

Dissertação apresentada à
Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu
para obtenção do grau de Mestre em
Qualidade e Tecnologia Alimentar.

As doutrinas expressas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade do autor.

Este trabalho é dedicado a todos os que me têm acompanhado ao longo do percurso da vida pessoal, profissional e académica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que de uma forma directa e/ou indirecta contribuíram para que fosse possível a realização deste trabalho.

Um especial agradecimento à equipa que me orientou e me acompanhou durante o longo período de tempo necessário para a realização deste trabalho.

Agradeço ainda aos colegas de curso pelo companheirismo, convívio e apoio que me proporcionaram ao longo de todo o tempo.

Não poderei de deixar de fazer também um agradecimento à instituição “Escola Superior Agrária de Viseu – Instituto Superior politécnico de Viseu” e seus colaboradores, pela disponibilização das instalações e equipamentos, bem como por todo o apoio dado.

RESUMO

Este estudo teve como principal objectivo efectuar uma caracterização fenólica e uma avaliação da capacidade antioxidante de vinagres comercializados no mercado português. Foram estudadas 21 amostras de vinagres comerciais, das quais 7 foram de vinagres de vinho tinto, 2 de vinagres balsâmicos, 8 de vinagres de frutas e ainda 1 amostra de vinagre de arroz. Para o efeito, recorreu-se aos métodos de Folin-Ciocalteu e IPT para a determinação dos teores em compostos fenólicos totais. A identificação e quantificação das antocianinas individuais e dos ácidos fenólicos foi efectuada por HPLC-UV/Vis. Para a avaliação da actividade antioxidante total dos vinagres estudados, recorreu-se a 2 métodos: DPPH e ABTS.

Foi efectuado ainda um estudo da composição fenólica e da actividade antioxidante total em 3 das principais fracções fenólicas (F1, F2 e F3) existentes nos vinagres.

Os vinagres elaborados a partir de vinho tinto foram os que apresentaram teores em compostos fenólicos mais elevados, em particular os vinagres balsâmicos, comparativamente aos restantes vinagres estudados (vinagres de vinho branco, de frutas e de arroz). Verificou-se por outro lado, uma correlação elevada entre a composição fenólica e a actividade antioxidante total dos vinagres estudados. No caso dos vinagres de vinho tinto, a fracção fenólica constituída pelas antocianinas, proantocianidinas poliméricas e outros compostos poliméricos, foi a que mais contribuiu para a actividade antioxidante total.

PALAVRAS-CHAVE: Capacidade antioxidante, composição fenólica, vinagres comerciais.

VINEGAR SOLD IN PORTUGAL: EVALUATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY AND PHENOLIC COMPOSITION

ABSTRACT

This study's main objective was to make a phenolic characterization and an assessment of the antioxidant capacity of vinegar sold in the Portuguese market. Were studied 21 samples of commercial vinegars, of which 7 were of red wine vinegars, 2 of balsamic vinegars, 8 of fruit vinegars and even a sample of rice vinegar. To that end, were used the methods of Folin-Ciocalteu and IPT to determine the levels of total phenolic compounds. The identification and quantification of individual anthocyanins and phenolic acids was carried out by HPLC-UV/Vis. To evaluate the total antioxidant capacity of vinegars studied, were used the two methods: DPPH and ABTS.

It was made a study of the phenolic composition and total antioxidant capacity in three of the main phenolic fractions (F1, F2 and F3) present in vinegar.

The vinegar made from red wine were those with levels higher in phenolic compounds, especially the balsamic vinegar, compared to the other studied vinegars (white wine vinegar, fruit and rice vinegar). It was found, on the other hand, a high correlation between phenolic composition and total antioxidant capacity of vinegars studied. In the case of red wine vinegars, the phenolic fraction consisting of the anthocyanins, polymeric procyanidins and other polymeric compounds, was the largest contributor to total antioxidant capacity.

KEYWORDS: Antioxidant capacity, phenolic content, commercial vinegars.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOGIA

a* - Coordenada colorimétrica (verde - vermelho)

Abs - Absorvância

ABTS - 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

b* - Coordenada colorimétrica (amarelo - azul)

C* - Cromaticidade

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

GAE - Equivalentes de ácido gálico

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

IPT - Índice de polifenóis totais

L* - Luminosidade

ND - Não determinado

P - Nível de significância estatístico

ROS - Espécies reactivas de oxigénio

TEAC - Capacidade antioxidante equivalente a Trolox

Trolox - Ácido (\pm) - 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

UV - Ultra-violeta

UV/Vis - Detector de ultravioleta/visível

MvE - Equivalentes de malvidina-3-glucósido

SPE - Extração em fase sólida

ÍNDICE GERAL

	Pág.
AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOGIA	viii
ÍNDICE GERAL	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
1. ENQUADRAMENTO GERAL	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. O vinagre	3
2.1.1. Legislação e qualidade do vinagre	4
2.1.2. Processos de produção do vinagre	8
2.2. Os compostos fenólicos	15
2.2.1. Compostos fenólicos não flavonóides	17
2.2.2. Compostos fenólicos flavonóides	19
2.3. A actividade antioxidante	31
3. OBJECTIVOS.....	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1. Amostras de vinagres estudadas.....	37
4.2. Caracterização físico-química geral.....	38
4.3. Determinação da composição fenólica	38
4.3.1. Caracterização geral da composição fenólica	39
4.3.2. Fraccionamento dos compostos fenólicos em função da sua estrutura química	41
4.3.3. Determinação das antocianinas por HPLC	43

