

TIAMINA E RIBOFLAVINA: EVOLUÇÃO COM A MATURAÇÃO DE CABERNET SAUVIGNON E COMPORTAMENTO DURANTE A FERMENTAÇÃO COM DIFERENTES NÍVEIS DE ANIDRIDO SULFUROSO ADICIONADO

THIAMINE AND RIBOFLAVIN: EVOLUTION DURING RIPENING OF CABERNET SAUVIGNON AND DURING FERMENTATION WITH DIFFERENT LEVELS OF SO₂ ADDED.

Carlos Eugenio Daudt¹

Luiz Eduardo Parizzi²

RESUMO

O objetivo do trabalho foi estudar o comportamento das vitaminas, tiamina (vitamina B1) e riboflavina (vitamina B2), durante a maturação de *Vitis vinifera* cultivar Cabernet Sauvignon e durante a fermentação do mosto, usando diferentes quantidades de SO₂. Os valores mínimos encontrados para tiamina e riboflavina foram respectivamente (ug/100ml): 7,67 e 6,85 com 5,5 °Brix e os máximos foram, respectivamente, 19,35 (na colheita) e 15,75 com 12,8 °Brix. A tiamina foi quase totalmente consumida antes da fermentação inicial, aparecendo novamente ao final da mesma. A riboflavina, ao contrário aumentou durante a fermentação. Ambas as vitaminas aumentaram durante a maturação de Cabernet Sauvignon, estando a tiamina presente em maior quantidade. O aumento das quantidades de SO₂ adicionado ao mosto, afetou a tiamina numa proporção direta, mas não teve nenhum efeito sobre a riboflavina. A tiamina diminuiu durante a fermentação, ao mesmo tempo em que ocorreu um aumento da riboflavina.

Palavras-chave: tiamina, riboflavina, cabernet sauvignon, fermentação, maturação.

SUMMARY

The aim of the work was to follow the behaviour of both vitamins, thiamine and riboflavin, during ripening of *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon and during fermentation of the must using different amounts of SO₂. Minimum values for thiamine and riboflavin were, respectively, (ug/100ml): 7.67 and 6.85 at 5.5 °Brix and the maximum values were, respectively, 19.35 (at harvest) and 15.75 at 12.87 °Brix. Thiamine was almost completely consumed before the start of fermentation showing up again at the end of the process; riboflavin, on the contrary, increased during fermentation. Both vitamins increased during ripening of Cabernet Sauvignon but -in grapes- the amount of thiamine was greater than riboflavin. Fermentation procedures, as increasing levels of SO₂, affected thiamine in a direct proportion but did not have any effect upon riboflavin. Thiamine decreased during fermentation and riboflavin increased.

Key words: thiamine, riboflavin, cabernet sauvignon, fermentation, ripening.

¹ Professor Titular, PhD, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900, Santa Maria, RS, FAX: (055) 226-1975. Autor para correspondência.

² Químico Industrial, aluno do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, CCR, UFSM.

INTRODUÇÃO

A determinação de vitaminas B1 (tiamina) e B2 (riboflavina) é raramente feita em uvas, mostos e vinhos, por que exige técnicas demoradas e nem sempre exatas. No entanto, mesmo sem o conhecimento das quantidades presentes no mosto, é comum ser colocada a culpa por ocasionais "paradas" de fermentação na falta de tiamina. No Rio Grande do Sul, não existem dados, que sejam do nosso conhecimento, sobre os valores destas duas vitaminas, tanto em uvas como em mostos e vinhos, qual o seu comportamento durante a fermentação e como ambas são afetadas pela presença ou ausência do anidrido sulfuroso (SO₂).

GUBLER (1991) afirma que, nas plantas, grande parte da tiamina presente está sob a forma livre; a combinada apresenta-se ligada a proteínas. Estudando sua presença em várias cultivares OURNAC & FLANZY (1957) encontraram diferentes teores de tiamina conforme a cultivar: Aramon 190ug/l, Carignan 240ug/l, Alicante 290ug/l, Terret blanc 122ug/l, Carignan blanc 163ug/l, Maccabeu 271ug/l, Servant 230ug/l e Cinsault 263ug/l. Apesar de boa parte desta vitamina ser clivada pelo anidrido sulfuroso, OURNAC & FLANZY (1967) demonstraram que as leveduras são capazes de sintetizar tiamina a partir de seus constituintes básicos. OURNAC (1970), utilizando seus estudos e de outros autores, relata que a maioria das vitaminas são sensíveis ao ferrocianeto e a bentonite, sendo a riboflavina sensível também ao caolim. Por outro lado, a colagem feita com gelatina (importante em tintos) tem pouco efeito sobre ambas vitaminas.

