tropical wines

Cite This Article: Cornélio Artur Luís Mucaca, José Henrique Tavares Filho, Elizabeth do Nascimento, and Luciana Leite de Andrade Lima Arruda, “Phenolic Composition, Chromatic Parameters and Antioxidant Activity “in vitro” in Tropical Brazilian Red Wines.” *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 5, no. 10 (2017): 754-762. doi: 10.12691/jfnr-5-10-6.

1. Introduction

The Brazilian northeast is responsible for 26% of the national production of grapes, representing a total of 41 million tons. The grape production in the Northeast of Brazil is concentrated mainly in the region of the São Francisco Valley, located in the backwoods of Pernambuco and Bahia [1]. This region, situated between latitude 8° and 9° S -with a semiarid tropical climate, intra-annual variability, characterized by warm days and nights, produces grapes during different year seasons. Interactions between the vine and natural environmental factors mainly the solar radiation action about their photosynthetic and thermal mechanisms influencing significantly the chemistry composition and consequently the characteristics of grapes and wines [2,3].

It is the only region of the world that produces grapes year-round. Depending on the cultivar, the harvests can occur between two and three annually [4].

In the year 2014, the production of grapes destined to the processing of wine, juices and other derivatives was

673.422 million Kg of grapes, representing 46.89% of the national production [5]. In the state of Pernambuco, there was an increase of 3.52% among the varieties tested in the region of the São Francisco Valley whose climate is semi-arid tropical [5] and the São Francisco Valley stands out in production of table wines in Brazil [6].

The São Francisco Valley (SFV) is currently the second largest producer of fine wines in Brazil with six wineries, five of which are located in Pernambuco and one in Bahia [7]. In this region, the vines are cultivated under controlled irrigation conditions consequently the wines have been demonstrating a high concentration of phenolic compounds, bioactive with a beneficial effect on human health [8].

Among the cultivars of the VSF, the main varieties *Vitis vinifera* L. used in the elaboration of red wines in the São Francisco Valley, Syrah, Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Ruby Cabernet and Alicante Bouschet grapes [9]. On the other hand, the Cabernet Sauvignon grape is considered one of the most prestigious grape varieties in the world [10]. It is one of the most successful grape varieties in the production of red wine, which is the result of the natural crossing between the varieties

Cabernet Franc and Sauvignon Blanc, also natural of the main wine producing region of the world [10]. Cabernet Sauvignon wine is characterized by its red color with sharp violet reflections, tannin richness and aroma complexity [10].

Previous studies have shown that wine polyphenols play an important role in oenology because of their influence on some important sensory properties of grapes and wines, such as color, stability, bitterness and astringency due to their antioxidant and anti-inflammatory properties. The phenolic compounds are also associated with several beneficial physiological effects derived from moderate wine consumption [11]. In the human body, the phenolic compounds act as non-enzymatic antioxidants suggesting a free radical scavenging role derived from reactive oxygen and/or nitrogen species [12].

Among the phenolic compounds of red wines, phenolic acids composed by hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids represent 30% of the phenolic compounds [12].

Stilbenes act as anti-fungal phytoalexins have great potential in biological and cellular processes applicable to human health by their ability to inhibit the cellular events associated with carcinogenesis, including initiation, promotion and tumor progression. The resveratrol is the best known example to Stilbenes [12]. Flavonoids are uncoloured phenolics more abundant in the shell of fruits. The anthocyanins (cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidine, pelargonidin and malvidin) are the main red wine pigments responsible for the color of red wine [11]. Studies have shown beneficial effects of anthocyanins that act as antioxidants, anti-inflammatory and anticancer, anti-diabetes, cardiovascular and neurological diseases [15].

Thus, our study aims to contribute to the knowledge of the characteristics of Brazilian wines, particularly São Francisco Valley. The results obtained in this study can improve value to the local product and increase its commercialization. Considering the previously mentioned aspects, we propose the hypothesis that the red wines of the São Francisco Valley have a quality similar to the red wines of regions such as South America and the European Community. The objective of the study is to characterize the phenolic profile of the cultivars Cabernet Sauvignon and Syrah of the 2011, 2013 and 2014 vintages of the SFV and to analyze its correlation with the antioxidant capacity.

2. Material and Methods

Samples

Young, monovarietal and commercial tropical red wines were provided by the wineries of São Francisco Valley cultivars from Syrah and Cabernet Sauvignon, from the 2011, 2013 and 2014 harvests. The choice of samples was due to the fact that Syrah and Cabernet Sauvignon grapes are among the main varieties used in the elaboration of red wines in the São Francisco Valley and are pointed as important for winemaking in Brazil [16]. In addition, the demand and appreciation of the Syrah and Cabernet Sauvignon wines have been verified in the national and international markets [17,18,19,20].

2.1. Determination of the Phenolic Compounds and Color Parameters

Spectrophotometric analysis

The Folin-Ciocalteu reagent, mixture of phosphomolibdenic and phosphotungstic acids, is used to determine the polyphenols total concentration. The method is based on initial reactions of reduction of the phenolic compounds to phenol ions, terminated by the alkalization of the medium [12,21]. The total polyphenols compounds content of the wines was determined in triplicate using the Folin-Ciocalteu reagent [13]. The absorbance was measured using a spectrophotometer (Varian® UV-Vis), with quartz cuvettes, at the wavelength of 725nm. The total phenolic content was determined by a standard curve of gallic acid (0 to 8 mg.L⁻¹) and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents per liter (mg GAE.L⁻¹).

Total polyphenols index (TPI), is based on the absorption capacity of ultraviolet (UV) radiation at 280 nm by the aromatic rings, whose concentration obeys the Lambert-Beer law [21]. The samples were diluted for 2% in distilled water and read in a spectrophotometer at 280nm in quartz cuvettes, and the results expressed through the absorbance, considering the dilution factor.

The determination of the total anthocyanins was performed by the spectrophotometric method of pH differential, through the transformation in the chromophore structure of the anthocyanins in acid medium [22]. The total anthocyanin content was determined in triplicate, using the pH differential method and a linearity factor of 388 [23]. The absorbance was measured using a spectrophotometer (Varian® UV-Vis) at the wavelength of 520nm.

Condensed tannins content of the wines were determined by the vanillin/HCl method as described by Price, [23] modified [28,29]. Catechin was used as the standard for the calibration curve with concentrations in mg.L⁻¹(0.18 at 1.80) and the results were expressed as mg of catechin equivalents per liter (mg CE.L⁻¹).