4.3.4. Determinação dos ácidos fenólicos por HPLC	44
4.4. Determinação da actividade antioxidante total.....	46
4.4.1. Método do DPPH [•]	46
4.4.2. Método do ABTS ^{•+}	47
4.5. Análise sensorial.....	48
4.5.1. Provas discriminativas - prova de ordenação	49
4.5.2. Provas descritivas – perfil sensorial.....	51
4.6. Análise estatística dos resultados.....	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1. Caracterização físico-química geral.....	54
5.2. Avaliação geral da fracção fenólica	56
5.2.1. Determinação da cor e das coordenadas cromáticas.....	56
5.2.2. Determinação da composição fenólica	60
5.2.3. Fraccionamento dos compostos fenólicos.....	65
5.2.4. Determinação das antocianinas por HPLC	67
5.2.5. Determinação de ácidos fenólicos por HPLC	69
5.3. Determinação da actividade antioxidante total.....	71
5.3.1. Determinação da actividade antioxidante das três fracções fenólicas.....	75
5.4. Análise dos componentes principais (PCA)	78
5.5. Análise sensorial.....	81
5.5.1. Análise sensorial discriminativa	81
5.5.2. Análise sensorial descritiva	84
6. CONCLUSÕES GERAIS E PRESPECTIVAS FUTURAS	87
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
8. ANEXOS	105

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Exemplo de um rótulo de um vinagre.	7
Figura 2. Representação esquemática da oxidação do etanol a ácido acético.	8
Figura 3. Recipiente usado para a produção de vinagre no processo de Orleães.	9
Figura 4. Gerador para a produção de vinagre utilizado no processo Alemão.	11
Figura 5. Acetificador Frings em aço inoxidável.	13
Figura 6. Diagrama geral de classificação dos diferentes compostos fenólicos.	16
Figura 7. Estrutura química dos principais ácidos fenólicos.	18
Figura 8. Estrutura química geral dos principais estilbenos.	19
Figura 9. Estrutura química do núcleo flavânico dos compostos fenólicos flavonóides.	20
Figura 10. Estrutura química dos principais flavonóis.	21
Figura 11. Estrutura química geral das antocianinas.	22
Figura 12. Estruturas químicas das antocianinas 3-monoglucosídicas e respectivos ésteres acilados.	23
Figura 13. Estrutura dos flavan-3-óis mais abundantes nos alimentos.	27
Figura 14. Estruturas químicas dos flavan-3-óis e de alguns polímeros das proantocianidinas.	28
Figura 15. Estrutura química de ácido elágico (A) e do pentagalolil-glucose (B).	29
Figura 16. Estrutura química de alguns antioxidantes naturais e sintéticos mais utilizados na indústria alimentar.	32
Figura 17. Algumas doenças e alterações provocadas pelas espécies reactivas de oxigénio.	33
Figura 18. Espectrofotómetro Shimadzu utilizado para as determinações fenólicas efectuadas aos vinagres.	40

Figura 19. Rectas de calibração obtidas com padrões de ácido gálico, utilizadas na determinação do teor em fenóis totais (A) e na determinação do teor em fenóis flavonóides (B).	40
Figura 20. Diagrama de fraccionamento, dos polifenóis, efectuado nos vinagres de vinho tinto estudados.....	41
Figura 21. Mini-coluna Discovery DSC-18 utilizada para o fraccionamento dos polifenóis dos vinagres.	42
Figura 22. Recta de calibração obtida a 520 nm com padrões de malvidina-3-glucósido, utilizada na quantificação das antócianinas individuais, por HPLC.	44
Figura 23. Equipamento de HPLC utilizado.	44
Figura 24. Recta de calibração obtida a 280 nm com padrões de ácido cafeíco, utilizada na análise dos ácidos fenólicos individuais por HPLC.....	45
Figura 25. Recta de calibração elaborada com padrões de Trolox usada na determinação da actividade antioxidante pelo método DPPH.	47
Figura 26. Recta de calibração elaborada com padrões de Trolox utilizada na determinação da actividade antioxidante pelo método ABTS.....	48
Figura 27. Correlação linear obtida entre os valores de acidez total e de acidez volátil para todos os vinagres analisados.	55
Figura 28. Representação gráfica da distribuição dos vinagres no espaço tridimensional das coordenadas cromáticas.....	59
Figura 29. Correlação linear estabelecida entre a intensidade da cor e os teores em compostos fenólicos totais, quantificados por dois métodos (Folin-Ciocalteu e IPT).	64
Figura 30. Perfil cromatográfico obtido a 520 nm, de um vinagre de vinho tinto (VT6).....	67
Figura 31. Perfil cromatográfico exemplificativo, obtido a 280 nm, da fracção F1 que continha os ácidos fenólicos presentes no vinagre VT5.	69
Figura 32. Actividade antioxidante total antioxidante dos vinagres de vinho tinto e balsâmicos comerciais, determinada pelos métodos DPPH e ABTS.	71