As leveduras são capazes de elaborar uma certa quantidade de tiamina durante a fermentação alcoólica, sendo posteriormente difundida ao vinho no final da fermentação (OURNAC & FLANZY, 1967).

LODI'S (1943) encontrou 1,4mg/kg de riboflavina em uva e 0,098mg/l em vinho. Lafourcade & Peynaud apud OURNAC (1970) afirmam que, ao contrário de tiamina, o anidrido sulfuroso não tem nenhum efeito sobre a riboflavina. CARLES (1977) encontrou valores para vinhos tintos entre 120 e 150ug/l de tiamina e entre 100 e 200ug/l de riboflavina.

MATERIAL E MÉTODOS

As uvas de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon, foram oriundas do Centro Nacional de Pesquisa da Uva e Vinho (CNPUV) pertencente a EMBRAPA, localizado em Bento Gonçalves, RS. Parte das análises foram realizadas no Núcleo Integrado de Inovações e Desenvolvimento de Análises Laboratoriais em Ciências Agrárias (NIDAL), ligado ao Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM, e no Departamento de Ciências e Tecnologia dos Alimentos, da Faculdade de Farmácia da USP.

As amostras, durante a evolução da maturação do grão, foram coletadas semanalmente de 22/12/91 até 23/02/92, por ocasião da colheita. As uvas colhidas, após esmagamento e desengaçamento, foram divididas em três lotes, aos quais foram adicionados 0, 50 e 100mg/l de anidrido sulfuroso, respectivamente. Uma hora mais tarde sofreram a adição de uma levedura conhecida comercialmente como "Zymasil" que nada mais é do que uma mistura de *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet + Bayanus. A fermentação foi realizada em ambiente com temperatura ao redor de 20°C e daí em diante seguiu os procedimentos normais, ou seja o bagaço foi recalçado diariamente pela manhã e a noite até 4-5°Brix quando então foi separado, a temperatura foi controlada, a densidade era lida pela manhã e tarde. Amostras foram retiradas periodicamente para posterior análise.

A tiamina e a riboflavina foram determinadas conforme o método recomendado pela Association of Official Analytical Chemistry (AOAC, 1990). Em resumo, as amostras previamente tratadas com HCl 0,28N e a 20°C, tinham seu pH ajustado para 4,5 com acetato de sódio e NaOH 15%. Os precipitados eram removidos por centrifugação a 4°C (10.000rpm por 30 min.). A amostra era então passada por uma coluna contendo Permutita ativada que retinha tiamina e deixava passar riboflavina. A tiamina retida era retirada com uma solução fervente de KCl 20% e colocada em um balão de 50ml; após completar para volume (50ml) eram retirados para um frasco 10ml para a leitura e 10ml para o branco. No frasco utilizado para a determinação eram adicionados 3ml de ferricianeto alcalino e 15ml de isobutanol, separando-se a fase aquosa e lendo-se no espectrofluorímetro com excitação a 374nm e emissão a 433nm.

Já a riboflavina, após a passagem pela coluna, sofria a adição de ácido acético concentrado, permanganato de potássio e em tintas mais água oxigenada para descorar. Após agitar o frasco para a saída de oxigênio, a leitura era feita a 456nm como excitação e 521nm como emissão. Antes desta leitura, no entanto, cristais de ditionato de sódio eram adicionados para eliminar a fluorescência da riboflavina e se obter a fluorescência dos interferes, ou seja o branco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a evolução de tiamina e riboflavina com a maturação de Cabernet Sauvignon. A tiamina aumenta com o desenvolvimento da maturação, conforme aumenta o teor de sólidos solúveis (°Brix) e a riboflavina aumenta também, mas apresenta oscilações, parecendo mais relacionada ao metabolismo dos ácidos que ao dos açúcares (sólidos solúveis totais medidos em graus Brix). Este último fato pode ser explicado pela importância fundamental que a riboflavina tem como coenzima de

substâncias transportadoras de hidrogênio, entre outros (FRANCO, 1968 e COSTA, 1978). Estes dados concordam com OURNAC & FLANZY (1957) e GUERZONI et al. (1989), que constataram comportamento semelhante com tiamina em várias cultivares. Por outro lado, o aumento contínuo de ambas vitaminas, mesmo após o aumento lento e quase cessamento da formação de açúcares, parece indicar a continuação da ação fotossintética sobre as mesmas.