The color intensity was measured by sum of the absorbances at 420, 520 and 620 nm and the tonality by ratio between 420 and 520nm [21,24,25]. And the following colorimetric indices: % yellow, % red, and % blue at wavelengths of 420, 520, and 620 nm, respectively, in relation to the intensity of the color [26].

Chromatographic Analysis

For high performance liquid chromatograph (HPLC) coupled with UV-Vis detector Ultimate 3000 Dionex®, containing quaternary pump and a 20µL injection loop was used. The HPLC was controlled by a PC running Chromeleon® Software system. Stock solution of all standards was prepared in methanol, and the calibration curves were obtained from triplicate injections of five concentrations. For all standard curves correlation coefficients (r) were above 0.98. All the compounds were identified by comparing their retention times with those pure standards (Sigma-Aldrich®).

Flavanols (+)-catechin), phenolic acids (gallic acid, syringic acid, ellagic acid, vanillic acid, caffeic acid, p-cumaric acid and ferulic acid), flavonols (rutin,

myricetin, quercetin, and kaempferol) and of stilbens (trans-resveratrol) were measured in triplicate using an Acclaim® 120 DionexC-18 analytical column (250 mm x 4.6 mm, 5 µm particle size) at 36°C. The mobile phase was consisted of A (methanol: phosphoric acid 0.5% in water, 10:90 v/v) and B (methanol: phosphoric acid 0.5% in water, 90:10 v/v). The gradient elution conditions were as follow: 0-25min (100-15% A); 25-50min (15-5% A) and 50-52 min (5-100% A). The flow rate was 0.6 mL.min⁻¹. Before analysis the samples were filtered with 0.45µm filter with PTFE membrane (Millipore®). The wavelengths were used as follow: 220nm (gallic acid, catequin, vanillic acid, siringic acid and caffeic acid), 260nm (rutin and ellagic acid), 306nm (ferulic acid, p-cumaric acid and trans-resveratrol) and 368nm (myricetin, quercetin and kaempferol) [2,30].

2.2. Determination of Antioxidant Activity "in vitro"

According to methodology described by Porgali and Büyüktuncel [33], solutions at different concentrations of DPPH* (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) have had their absorbance measured at 517nm in a spectrophotometer (Varian® 50 Bio UV/Vis). The free radical-scavenging activity towards the DPPH* was determined in triplicate [32]. Following this method of each one wines dilutions 0.1mL was mixed with 2.9mL of metanolic solution (60µM of DPPH*). After 30 minutes, the absorbance was measured at 517nm. The free radical-scavenging activity was expressed as the percentage of sequestering activity (%SA), calculated by the equation (1):

$$\%SA = 100 \times \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \quad (1)$$

Where, A_{control} is the absorbance of the solution containing radical DPPH* and methanol and A_{sample} is the absorbance of the sample.

2.3. Statistical Analysis of Data

In vitro analyzes were performed in triplicate and the results were presented as mean and standard deviation. To compare the results, we used variance analysis (ANOVA) with Bonferonni's post-test ($p < 0.05$) to identify possible differences between the means. The Graph prism for Windows 6.0 program was used at the 5% level of significance.

3. Results

3.1. Phenolic Composition of the Wines and Its Antioxidant Activity "in vitro"

The characterization of the cultivars and vintages of the wines of the São Francisco Valley show great diversity in the indices evaluated as intensity of color, phenolics, anthocyanins, condensed tannins and the phenolic profile. However, the evaluation of the antioxidant activity *in vitro* shows great homogeneity for Cabernet Sauvignon wine independent of the crop and presents more scientific evidence in studies when compared to the Syrah wine.

The Table 1 shows the variation of the chromatic parameters of the red wines of the cultivars Syrah and Cabernet Sauvignon found in the study.

According to the data presented in Table 1, the color intensity did not show significant differences between the wines Cabernet Sauvignon 2011 (CSI 11) and Cabernet Sauvignon 2014 (CSIII14) despite the color tone, the percentage of yellow, the percentage of red presented significant differences for the same wines. On the other hand, the color index showed an average variation of 8.08 to 14.03 in the Syrah wines and 10.64 a 15.03 in the Cabernet Sauvignon wines.

The values for color tonality of the wines in our study vary from 0.72 to 1.01. While the percentage of shades of the present study shows a variation of yellow from 36.6% to 43.5%, red from 43.7 to 50.9% and blue from 12 to 13% in the different cultivars and harvests analyzed. On the other hand, our results indicate that the wines Syrah and Cabernet Sauvignon of the São Francisco Valley of the studied crops, present a maximum absorbance at 520nm. This finding runs counter to the hypothesis that the spectrum of young red wines exhibits a more or less narrow absorbance maximum at 520 nm.

The Figure 1, shows the variation of the total polyphenols index (TPI), total polyphenols and total anthocyanins of wines studied.

Regarding to the total polyphenols index (Figure 1A) the results showed averages ranging from 103.6 in the Syrah of 2013; 64.06 in Cabernet Sauvignon of 2013; 97.83 in Cabernet Sauvignon, of 2014; 75.87 in Cabernet Sauvignon of 2011 and 73.48 in Syrah of 2014. However, these wines did not show significant differences ($p < 0.05$) for the total polyphenol content between the 2011 Cabernet Sauvignon and the 2014 Syrah wines.

Table 1. Chromatic parameters of red tropical wines of cultivars Syrah (SY) and Cabernet Sauvignon (CS). Studies as color intensity (CI), color tonality (TC), percentage of yellow (%yellow), percentage of red (% red) and percentage of blue (% blue).

Sample	CI	TC	% yellow	% red	% blue
CS I 11	11.13±0.26 ^c	1.02±0.018 ^a	43.58±0.06 ^a	43.73±0.07 ^c	12.69±0.04 ^a
CS II 13	15.03±0.43 ^a	0.74±0.01 ^c	37.03±0.02 ^c	50.65±0.03 ^a	12.32±0.05 ^a
SY I 13	14.03±0.49 ^b	0.72±0.01 ^c	36.71±0.03 ^c	50.64±0.07 ^a	12.65±0.05 ^a
CS III 14	10.64±0.16 ^c	0.92±0.01 ^b	41.91±0.16 ^b	45.96±0.19 ^b	12.13±0.04 ^a
SY II 14	8.08±0.10 ^d	0.72±0.01 ^c	36.66±0.02 ^c	50.98±0.02 ^a	12.35±0.01 ^a

Color intensity (CI), tonality (T), percentage of yellow (% yellow), percentage of red (% red) and percentage of blue (%blue); CS I 11 (Cabernet Sauvignon, winery I, harvest 2011); CS II 13 (Cabernet Sauvignon, winery II, harvest 2013); SY I 13 (Syrah, winery I, harvest 2013); CS III 14 (Cabernet Sauvignon, winery III, harvest 2014); SY II 14 (Syrah, winery II, harvest 2014). Analysis of variance (ANOVA) one way followed by Bonferonni's post-test. Different letters, in the column, indicate significance variation ($p < 0.05$).