Figura 33. Actividade antioxidante total dos vinagres de vinho branco, de frutas e de cereais estudados determinada pelos métodos DPPH e ABTS.	72
Figura 34. Actividade antioxidante total das fracções fenólicas dos compostos fenólicos dos vinagres de vinho tinto, obtida pelos métodos DPPH e ABTS.	76
Figura 35. Relação entre a componente principal 1 (PC 1) e a componente principal 2 (PC 2), para as variáveis estudadas nos diversos vinagres comerciais estudados.	79
Figura 36. Relação entre a componente principal 1 (PC 1) e a componente principal 2 (PC 2), para as amostras dos vinagres comerciais estudados.	79
Figura 37. Somas relativas das ordens para as amostras de vinagre estudadas relativamente aos atributos, cor, sabor e aroma.	84
Figura 38. Perfil sensorial dos vinagres de vinho (VT5 e VT6) e dos vinagres de frutas (VF3 e VF6) estudados.	85

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Principais características dos vinagres de acordo com a legislação nacional.	4
Tabela 2. Diferentes classes de compostos fenólicos e respectivas estruturas químicas.	17
Tabela 3. Teores em compostos fenólicos totais e compostos fenólicos flavonóides em alguns frutos.	20
Tabela 4. Teores em compostos fenólicos totais e compostos fenólicos flavonóides em alguns legumes.	21
Tabela 5. Teores em antocianinas totais presentes em alguns frutos e legumes.	24
Tabela 6. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em frutas.	25
Tabela 7. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em legumes.	26
Tabela 8. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em bebidas.	26
Tabela 9. Teores em proantocianidinas em função do grau de polimerização quantificados em alguns produtos alimentares.	30
Tabela 10. Exemplos de radicais livres formados nos processos biológicos.	34
Tabela 11. Valores da actividade antioxidante de alguns compostos fenólicos flavonóides, vitaminas e as respectivas fontes alimentares.	35
Tabela 12. Vinagres estudados, designação comercial, matéria-prima usada e respectivos códigos de identificação utilizados.	37
Tabela 13. Determinações realizadas no âmbito da caracterização físico-química geral dos vinagres estudados.	38
Tabela 14. Determinações referentes à caracterização fenólica geral dos vinagres estudados.	39
Tabela 15. Condições cromatográficas utilizadas na análise das antocianinas individuais dos vinagres de vinho tinto por HPLC.	43
Tabela 16. Condições cromatográficas utilizadas na análise dos ácidos fenólicos dos vinagres de vinho tinto por HPLC.	45
Tabela 17. Atributos, seleccionados para a análise sensorial descritiva, das amostras de vinagre.	52
Tabela 18. Caracterização físico-química geral, dos vinagres objecto de estudo.	54
Tabela 19. Valores das absorvâncias, para os vários comprimentos de onda considerados (420, 520 e 620 nm), nos vinagres estudados.	57
Tabela 20. Valores da cor e das coordenadas cromáticas dos vinagres estudados.	58

Tabela 21. Valores médios da composição fenólica dos vinagres estudados, provenientes do mercado português.	61
Tabela 22. Correlação linear entre os teores compostos fenólicos totais dos vinagres, quantificados pelo método Folin-Ciocalteu e pelo método IPT.	64
Tabela 23. Taxa de recuperação dos compostos fenólicos totais após fracionamento em coluna SPE C ₁₈	65
Tabela 24. Teores médios, em compostos fenólicos totais, quantificados nas 3 fracções obtidas dos vinagres e sua contribuição para a composição fenólica total dos vinagres.	66
Tabela 25. Antocianinas identificadas no vinagre VT6 e respectivos tempos de retenção.	68
Tabela 26. Teores médios das diferentes antocianinas individuais quantificados nos vinagres de vinho tinto comerciais estudados.	68
Tabela 27. Compostos identificados, da fracção F1 do vinagre VT7 que continha os ácidos fenólicos e os respectivos tempos de retenção.	70
Tabela 28. Teores dos diferentes ácidos fenólicos quantificados nos vinagres de vinho tinto comerciais estudados.	70
Tabela 29. Correlação linear entre os dois métodos (DPPH e ABTS) utilizados na avaliação da actividade antioxidante total dos vinagres comerciais estudados.	73
Tabela 30. Correlação linear entre a actividade antioxidante total e os teores em compostos fenólicos totais dos vinagres comerciais estudados.	74
Tabela 31. Taxa de contribuição (%) das 3 fracções fenólicas dos vinagres de vinho tinto para a actividade antioxidante total dos vinagres.	77
Tabela 32. Taxa de recuperação da actividade antioxidante total resultante da soma das fracções F1, F2 e F3 relativamente à actividade antioxidante total quantificada nos vinagres de vinho tinto.	78
Tabela 33. Valores médios, para as variáveis estudadas dos três grupos de vinagres formados a partir da análise de componentes principais.	80
Tabela 34. Valores das somas das ordens para os vinagres de frutas e de vinho tinto, relativamente aos atributos cor, aroma e sabor.	82
Tabela 35. Valores de <i>Friedman</i> calculados para cada grupo de vinagres e valores críticos (χ^2) tabelados.	82
Tabela 36. Resultados obtidos na análise sensorial descritiva dos vinagres seleccionados.	85