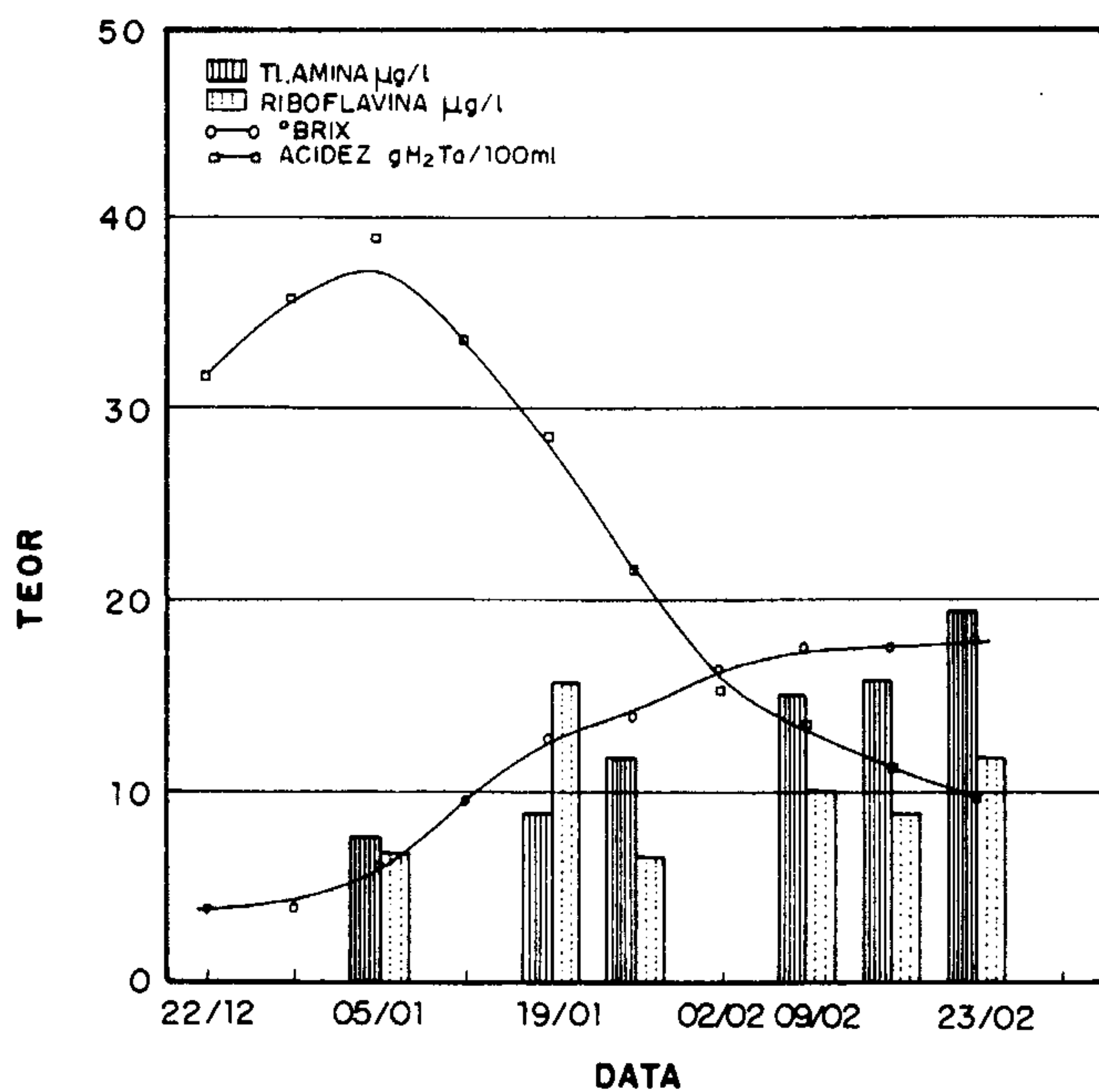


Figura 1. Evolução de tiamina e riboflavina durante a maturação dos grãos de Cabernet Sauvignon.