The mean of total phenolic content equivalent to gallic acid (Figure 1B) varied in the samples at 2,273.52 mg.L⁻¹ in the Syrah wine of 2013; 2,533.18 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon 2013; 2,233.21 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon, 2014; 1,528.9 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon of 2011 and 4,003.96 mg.L⁻¹ in Syrah of 2014. We have noted that there are no significant differences between the wines Syrah of 2013, Cabernet Sauvignon of 2013 and Cabernet Sauvignon of 2014 for $p < 0.05$. However there is significance between Syrah of 2013 wines and Cabernet Sauvignon of 2011 and 2014 wines.

The content of total anthocyanins (Figure 1C) varied in average of 384.3 mg.L⁻¹ in Syrah wine of 2013; 359.7

mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon 2013; 98.94 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon, 2014; 101.3 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon 2011; 501.2 mg.L⁻¹ in Syrah of 2014. In previous study by BAJČAN et al. (2016) with wines of Cabernet Sauvignon cultivar from different areas of Slovakia, anthocyanin levels ranged from 68.6 mg.L⁻¹ to 430.7 mg.L⁻¹.

The content of condensed tannins in our study (Figure 1D) showed significant differences in the wines - CS I 11, 61.08 mg.mL⁻¹; CS III 14, 80.83 mg.mL⁻¹, and SY II 14, 121.27 mg.mL⁻¹, whereas the SY I 13 - 147.74 mg.mL⁻¹ and CS II 13 - 146.89 mg.mL⁻¹, did not present any significant differences among themselves.

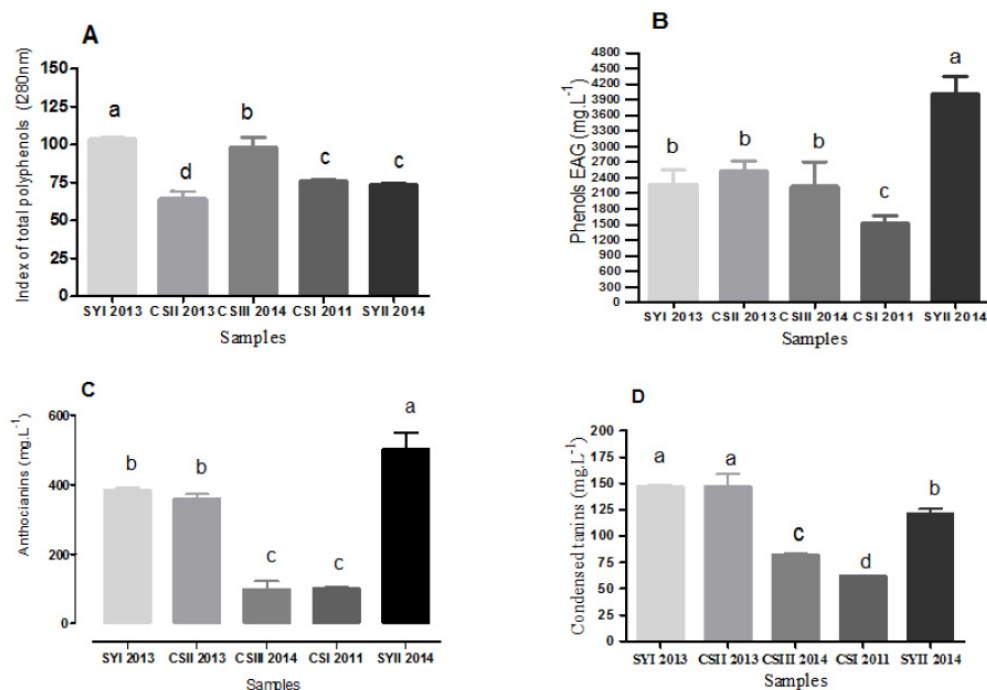


Figure 1. Total polyphenols index (A), concentration total phenolics expressed as gallic acid equivalents (B), total anthocyanins expressed in mg.L⁻¹ of 3-glucose malvidin, (C) condensed tannins in mg.L⁻¹ (D) of Cabernet Sauvignon and Syrah wines. Cabernet Sauvignon/winery I/2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon/ winery III, 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon/winery II/2013 (CS II 13); Syrah/winery I/2013 (SY I 13); and Syrah/winery II/2014 (SY II 14). ANOVA one way followed by Bonferroni's post-test. Different letters indicate significance variation ($p < 0.05$)

Table 2. Phenolic profile of Cabernet Sauvignon and Syrah wines, 2011, 2013 and 2014 vintages of the São Francisco Valley

Compounds	Concentration in wines (mg.L ⁻¹)				
	SY I 13	CS II 13	CS III 14	CS I 11	SY II 14
Gallic acid	58.26±0.26 ^a	29.78±0.13 ^b	38.05±0.82 ^a	32.73±0.00 ^b	69.05±0.00 ^a
Vanillic acid	4.80±0.05 ^c	4.43±0.12 ^c	44.36±0.75 ^a	3.12±0.00 ^d	6.13±0.00 ^b
Syringic acid	5.38±0.22 ^a	1.42±0.01 ^{b,a,c}	0.56±0.00 ^{c,d,b}	ND	0.34±0.00 ^{d,c}
Caffeic acid	38.10±0.23 ^a	7.81±0.35 ^d	15.16±0.30 ^c	ND	33.02±0.00 ^b
Ferulic acid	3.11±0.15 ^a	ND	3.94±0.00 ^a	ND	2.06±0.00 ^b
Cumaric acid	ND	1.09±1.00 ^b	1.68±0.00 ^a	ND	ND
Elagic acid	ND	ND	ND	ND	ND
Catechin	45.73±0.08 ^b	32.99±2.11 ^c	57.27±0.04 ^b	81.00±0.00 ^a	29.05±0.00 ^d
Resveratrol	10.66±0.05 ^b	2.75±0.05 ^c	2.67±0.52 ^a	2.89±0.00 ^a	10.48±0.00 ^b
Myricetin	3.07±0.14 ^b	1.79±0.03 ^d	2.75±0.13 ^{c,b}	1476±0.00 ^a	0.62±0.00 ^{c,d}
Quercetin	13.66±0.30 ^b	25.84±0.09 ^a	12.52±0.19 ^b	ND	9.26±0.00 ^c
Kaempferol	ND	0.22±0.02	0.75±0.00	ND	ND
Rutin	5.29±0.03 ^a	0.56±0.00 ^d	4.77±0.00 ^c	ND	5.02±0.00 ^b

Mean and standard deviations with horizontal letters do not differ significantly from one another by ANOVA followed by Benferoni tests ($p < 0.05$). ND - not detectable; Cabernet Sauvignon/winery I/2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon/ winery III, 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon/winery II/2013 (CS II 13); Syrah/winery I/2013 (SY I 13); and Syrah/winery II/2014 (SY II 14). ANOVA one way followed by Bonferroni's post-test. Different letters in the lines indicate significance variation ($p < 0.05$).