1. ENQUADRAMENTO GERAL

O vinagre é um produto alimentar obtido da fermentação acética de soluções resultantes da fermentação alcoólica de mosto de frutas, cereais ou outros vegetais ou de misturas de vegetais. Deve apresentar, uma acidez total mínima de 6 % para os vinagres de vinho e de 5 % para os restantes tipos de vinagres (Decreto-Lei n.º 174/2007).

A produção de vinagre efectua-se por dois processos bioquímicos distintos que resultam da acção de microrganismos envolvidos na fermentação alcoólica e na fermentação acética. A fermentação alcoólica é levada a cabo pela acção predominantemente das leveduras de espécies do género *Sacharomyces* sobre as matérias-primas açucaradas e/ou amiláceas e é seguida da fermentação acética por acção das bactérias aeróbias do género *Acetobacter* (Tsfaye *et al.*, 2002).

O vinagre pode ser utilizado na alimentação humana de várias formas: como condimento, conferindo um sabor ácido aos alimentos; como conservante, evitando o desenvolvimento de microrganismos patogénicos (Entani *et al.*, 1998; Segun e Karapinar, 2004), e ainda promovendo a maciez de carnes temperadas e de legumes em conservas (Bortolini *et al.*, 2001). Apresenta ainda efeitos fisiológicos positivos em relação à regulação dos níveis de glicose sanguínea (Ebihara e Nakajima, 1998; Johnston e Buller, 2005), promovendo o controlo da pressão arterial, auxilia a digestão e estimula o apetite (Kondo *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2007), promove a absorção de cálcio (Hadfield *et al.*, 1989; Xu *et al.*, 2007), previne a arteriosclerose, as doenças cardiovasculares, os processos inflamatórios, os diversos tipos de carcinomas (Frankel *et al.*, 1993; Tapiero *et al.*, 2002), promove a reposição de glicogénio hepático e muscular e ainda contribui para a redução dos níveis de colesterol e de triglicérides (Fushimi *et al.*, 2001).

O fabrico do vinagre permite o aproveitamento de matérias-primas e seus subprodutos inaproveitáveis para outros fins, especialmente frutas (Maldonado *et al.*, 1975). É de salientar que os vinagres de frutas são considerados superiores em qualidades sensoriais e nutritivas, quando comparados com outros tipos de vinagres, além de apresentarem teores consideráveis em vitaminas, ácidos gordos, proteínas e aminoácidos provenientes dos frutos e da fermentação alcoólica (Aquarone *et al.*, 2001;

Zancanaro, 2001). No entanto, a qualidade do vinagre produzido pode ser influenciada pela matéria-prima utilizada, pelo processo de acetificação utilizado e ainda pela utilização ou não de processos de envelhecimento em madeira (Tesfaye *et al.*, 2002).

O consumo de frutas, hortaliças, sumos e bebidas elaboradas a partir destas, tem vindo a aumentar, dado o seu valor nutritivo e os efeitos terapêuticos atribuídos, pois estes alimentos incorporam na sua composição elementos que possuem propriedades antioxidantes e estão relacionados com o retardamento do envelhecimento e com a prevenção de determinadas doenças (Lima *et al.*, 2002; Kuskoski *et al.*, 2006).

Estudos efectuados em frutas, relacionados com a actividade antioxidante de compostos anti-cancerígenos, referem a presença de substâncias com actividade anti-radical livre como sejam os compostos fenólicos (Reynertson *et al.*, 2006; Kuskoski *et al.*, 2006). Estes compostos, encontram-se presentes em diferentes alimentos como sejam, as frutas, o chocolate, o chá, o café, o vinho, os sumos de uvas e os vinagres, em diferentes concentrações (Dávalos *et al.*, 2005). Os compostos fenólicos têm sido objecto de estudo devido à sua influência na qualidade dos alimentos. Estes, englobam uma variedade significativa de substâncias que apresentam actividade farmacológica inibitória da oxidação lipídica, da proliferação de fungos, promoverem a cor, contribuem para a adstringência e o aroma de vários alimentos (Soares, 2002).

Em Portugal, a produção de vinagre de vinho na campanha de 2009/10, situou-se em cerca de 23 milhares de hectolitros (IVV, 2011), sendo este um valor bastante considerável, podendo a sua utilização na alimentação ser um incremento no consumo de substâncias com propriedades antioxidantes.

A realização de estudos em vinagres, ao nível da sua capacidade antioxidante e da sua composição fenólica, têm, sobretudo, incidido sobre vinagres estrangeiros, como seja o caso dos vinagres balsâmicos oriundos de Itália (Verzelloni *et al.*, 2007).