Quando colocados sob fermentação, em presença de quantidades diferentes de anidrido sulfuroso, os mostos de Cabernet Sauvignon (Figura 1) tiveram um comportamento dentro do esperado (Figura 2). Anidrido sulfuroso foi adicionado após a coleta da primeira amostra e seu efeito imediato sobre a tiamina não pode ser notado, como nas cultivares Trebiano e Malvasia branca, pois as leveduras já haviam consumido a maior parte desta vitamina. A tiamina, (Figura 2) é quase totalmente consumida no início da fermentação, reaparecendo do meio ao término do processo fermentativo em maior quantidade nas fermentações realizadas na ausência ou em presença de pequenas quantidades de anidrido sulfuroso; o anidrido sulfuroso cliva esta vitamina tirando seu poder de coenzima essencial no processo fermentativo. Já a riboflavina pareceu pouco afetada pela presença de leveduras durante a fermentação concordando com RIBÉREAU-GAYON et al. (1975). Várias causas podem ocasionar este fenômeno, dentre as quais podem ser citadas a cepa de levedura utilizada, precisão do método, coleta de amostra após ter ocorrido a diminuição desta

vitamina. LODI (1943), ao contrário, detectou queda de riboflavina no início do processo fermentativo. Por outro lado, ocorreu um substancial aumento desta vitamina após o término da fermentação (Figura 2). Pode ser observado, também, que o anidrido sulfuroso não teve efeito sobre a riboflavina o que concorda com OURNAC (1970) que afirmou que SO_2 não tem efeito sobre esta vitamina.