The phenolic profile of the Cabernet Sauvignon and Syrah red wine samples analyzed in our study (Table 2).

The phenolic profile of the Cabernet Sauvignon and Syrah red wine samples analyzed in our study (Table 2) presented mean values of Gallic Acid ranging from 29.78 to 38.05 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 58.26 to 69.05 mg.L⁻¹ in Syrah wines. Catechin ranged from 32.99 to 81.00 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 29.05 to 45.73 mg.L⁻¹, mean values of Vanillic Acid ranged from 4.43 to 44.36 mg.L⁻¹.

On the other hand, Resveratrol presented mean values ranging from 2.75 to 26.89 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 10.66 to 10.48 mg.L⁻¹ in Syrah wines, Syringe Acid between 1.42 To 0.56 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 0.34 to 5.38 mg.L⁻¹ in Syrah wines. Caffeic acid varied in average from 7.81 to 15.16 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 33.02 and 38.10 mg.L⁻¹ in Syrah wines.

For Ferulic Acid, we observed average variations of 3.94 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 2.06 to 3.11 mg.L⁻¹ in Syrah wines. Mice with mean values of 1.79 to 14.76 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 0.62 to 3.07 mg.L⁻¹ in Syrah wines, Quercetin ranged from 12.52 to 25, 84 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 9.26 to 13.66 mg.L⁻¹ in Syrah wines, Campferol with 0.22 to 0.75 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines, Rutina With mean values varying from 0.56 to 4.77 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines, 5.02 to 5.29 mg.L⁻¹ in Syrah wines and Cumaric Acid had mean values varying from 1.09 to 1.09 1.68 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines.

Results of our study on antioxidant activity (Figure 2), determined by percentage of free radical sequestration activity (% SA) of DPPH*, showed mean values varying 58.02 at 95.70% in the Syrah wine and 82.32 at 85.08% in Cabernet Sauvignon ones. Significant differences were found in Syrah wines and absence of significance were observed among Cabernet sauvignon wines. Therefore, the results of these studies allow to consider that the wines analyzed in this study have good antioxidant activity or free radical sequestration.

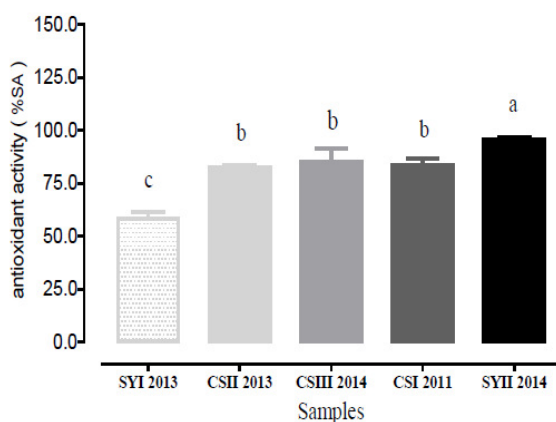


Figure 2. Antioxidant activity, percentage of free radical sequestration activity (% SA) of DPPH* in wines of Cabernet Sauvignon/winery I/2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon/ winery III, 2014 (CS III 14); Cabernet Sauvignon/winery II/2013 (CS II 13); Syrah/winery I/2013 (SY I 13); and Syrah/winery II/2014 (SY II 14). ANOVA one way followed by Bonferonni's post-test. Different letters indicate significance variation ($p < 0.05$)

The Table 3 shows the correlations between the different parameters of the Cabernet Sauvignon wines of 2011, 2013, 2014 and Syrah wines of 2013 and 2014.

Table 3. Correlations between the antioxidant activity (%SA) and the different parameters of wines from Cabernet Sauvignon of 2011, 2013, 2014 and Syrah 2014 seasons

%SA of the samples	Correlation coefficiente (r^2)					
	TPI	CI	T	ANT	TP	TN
CS III 13	0.543*	0.503*	0.114	0.588*	0.500*	0.555**
CS III 14	0.940*	-0.083	0.250	0.085	0.283	0.269
CS I 11	-0.144	0.361	0.139	-0.877**	-0.144	-0.565
SY II 14	-0.116	-0.003	-0.318	0.142	-0.116	0.865**
SY II 13	-0.354	-0.177	-0.038	0.230	-0.227	0.423

Correlation of Person is significant for ($p < 0.05^*$) and ($p < 0.01^{**}$), 2-tailed and the confidence interval is 95%. The values indicate the correlation coefficient of Person - r^2 of the free radical scavenging activity (% SA). Cabernet Sauvignon/winery I/2011 (CS I 11); Cabernet Sauvignon/ winery III, 2014 (CS I 14); Cabernet Sauvignon/winery II/2013 (CS II 13); Syrah/winery I/2013 (SY I 13); and Syrah/winery II/2014 (SY II 14); total polyphenols index (PTI); color intensity (CI); tonality (T); total anthocyanins (ANT); total polyphenols (TP); tannins (TN).

The Cabernet Sauvignon wine, harvest 2013, obtained a moderate positive correlation between total polyphenol index, color intensity, total anthocyanins and total polyphenol with antioxidant activity, ($r^2 > 0.5$). Cabernet Sauvignon, harvest 2014, had a strong positive correlation between total polyphenol index and antioxidant activity ($r^2 > 0.9$), while the same cultivar harvest 2011 had a strong inverse correlation between total anthocyanins ($r^2 < -0.8$). However, we did not observe relationships between the parameters analyzed with the antioxidant activity in the Syrah wines of 2013 and 2014 harvests.

4. Discussion

4.1. Phenolic Composition of the Wines and Its Antioxidant Activity “in vitro”

The characterization of the cultivars and vintages of the wines of the São Francisco Valley show great diversity in the indices evaluated as intensity of color, phenolics, anthocyanins, condensed tannins and the phenolic profile.