No caso nacional, existe ainda um reduzido número de estudos sobre vinagres comercializados em Portugal (Gonçalves *et al.*, 2010). Assim, com a realização deste trabalho pretendeu-se avaliar, no geral, as propriedades antioxidantes de um elevado número de vinagres comercializados no mercado português e correlacioná-las com a sua composição fenólica e ainda com as diferentes matérias-primas utilizadas na elaboração dos mesmos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O vinagre

A palavra vinagre deriva etimologicamente do latim *Vinum acre*, da qual deriva a locução francesa *vin aigre*, equivalente em português a *vinho azedo*.

O vinagre é um produto conhecido há muito tempo, sendo que as primeiras referências datam de há cerca de 10 000 anos, data em que se referenciou a produção de vinho e conseqüentemente formação de vinagre, sendo a sua produção referenciada na cultura babilónica há cerca de 5.000 anos antes de Cristo. Trata-se de um condimento muito utilizado devido às suas propriedades benéficas sobre o organismo humano e à sua importância na alimentação. Foi muito utilizado como bebida refrescante, diluído na água e também como medicamento. Foi recomendado, também, para tratar de disfunções respiratórias, feridas e úlceras, devido às suas propriedades desinfectantes e anti-inflamatórias. Na cozinha, o emprego do vinagre foi generalizado e constante ao longo dos tempos. Nas guerras, o vinagre era utilizado pelos soldados, principalmente quando actuavam em ambientes húmidos e fazia parte da alimentação diária, para prevenir possíveis contaminações microbianas, para desinfectar e temperar os alimentos. Durante as epidemias de cólera, o vinagre foi utilizado para desinfectação, sendo recomendado lavar as mãos antes e depois de visitar um doente e lavar as frutas e verduras antes do consumo com vinagre (Suares-Lepe e Inigo-Leal, 2004).

O vinagre é uma solução diluída de ácido acético, obtida através de dois processos bioquímicos sucessivos. A fermentação alcoólica, que converte açúcares em etanol, e a oxidação fermentativa que converte o etanol em ácido acético (Bortolini *et al.*, 2001; Tesfaye *et al.*, 2002).

O fabrico de vinagre permite a utilização de matérias-primas inaproveitáveis para o consumo dos estabelecimentos industriais de frutas (Maldonado *et al.*, 1975), e especialmente de explorações agrícolas (Evangelista, 2001), constituindo-se como uma forma de aproveitamento de excedentes de colheitas (Oliveira *et al.*, 1987; Bortolini *et al.*, 2001).

Os vinagres de frutas são considerados superiores em qualidades sensoriais e nutritivas, quando comparados a outros tipos de vinagres, além de apresentarem

elevados teores de vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos provenientes do fruto e da fermentação alcoólica (Aquarone *et al.*, 2001; Zancanaro, 2001).

A qualidade do vinagre pode ser influenciada pela matéria-prima utilizada na sua elaboração, pelo sistema de acetificação utilizado, e ainda pela presença ou não de processos de envelhecimento em barris de madeira (Tesfaye *et al.*, 2002).

2.1.1. Legislação e qualidade do vinagre

A legislação portuguesa, através do Decreto-Lei n.º 174/2007 de 08 de Maio, estabelece as normas a que deve obedecer o fabrico e a distribuição do vinagre comercializado em Portugal.

Na Tabela 1, encontram-se apresentadas as principais características dos vinagres comercializados em Portugal de acordo com a legislação nacional.

Tabela 1. Principais características dos vinagres de acordo com a legislação nacional.

Parâmetro	Vinagres de vinho	Outros vinagres
Acidez total (g/L ácido acético)	≥60	≥50
Álcool residual (%; v/v)	≤1.5	≤0.5%
Aspecto	Límpido, podendo admitir-se ligeiro depósito ou turvação.	-
Cor, Aroma e Sabor	Próprios da natureza da matéria-prima e dos ingredientes facultativos indicados no rótulo.	

Por outro lado, o organismo internacional, que regula aspectos relacionados com a alimentação FAO/OMS (Codex Alimentarios), estabelece através do seu documento Codex Stan 162-1987 (ANEXO 1), as características que os vinagres devem possuir e ainda outros aspectos relacionados com o seu embalamento, comercialização, entre outras características.

Ainda e segundo o diploma legal nacional, os vinagres classificam-se, quanto à sua origem em:

- *Vinagre de vinho*: vinagre obtido exclusivamente a partir de vinho pelo processo biológico de fermentação acética;
- *Vinagre de fruta e vinagre de bagas*: vinagre obtido a partir de fruta ou bagas de fruta pelo processo biológico de fermentação alcoólica e acética;
- *Vinagre de sidra*: o vinagre elaborado a partir de sidra pelo processo biológico de fermentação acética;
- *Vinagre de álcool*: vinagre obtido a partir de álcool destilado de origem agrícola pelo processo biológico de fermentação acética;
- *Vinagre de cereais*: vinagre obtido, sem destilação intermédia, pelo processo biológico de dupla fermentação, alcoólica e acética, de cereais cujo amido tenha sido convertido em açúcares pela diastase de cevada maltada ou por qualquer outro processo;
- *Vinagre de malte*: vinagre obtido, sem destilação intermédia, pelo processo biológico de dupla fermentação, alcoólica e acética, de cevada maltada com ou sem a adição de cereais, cujo amido foi convertido em açúcares unicamente pelo processo da diastase de cevada maltada;
- *Vinagre de malte destilado*: vinagre obtido pela destilação do vinagre de malte, sob pressão reduzida, contendo apenas os constituintes voláteis do vinagre de malte de que deriva;
- *Outros vinagres*: vinagres obtidos a partir de outros produtos de origem agrícola de dupla fermentação não contemplados antes, designadamente de mel, de cerveja, entre outros;
- *Vinagres aromatizados e vinagres com especiarias*: os vinagres, referidos anteriormente, aos quais sejam adicionadas plantas ou partes de plantas aromatizantes, especiarias e extractos aromatizantes, que sejam organolépticamente perceptíveis.

A legislação nacional estabelece ainda que no fabrico de vinagre só podem ser utilizadas matérias-primas em conveniente estado de conservação e que se apresentem isentas de substâncias ou matérias estranhas à sua normal composição, bem como de microrganismos patogénicos ou de substâncias derivadas destes, em níveis susceptíveis de prejudicarem a saúde do consumidor. No entanto, no fabrico de vinagres a partir de vinhos só podem ser utilizados vinhos cujas características estejam

conformes com o estabelecido na legislação em vigor, podendo, contudo, apresentar excesso de acidez volátil. Podem ainda ser utilizados ingredientes facultativos na preparação de todos os tipos de vinagre sendo permitida a adição de:

- Plantas ou partes de plantas aromatizantes, especiarias e extractos aromatizantes;
- Sumos de fruta ou concentrados de sumo de fruta;
- Mel;
- Açúcar;
- Sal.

O Decreto-lei n.º 174/2007, proíbe a utilização das seguintes substâncias na preparação do vinagre:

- Aromatizantes artificiais;
- Óleos de grainha de uva, naturais ou artificiais;
- Resíduos de destilação, resíduos de fermentação ou os seus subprodutos;
- Substâncias extraídas de bagaço de todos os tipos;
- Ácidos de todos os tipos, com excepção daqueles naturalmente contidos nas matérias-primas utilizadas ou contidos em qualquer substância cuja adição nestas seja permitida, como sejam, designadamente, os aditivos.

Quanto ao acondicionamento, o vinagre destinado ao consumidor final deve apresentar-se pré-embalado, podendo encontrar-se a granel quando se destine às indústrias, a grossistas e a outras entidades similares. O material em contacto com o vinagre deve ser impermeável, inerte e inócuo em relação ao conteúdo e garantir uma adequada conservação, conforme previsto na legislação relativa aos materiais destinados a entrar em contacto com os géneros alimentícios. Deve ainda estar devidamente rotulado de acordo com a legislação em vigor.

Rotulagem

O rótulo é o "Bilhete de Identidade" de um produto, por isso, para além da função publicitária, deve ser fundamentalmente um meio de informação, facilitando uma escolha adequada, uma actuação correcta na conservação e no consumo adequado do

produto, por parte do consumidor. Assim, as indicações devem ser completas, verdadeiras e esclarecedoras quanto à composição, quantidade e características. Segundo a legislação portuguesa (Decreto-Lei n.º 560/99, Decreto-Lei n.º 199/2008; Portaria n.º 922/2004) e as recomendações do organismo internacional FAO/OMS (Codex Alimentarios), através do seu documento Codex Stan 1-1985, o rótulo das embalagens dos vinagres devem conter as seguintes informações:

- A denominação de venda;
- A quantidade líquida contida na embalagem;
- O nome ou firma ou denominação social e a morada do fabricante ou do embalador, ou de um vendedor estabelecido na União Europeia;
- A lista de ingredientes que compõem o produto;
- O lote de fabrico;
- A indicação do teor em ácido acético;
- A presença de dióxido de enxofre (SO₂).

É de referir que os vinagres estão isentos da obrigatoriedade de menção da sua data de validade.

Na Figura 1, encontra-se, a título de exemplo, a ilustração do rótulo de um vinagre, com a explicação do seu conteúdo.

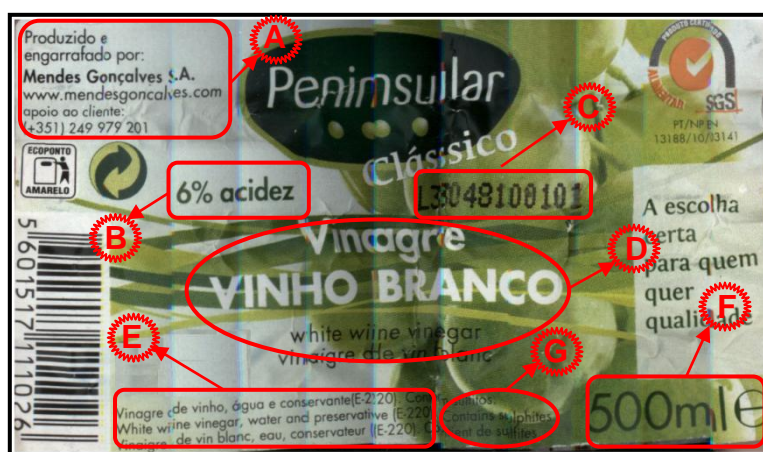


Figura 1. Exemplo de um rótulo de um vinagre.