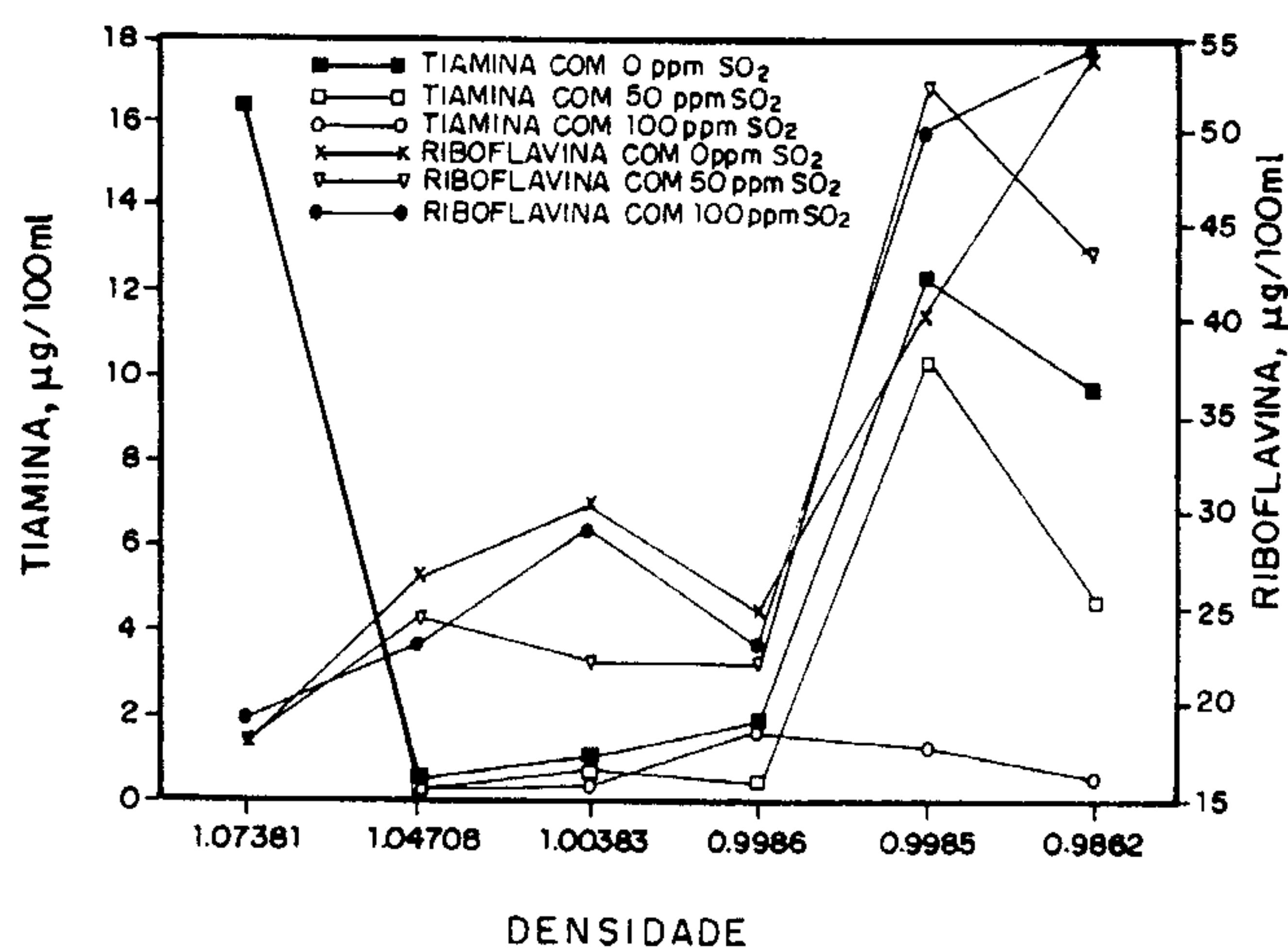


Figura 2. Comportamento de tiamina e riboflavina durante a fermentação de mosto de Cabernet Sauvignon com diferentes teores de anidrido sulfuroso.

CONCLUSÕES

Na cultivar Cabernet Sauvignon, o teor de tiamina e riboflavina aumentam com a maturação, havendo mais tiamina do que riboflavina na uva madura; entretanto, enquanto a tiamina aumenta de um modo uniforme, a riboflavina tem muitas oscilações durante o período. A Tiamina parece estar mais associada à formação de açúcares, aumentando com seu aumento, enquanto a riboflavina parece mais associada aos ácidos, aumentando com sua diminuição.

Enquanto a tiamina é consumida no início da fermentação pelas leveduras e é afetada pela presença de SO_2 , a riboflavina não é consumida durante a fermentação (ou quando este fato ocorre, as quantidades são desprezíveis) e não é afetada pela presença de SO_2 . Ao término da fermentação ambas vitaminas são liberadas ao meio pelas leveduras, com exceção de tiamina que é destruída em mostos tratados com mais de 50mg de SO_2/l .

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERGS, CAPES, Cooperativa Vinícola Aurora e Vinícola De Lântier pelo parcial financiamento deste projeto, e a USP-FCF e EMBRAPA-CNPV pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 1990. p. 1049-1061.
- CARLES, J. **La chimie du vin**. 3. ed. France: Presses Univ. de France, 1977. 127 p.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 2. ed. Lisboa: Fund. Calouste Gulbenkian, 1978. 2 v. 1132 p.
- FRANCO, G. **Teor vitamínico dos alimentos**. Rio de Janeiro: José Olímpio, 1968. 105 p.
- GUBLER, C. J. Thiamin. In: MACHLIN, L. R. **Handbook of Vitamins (nutritional, biochemical, and clinical aspects)**. 2. ed. New York: Marcel Decker, 1991. 431 p.
- GUERZONI, E., SOLARI, C., MARCHETTI, R. Effect of nutrient evolution during grape ripening on the alcoholic fermentation dynamics: Experiments with Pignoletto and Riesling cultivars. **Sciences des aliments**, v. 9, p. 267-284, 1989.
- LODI'S, M. Untersuchungen Über den Gehalt von Carotin, Vitamin B1 B2, und C, bei der alkoholischen Garung der Weinbeeren. **Vitamine und Hormone**, v. 4, p. 443-455, 1943.
- OURNAC, A., FLANZY, M. Localisation et évolution de la vitamine B1 dans le raisin, au cours de la maturation. **Annales de Technologie Agricole**, v. 6, p. 257-292, 1957.
- OURNAC, A., FLANZY, M. Enrichissement en vitamine B1 des vins conservés au contact des lies. **Ann Technol Agric**, v. 16, p. 41-54, 1967.
- OURNAC, A. Les vitamines du vin. **Annales de la Nutrition et de l'Alimentation**, v. 24, n. 3, p. 333-365, 1970.
- RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., SUDRAUD, P., et al. **Sciences et techniques du vin. (Analyse et contrôle des vins)**. Paris: Dunod, 1975. 671 p.