The color index average in the Syrah and Cabernet Sauvignon (8.08 to 15.03) wines in our study are superior to those found in wines from Serra Gaucha [31] witch found color index varying around 10.4. On the other hand, some studies [34] with red and dry table wines produced in the central region of Rio Grande do Sul did not find any difference in color intensity among the wines analyzed.

The values for tonality of the wines of the present study vary from 0.72 to 1.01, being very similar to the European wines from of Cabernet Sauvignon of the region of Slovakia [35]

The diversity of results between the studies may be due to the great variation among the samples, since they are quite heterogeneous in relation to the type of grape, cultivar and crop [34]. However, color is one of the main sensory qualities of red wine, with great importance, since

it is the first element of appreciation observed by the consumer, being a characteristic usually associated with the beneficial properties for health. In addition, the intensity of the color can provide information about possible defects or qualities of a wine [34].

The variation of yellow and blue colors in the different cultivars and harvests analyzed in our study are similar to those found in the studies with wines from Serra Gaucha [31] who found the percentage of yellow varying around 41.3% and the red in 48.6%, the percentage of blue of showed to be inferior to the present study, around 10.6%.

The results in our study indicate that the wines Syrah and Cabernet Sauvignon of the São Francisco Valley of the studied crops, present a maximum absorbance at 520nm. This finding runs counter to the hypothesis that the spectrum of young red wines exhibits a more or less narrow absorbance maximum at 520 nm due to anthocyanins and their combinations in the form of flavilium ion, which decreases with aging and Increases its absorbance at 420nm, in the region of yellow-brown where the absorbance is minimal [36].

However, the color varies in consonance with the chemical structures and the physical-chemical conditions of the wine, being able to vary from pink to blue with the increase of hydroxyl groups. The inverse effect is observed when hydroxyl groups are replaced by methoxy groups [36]. In wines, the color is also related to the techniques of vinification and the numerous reactions that take place during its storage. In the particular case of red wines, the color varies constantly during vinification and storage, with consequent organoleptic changes. These modifications occur due to the reactivity of the wine's phenolic compounds [34].

In relation to total polyphenols content (Figure 1A), we have noted that there are no significant differences between the wines Syrah of 2013, Cabernet Sauvignon of 2013 and Cabernet Sauvignon of 2014 for $p < 0.05$. However, phenolic compounds play a key role in determining wine quality [37]. The differences are influenced by grape type, growing conditions and various factors related to processing [38].

In relation to total phenolic equivalent to gallic acid (Figure 1B), the significance between Syrah of 2013 wines and Cabernet Sauvignon of 2011 and 2014 wines corroborates with studies in red wines from several countries of the Southern Hemisphere (Brazil-São Francisco Valley and Rio Grande do sul, Chile, Australia and South Africa) [22]. These authors found some significant differences in the polyphenol contents in Cabernet Sauvignon and Syrah wines from the São Francisco Valley. Our results are also similar to the findings of that observed significant differences ($p < 0.001$) among different cultivars [37]. On the other hand, the values of phenolic equivalent to gallic acid found in our study presented higher values than those found in the study with samples of Italian red wine from the 2015 harvest [39] which presented values ranging from 114 mg/L^{-1} to 330 mg/L^{-1} . However, our results are similar to the findings that observed significant differences ($p < 0.001$) among different cultivars of wines from 13 clones of Autochthon caste Prokupac which had polyphenols content equivalent to gallic acid ranging from 114 mg/L^{-1} to 330 mg/L^{-1} .

The proportion of different polyphenols in wines may vary according to the type of total phenolic content and vinification processes. These factors when combined with the total anthocyanins proanthocyanidin and tannin content determine the quality of the wine. The amount and composition of polyphenols also depends on genetic, environmental and cultural practices, as well as grape morphology [37]. On the other hand, phenolic compounds can be influenced by the alcoholic content of the wine, since the increase of ethanol during alcoholic fermentation results in the progressive denaturation of pigments due to the rupture of hydrogen bridges between the phenolic compounds, transforming them into colorless substances [40].

The content of total anthocyanins found in our study (Figure 1C), agree with previous study [35] with wines of Cabernet Sauvignon cultivar from different areas of Slovakia, anthocyanin levels ranged from 68.6 mg/L^{-1} to 430.7 mg/L^{-1} . However, another studies found average anthocyanin levels of 299.4 mg/L^{-1} [34]. A study conducted in Italian wines of nine cultivars, anthocyanin values ranged from 18 to 687 mg/L^{-1} [41] as found in wines from different countries in the southern hemisphere anthocyanins ranging from 101.96 to 230.51 mg/L^{-1} for the Syrah cultivar and 108.48 to 279.58 mg/L^{-1} for the Cabernet Sauvignon cultivar, which are lower than the findings in this study for the same cultivars [22].

Anthocyanins constitute the highest percentage of phenolic compounds, representing important constituent red wines because they contribute to the sensorial attributes and, mainly, to the coloration of the wine [42]. It is probable that the quantities of monomeric anthocyanins were not responsible for the high phenolic content of the São Francisco Valley samples [43]. Several beneficial properties have been attributed to anthocyanins (dietary flavonoids), including antioxidant effects.

The content of condensed tannins (0.5 g/L^{-1} at 1.5 g/L^{-1}) are the main phenolic compounds of red wine. Thus tannins play an important role in astringency and also contribute to the sensation of bitterness [44]. However, its quantity in the wines is related to the extraction form in the vinification process [34]. On the other hand, tannins are characterized as high molecular weight phenolic compounds that precipitate proteins, including salivary proteins from the oral cavity. These properties are fundamental to explain the role of tannins in protecting the body against diseases [47]. The tannins are co-pigments formed by condensation of anthocyanins and tannins that can occur by several mechanisms depending on the compounds involved and can form compounds of different characteristics [44]. Tannins as well as other phenolic compounds are important for wine quality, quantities and extractable qualities, they depend on a number of factors that interfere positively or negatively (climatic conditions, soil composition, genetic factors inherent in the grape, cultural treatment and stage of maturation) [34]. According to Vilela et al., [44], the tannins are extracted at the beginning of the maceration and during the alcoholic fermentation when there is formation of ethanol that solubilizes them.

In relation to the phenolic profile of the wines analyzed in our study, gallic acid had lower mean values than the wines from Turkey studied by Anli and Vural [52].

ranging from 40.8 to 70 mg.L⁻¹ and higher than the mean values of catechin ranging from 19.3 to 3.9 mg.L⁻¹. However, gallic acid has many healthy properties, including antioxidant, neuroprotective and antimicrobial effects [44] and catechin is the most important flavanol that can be found in bark and grape seeds, representing 60% of the phenolics responsible for the astringency and structure of wines [46].