A, denominação social e morada do fabricante; **B**, teor em ácido acético; **C**, lote de fabrico; **D**, denominação de venda; **E**, lista de ingredientes; **F**, quantidade líquida; **G**, Contém sulfitos (presença de dióxido de enxofre).

2.1.2. Processos de produção do vinagre

Em geral, pode falar-se de dois tipos de métodos de produção de vinagre. O primeiro em que a fermentação ou acetificação se efectua em meio de cultivo superficial, no qual as bactérias acéticas se encontram na interface liquido/gás fixas por meio de suportes de materiais, tais como aparas de madeira. Por este método, são elaborados os vinagres tradicionais.

O segundo, consiste na acetificação ou fermentação em meio de cultura submerso, onde as bactérias acéticas se encontram submergidas livremente no interior do liquido a fermentar e no qual se introduz ar (simples ou enriquecido com oxigénio) em condições que permitam a máxima transferência possível desde a fase gasosa até a fase liquida. Assim são produzidos, de uma forma rápida, os vinagres actuais (Suares-Lepe e Inigo-Leal, 2004).

Enquanto na fermentação alcoólica é desejável a utilização de culturas puras de *Saccharomyces cerevisiae* para se obter um aroma agradável no produto final, na fermentação acética ocorre o contrário, isto é, o uso de culturas puras resulta num produto inferior aquele que é obtido com culturas mistas de *acetobacter*. Tal facto resulta das espécies estarem provavelmente em simbiose (Adams, 1985).

As bactérias acéticas diferem da maioria das outras bactérias aeróbias pelo facto de não oxidarem completamente suas fontes de energia até produzirem CO₂ e H₂O, sendo produzidas pequenas quantidades de outros produtos, como aldeídos, cetonas, ésteres e outros ácidos orgânicos. Estas bactérias oxidam o etanol presente no meio, em duas etapas. Na primeira etapa, o etanol é oxidado a acetaldeído e na segunda, o acetaldeído é oxidado a ácido acético (Figura 2). Sendo ácido-tolerantes, as bactérias acéticas, não são prejudicadas pela acidez produzida no meio. Durante o seu desenvolvimento há grande consumo de oxigénio, sendo o principal problema na produção de vinagre a necessidade de proceder ao fornecimento de um suficiente arejamento ao meio.

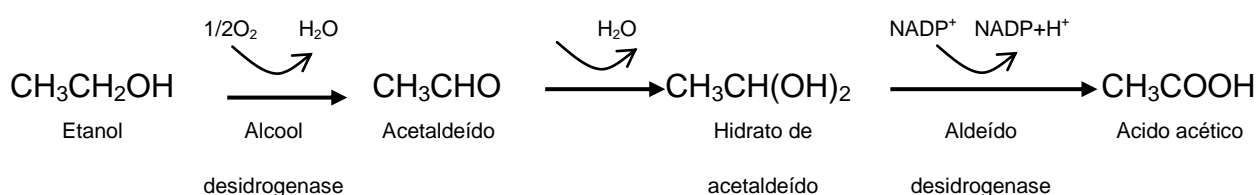


Figura 2. Representação esquemática da oxidação do etanol a ácido acético.

O processo metabólico da fermentação acética baseia-se na conversão do etanol, pela acção de uma álcool-desidrogenase que transfere os átomos de hidrogénio do etanol para o oxigénio, em acetaldeído, que pela adição de água forma por sua vez hidrato de acetaldeído. A partir deste último produto, forma-se o ácido acético pela acção de uma acetaldeído-desidrogenase e de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato (NADP) como aceitador de hidrogénio. Para cada mol de ácido acético produzido, uma mol de oxigénio é consumido. Por este motivo, a síntese microbiana de ácido acético requer um arejamento e oxigenação intensiva.

A temperatura óptima de crescimento das bactérias acéticas varia de 25 a 30 °C, tendo um desenvolvimento adequado entre um pH 5.4 e 6.3 em todo o tipo de soluções açucaradas.

Seguidamente, faz-se uma breve referência e descrição dos três principais processos de produção de vinagre vulgarmente utilizados, bem como do seu processamento final.

Processo de Orleães

Conhecido também como lento, superficial ou estacionário, é o processo mais antigo (surgiu em 1670) utilizado até hoje para a elaboração caseira de vinagre. Produz vinagre de excelente qualidade utilizando como matéria-prima produtos da fermentação alcoólica de soluções açucaradas (Suares-Lepe e Inigo-Leal, 2004). A Figura 3 esquematiza o recipiente utilizado para a obtenção de vinagre de vinho por este processo.