The mean values of resveratrol found in our study are higher than those found in red wines from several countries of the Southern Hemisphere (Brazil-São Francisco Valley and Rio Grande do Sul, Chile, Australia and South Africa) [22], which ranged from 0.00 to 0.32 mg.L⁻¹ in Cabernet Sauvignon wines and 0.00 to 0.29 in Syrah wines. However, resveratrol by enzymatic hydrolysis of its glycosides can lead to free *trans*- and *cis*-resveratrol structures, whose concentration depends on grape variety, possible fungal contamination and climatic conditions, which conditions its variation [19]. On the other hand, studies have demonstrated that the vinification process is the factor responsible for the high levels of resveratrol in red wines, when compared to white wines [48]. Although resveratrol is the major functional component in red wines, its concentration is low relative to other phenolic compounds. But in our samples, the Cabernet Sauvignon cultivar of 2011 and Syrah of 2014 showed the best values.

The mean values of vanillic and syringic acids found in our study were higher than those found by Silva et al. [22] of 5.89 mg.L⁻¹, 3.89 mg.L⁻¹ and 2.42 mg.L⁻¹ in African wines, Rio Grande do Sul and Australians, respectively. Hydroxybenzoic acids comprise *p*-hydroxybenzoic acid, syringic acid, vanillic acid and gallic acid. Gallic acid could be also originated from the hydrolysis of gallate esters of hydrolyzable tannins and condensed tannin [44].

The significant differences ($p < 0.05$) in the antioxidant activity in the Syrah wines of the 2013 and 2014 harvests in this study, contradict the findings in Slovak cabernet sauvignon wine analysis for the determination of antioxidant activity that did not present significant differences ($p = 0.05$) [35]. However, studies from South American red wines emphasized that the effectiveness of antioxidants is dependent on the energy required to provide dissociations between oxygen and phenolic hydrogen, pH, reduction potential, solubility, structure and antioxidant radical location (group - OH) [49]. On the other hand, solvents, preservatives and excessive alcoholic additives can influence the quantification of phenolic compounds and antioxidant activity as demonstrated by [11,50].

In the study from the analysis of red wines of the cultivar Cabernet Sauvignon and Syrah, produced in different countries of the Southern Hemisphere (Brazil - São Francisco Valley) and Rio Grande do Sul, Chile, Australia and South Africa) harvest of 2012 verified by the DPPH* method variations between 96.8% and 97.47% [22]. These values are higher than the mean values found in our study. However, our results are superior to those found in samples of Cabernet Sauvignon wines from several areas of Slovakia that had free radical sequestering activity ranging from 69.0% to 84.2% [35]. The antioxidant capacity of Turkish red wines when compared to wines from Spain, Portugal and California showed

better antioxidant activity between 18.1% to 22.6% [52]. Studies carried out in Brazil, Argentina and Chile showed respectively antioxidant activity of 66.44%, 67.71% and 55.25% [49], showing a very similarity with the results found in our study. Other regions of the world showed antioxidant activity around 71.30 to 83.53% for wines from the Balkan region [50] and 54.6 to 82.6% for red wines from Croatia [53]. Therefore, the results of these studies allow considering that the wines analyzed in this study have good antioxidant activity or free radical sequestration.

The correlations evaluated in our study reveal that similarities between color intensity (CI), total polyphenol index (TPI) and total polyphenol content (TP) are in agreement with results obtained by [22]. However positive correlation between antioxidant capacity and total phenol content ($r^2 > 0.5$) was found in dry red table wines produced in the region of Rio Grande do Sul [34]. Similarly, another study demonstrated the existence of a strong correlation ($r^2 = 0.99$) between antioxidant activity and total polyphenols in red wine samples from Curitiba, Garibaldi and Campo Largo [54].

However, among the external factors that can intervene in the low extractability of the compounds are the anthocyanins present in the cells of the grape bark, in the free form inside the vacuoles, that can be diluted by the sap accidentally released in the berry causing its content to be detected on a small scale during the analysis [37]. This may explain in part the low correlation found in the results of this study between antioxidant capacity and anthocyanin and color content as well [37].

5. Conclusion

The wines of the Cabernet Sauvignon cultivar of 2011, 2013 and 2014 harvests analyzed in our study showed best values of total polyphenols and potent antioxidant capacity when compared with other studies.

Although we did not find correlations between the parameters analyzed in our study with the antioxidant activity in wines of the Syrah cultivars the correlations of Cabernet sauvignon wines are in agreement with previous studies.

The results of this study point to the influence of the phenolic type present in the wines on its antioxidant capacity.

These results can be associated with possible beneficial effects on health.

Potential Conflict of Interest

We declare that there is no relevant conflict of interest.

Acknowledgements

The research was financially supported by the Coordination of Improvement of Higher Level Personnel (CAPES) and National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) of Brazil.

References

- [1] Bastos, Deborah H. M., Rogero, Marcelo M., Arêas, José Alfredo G.. *Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade*. Arq Bras Endocrinol Metab, 29-41, 2009.
- [2] Rastija, V.; Srećnik, G.; Saric, M.M. *Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins*. Food Chemistry, v. 115, n. 1, 54-60, 2009.
- [3] Pereira, G.E.; Soares, J.M.; Guerra, C.C.; Alencar, Y.C.L. De; Lira, M.M.P.; Lima, M.V.D. O.; Sãtos, J. *Caractérisation de vins rouges tropicaux produits au Nord-Est du Brésil*. In: German viticulture congress wine in motion, 59°, Stuttgart. Proceedings. Stuttgart, 2007.
- [4] Hora, Givaldo Bezerra Da. Mattosinho, Cynthia Marise Dos Sãtos, Xavier, Maria Gilca Pinto. *Inovação na indústria vitivinícola do Vale do submédio São Francisco*. 1ed., Aracaju: IFS, 93, 2016.
- [5] Lins, Analha Dyalla Feitosa, Roque, Isãoa Maria Brito, Lisbõa, Cícera Gomes Cavalcante De, Feitosa, Regilane Marques, Costa, Josenara Daiane de Souza. *Qualidade durante o desenvolvimento de uvas viníferas 'Syrah' do Submédio do Vale São Francisco*. Agropecuária Técnica. 259-263, 2015.
- [6] Mello, L. M. R. O *Brasil no Contexto do Mercado Vitivinícola Mundial: Panorama 2014*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 192, 2015.
- [7] De Sá, Natalia Coimbra; Silva, Emilia Maria Salvador, Bandeira, Ariadna Da Silva. A Cultura Da Uva E Do Vinho No Vale Do São Francisco. Revista de Desenvolvimento Econômico, RDE, 461-491, 2015.
- [8] IBRAVIN. Wines of Brasil na vitrine da maior feira de bebidas do mundo. Bento Gonçalves, 2015.
- [9] Farias, Thiago Felipe. *Viticultura e enologia no semiárido brasileiro (Submédio do Vale do São Francisco)*. Universidade federal de Sãota Catarina, 32-53, 2011.
- [10] Burin, V. M. ; Falcão, L. D ; Chaves, E. S. ; Gris, E F ; Preti, F. L ; Bordignon-Luiz, M. T. . *Phenolic composition, colour, antioxidant activity and mineral profile of Cabernet Sauvignon wines*. International Journal of Food Science & Technology (Print), v. 45, 1505-1512, 2010.
- [11] Silva, Luís Rodrigues, Queiroz, Mafalda. *Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 315-321, 2016.
- [12] Soares, Elaine Dos R., Monteiro, Elisa B., Da Silva, Renata C., Batista, Aline, Sobreira, Flavia, Mattos, Thaísa, Da Costa, Cristiane A., Daleprane, Julio B. *Compostos bioativos em alimentos, estresse oxidativo e inflamação: uma visão molecular da nutrição*. Revista HUPE, Rio de Janeiro, 2015.
- [13] Singleton V.I., Rossi J.A. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents*. Am J Enol Viticult 16: 144-158, 1965.
- [14] Ramos, S. "Cancer Chemoprevention and Chemotherapy: Dietary Polyphenols and Signaling Pathways", in *Mol. Nutr. Food. Res.*, 52, 507-26, 2008.
- [15] Noroozi, M.; Angerson, W.J.; Lean, M.E. *Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes*. Am. J. Clin. Nutr., 1210-1218, 1998.
- [16] Sato, Alessãodro Jefferson, Jubileu, Bruno Da Silva, Assis, Adriane Marinho De, Roberto, Sérgio Ruffo. *Fenologia, produção e composição do mosto da 'cabernet sauvignon' e 'tannat' em clima subtropical*. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal. v. 33, 491-499, 2011.
- [17] Rizzon, Luiz Antenor, Miele, Alberto. *Avaliação da cv. Cabernet sauvignon para elaboração de vinhotinto*. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 192-198, 2002.
- [18] Diniz, Bruna Carla Reis; Martins, Adonilde Marta; Oliveira, Vanessa De Souza; Sãtos, Alexandre Ferreira dos. *Avaliação das características físico-químicas e sensoriais do vinho rosado cabernet sauvignon no vale do submédio São Francisco*. Petrolina, sp, 2011.
- [19] Markoski, Melissa M., Garavaglia, Juliano, Oliveira, Aline, Olivaes, Jessica and Marcadenti, Aline. *Molecular Properties of Red Wine Compounds and Cardiometabolic Benefits*. Nutrition and Metabolic Insights. 51-57, 2016.
- [20] Stavridou, Konstantina, Soufleros, Evangelos H., Bouloumpasi, Elisavet, Dagkli, Vagia. *The Phenolic Potential of Wines from French Grape Varieties Cabernet Sauvignon, Merlot and Syrah Cultivated in the Region of Thessaloniki (Northern Greece) and Its Evolution during Aging*. Food and Nutrition Sciences, 122-137, 2016.
- [21] Harbertson, J.; Spayd, S. *Measuring phenolics in the winery*. American Journal Enological and Viticulture, 280-288, 2006.
- [22] Silva, Tacila Mendes da. *Caraterização fenólica e capacidade antioxidante de vinhos tintos do Hemisfério sul*. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco/CCS-Departamento de Nutrição. Recife, 23-34, 2015.
- [23] Giovanelli, G., and Buratti, S. *Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties*. Food Chemistry, 903-908, 2009.
- [24] Caillé, S.; Samson, A.; Wirth, J.; Diéval, J.-B. ; Vidal, S.; Cheynier, V. *Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling*. Analytica Chimica Acta, 35-42, 2009.
- [25] Castillo-Sánchez, J.J.; Mejuto, J.C.; Garrido, J.; García-Falcón, S. *Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanins content, colour and general organoleptic quality of Vinhão wines*. Food Chemistry, n. 97, 130-136, 2006.
- [26] Monagas, M.; Martín-Álvarez, P.J.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. *Time course of the colour of young red wines from Vitis vinifera L. during ageing in bottle*. International Journal of Food Science and Technology, n. 41, 892-899, 2006.
- [27] Price, M. L.; Scoyoc, S. V.; Butler L. G. *A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain*. Journal Agriculture Food Chemistry, v. 26, n.5, 1214-1218, 1978.
- [28] Rodrigues, Walter Alvarenga, Magalhães, Paulo César, Dos Sãtos, Fredolino Giacomini, Bertechini, Antônio Gilberto, Tosell, Geraldo A. *Assays to detect tannins in sorghum evaluating chicks performance and digestibility of dry matter*. Ciênc. E agrotec., lavras, v.22, n.4, 540-550, 1998.
- [29] Wu, Gangcheng, Johnson, Stuart K., Bomman, Janet F., Bennett, Sarita J., Singh, Vijaya Simic, Azra, Fang, Zhongxiang. *Effects of Genotype and Growth Temperature on the Contents of Tannin, Phytate and In Vitro Iron Availability of Sorghum Grains*. journal. pone, 1-12, 2016.
- [30] Lima, Daniel Braga De, Agustini, Bruna Carla, Silva, Eliz Guimarães Da, Gaensly, Fernanda, Cordeiro, Rodrigo Becker, Fávoro, Maria Luiza Drechsel, Brand, Debora, Maraschin, Marcelo, Bonfim, Tania Maria Bordin. *Evaluation of phenolic compounds content and in vitro antioxidant activity of red wines produced from Vitis labrusca grapes*. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 793-800, 2011.
- [31] Mantovani, Karen Mary; Horta, Rayta Paim; Messerschmidt, Iara. *Quantificação do teor de fenóis totais e dos índices de cor em amostras de vinho*. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), SP, 2010.
- [32] Nixdorf, S.L. And Hermosin-Gutierrez, I. *Brazilian Red Wines Made from the Hybrid Grape Cultivar Isabel: Phenolic Composition and Antioxidant Capacity*. Analytica Chimica Acta, 659, 208-215, 2010.
- [33] Bityiktuncel, E., Porgali, E. And Çolak, C.. *Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods*. Food and Nutrition Sciences, 5, 1660-1667, 2014.
- [34] Arenhart, Márcia E Fogaça, Aline De Oliveira. *Influência da cor e dos compostos fenólicos sobre a capacidade antioxidante de vinhos tintos gaúchos. The influence of color and phenolic compounds on the antioxidant capacity of gaúcho red wines*. Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde, Sãota Maria, v. 16, n. 1, 113-123, 2015.
- [35] Bajčan, Daniel, Vollmannová, Alena, Šimanský, Vladimír, Bystrická, Judita, Trebichalsk, Pavol, Árva, Július, Czako, Peter. *Antioxidant activity, phenolic content and colour of the slovak cabernet sauvignon wines*. Potravinárstvo Scientific Journal for Food Industry. vol. 10, 89-94, 2016.
- [36] Glories, Y. *La couleur des vins rouges. 2ª partie: mesure, origine et interpretation*. Connais Sãoce Vigne Vin, 253-271, 1984 b.
- [37] Živković, Jelena, Šavikin, Katarina, Zdunić, Gordana, Godevac, Dejan, Marković, Nebojša, Pržić, Zoran And Menković, Nebojša. *Influence of bunch morphology on quality of wines produced from*

- clones of grape variety Prokupac*. J. Serb. Chem. Soc., 883-895, 2016.
- [38] Oliveira, J. B. *Influência do clima, porta-enxerto e clones sobre as características analíticas e sensoriais de vinhos tropicais cv. Syrah*. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 73-83, 2012.
- [39] Di Lorenzo, Arianna, Bloise, Nora, Meneghini, Silvia, Sureda, Antoni, Tenore, Gian Carlo, Visai, Livia, Arciola, Carla Renata And Maria Daglia. *Effect of Winemaking on the Composition of Red Wine as a Source of Polyphenols for Anti-Infective Biomaterials*. Materials, 316, 2016.
- [40] Castilhos, M. B. M. E Del Bianchi V. L.. *Vinhos tintos do noroeste paulista: relação entre os perfis físico-químico e sensorial*. Holos, Ano 28, Vol 4, 80-89, 2012.
- [41] Cassino, Claudio, Gianotti, Valentina, Bonello, Federica; Cravero, Christos; Tsolakis, Maria Carla And Osella, Domenico. *Antioxidant Composition of a Selection of Italian Red Wines and Their Corresponding Free-Radical Scavenging Ability*. Journal of Chemistry, 1-8, 2016.
- [42] Abe, Lucile Tiemi, Da Mota, Renata Vieira, Lajolo, Franco Maria, Genovese, Maria Inés. *Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinifera L.* Ciênc. Tecnol. Aliment, Campinas, 394-400, 2007.
- [43] Lucena Aps, Nascimento Rjb, Maciel Jac, Tavares Jx, Barbosa-Filho Jm, Oliveira Je. *Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines*. J Food Compos Anal, 30-36, 2010.
- [44] Vilela, Alice, Jordão, Antônio M., Cosme, Fernanda. *Wine phenolics: looking for a smooth mouthfeel*. SDRP Journal of Food Science & Technology. volume 1: issue 1, 2016.
- [45] Bernardes, Natália Ribeiro, Glória, Lorena Lima, Nunes, Clara Reis, Pessãoha, Fernanda Fraga, Muzitano, Michelle Frazão, de Oliveira, Daniela Barros. *Quantification of the levels of tannins and total phenols and evaluation of the antioxidant activity of fruits of pepper tree*. Vértices, Campos dos Goytacazes/RJ, v. 13, n. 3, 117-128, 2011.
- [46] Markoski, Melissa M., Garavaglia, Juliano, Oliveira, Aline, Oliveira, Jessica And Marcadenti, Aline. *Molecular Properties of Red Wine Compounds and Cardiometabolic Benefits*. Nutrition and Metabolic Insights. Nutr. Metab. Insights, 51-57, 2016.
- [47] Bernardes, Natália Ribeiro, Glória, Lorena Lima, Nunes, Clara Reis, Pessãoha, Fernanda Fraga, Muzitano, Michelle Frazão, De Oliveira, Daniela Barros. *Quantification of the levels of tannins and total phenols and evaluation of the antioxidant activity of fruits of pepper tree*. Vértices, Campos dos Goytacazes/RJ, v. 13, n. 3, 117-128, 2011.
- [48] Machado, Ivan Pedro Lazzarotto, Guedes, Fernanda Fabero. *Avaliação do conteúdo de trans-resveratrol em vinhos elaborados a partir das variedades de uva bordô e isabel*. Revista de Iniciação Científica da ULBRA. n.13, Canoas, 103-115, 2015.
- [49] Granato, Daniel. *Associação entre a atividade antioxidante in vitro e características químicas, sensoriais, cromáticas e comerciais dos vinhos tintos sul americanos*. Tese para a Obtenção do grau de Doutor. Universidade de São Paulo. FCF. 2011.
- [50] Radovanović, B; Radovanović, A., Free Radical Scavenging Activity and Anthocyanin Profile of Cabernet sauvignon Wines from the Balcan Region, Molecules, 4213-4226, 2010.
- [51] Ruberto, G.; Renda, A.; Daquino, C.; Amico, V.; Spatafora, C.; Tringali, C.; De Tommasi, N. *Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five sicilian red grape cultivars*. Food Chemistry, v.100, 203-210, 2007.
- [52] Anli, R. Ertan And Vural, Niltifer. *Antioxidant Phenolic substances of Turkish Red Wines from Different Wine Regions*. journal/molecules, 289-297, 2009.
- [53] Katalinić, V.; Milos, M.; Modun, D.; Musić, I.; Boban, M. *Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin*. Food Chemistry, v. 86, 593-600, 2004.
- [54] Gallice, Wellington César, Messerschmidt, Iara E Peralta-Zamora, Patricio. *Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos*. Quim. Nova, Vol. 34, No. 3, 397-403, 2011.

Anexo

Anexo: Parecer da comissão de ética no uso de animais em pesquisa- UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 10 de dezembro de 2014.

Ofício nº 80/14

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.^a Elizabeth do Nascimento**

Departamento de Nutrição – CCS

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.047159/2014-13

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Capacidade antioxidante e hipolipidêmica dos polifenóis de vinhos brasileiros.”**

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição – CCS/UFPE; Animais: Ratos; Linhagem: *Wistar*; Sexo: machos; Idade: 120 dias; Peso: 200-220g; Número de animais previsto no protocolo: 88 ratos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB-UFPE
SIAPE 1801584

CCB: Integrar para desenvolver