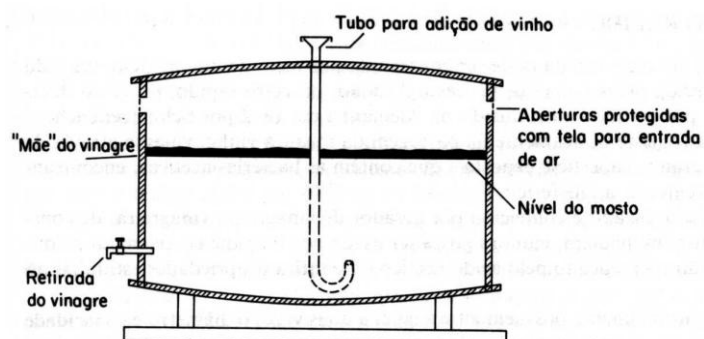


Figura 3. Recipiente usado para a produção de vinagre no processo de Orleães.

(adaptado de Aquarone *et al.*, 2001).

O vinagre é elaborado em barris de mais ou menos 200 litros, contendo na parte superior, alguns orifícios para a entrada de ar. O procedimento consiste em colocar no barril cerca de um terço de sua capacidade com vinagre, indo-se adicionando quantidades de vinho ou o fermentado de fruta entre 10 a 15 litros por semana, durante um mês. Ao fim de cinco semanas, extraem-se aproximadamente 20 litros de vinagre, substituindo-se por outro tanto de vinho novo, repetindo-se desta forma o processo ao longo do tempo (Guzmán, 1998).

O vinagre retirado não deve conter mais que 1% de álcool e, caso o teor de álcool esteja mais alto, deve-se aguardar mais alguns dias de fermentação (Aquarone *et al.*, 2001).

A temperatura ambiente para este processo não deve exceder 25 °C, evitando-se assim perdas de álcool por evaporação. Todas as entradas e janelas das instalações, assim como as aberturas do barril, devem ser protegidas com telas finas para evitar a presença de moscas e outros insectos que são atraídos pelos odores produzidos pelos vinagres.

O produto formado pelo processo lento é um vinagre de boa qualidade, praticamente limpo, que dispensa filtração ou clarificação (Cerezo *et al.*, 2008). No entanto, este tipo de processamento é de baixa produtividade, ocupa muito espaço e actualmente é usado exclusivamente para a produção doméstica. Neste caso, o factor limitante para a quantidade produzida é o fornecimento de oxigénio, já que este equipamento não possui nenhum dispositivo de arejamento.

Processo Alemão

Os processos rápidos, como é o caso do Processo Alemão, são bastante utilizados actualmente. Foram idealizados por Boerhave no começo do século XVIII, ao descobrir que a transformação do vinho em vinagre era bastante rápida quando deixava passar o vinho, através de um recipiente cheio de bagaços. Actualmente, são utilizados recipientes geradores, empacotados com material de enchimento dos mais diversos tipos e materiais (por exemplo, a madeira). As bactérias acéticas colonizam a superfície do material e oxidam o etanol em ácido acético (Llaguno e Polo, 1991).

A matéria-prima é recirculada desde a parte inferior da tina até a parte superior. Este material passa pela madeira, onde as bactérias acéticas ficam fixadas, transformando o conteúdo alcoólico em ácido acético. Uma vez ocorrido o processo total, descarrega-se

a metade da tina de depósito, voltando a introduzir a mesma carga de vinho base (Aquarone *et al.*, 2001).

Por este processo, obtém-se um vinagre de boa qualidade, porém com baixo rendimento. Na Figura 4, apresenta-se a representação esquemática de um gerador utilizado para a produção de vinagre utilizado neste processo de produção.

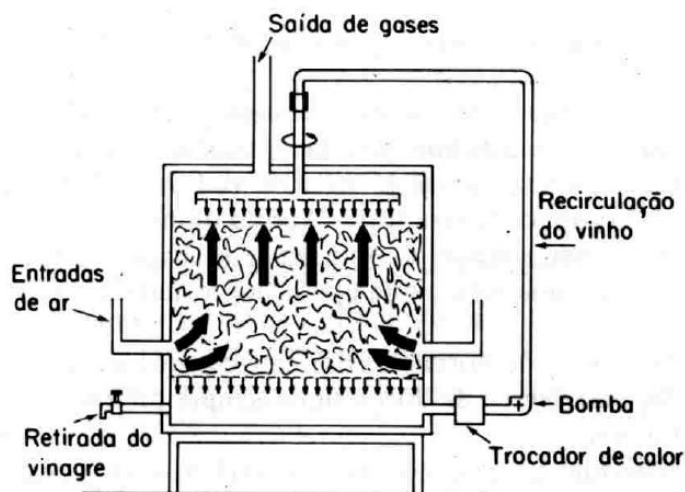


Figura 4. Gerador para a produção de vinagre utilizado no processo Alemão.

(Adaptado de Aquarone *et al.*, 2001).

Os geradores têm tamanho e formas diferentes. Geralmente são de forma cilíndrica e têm, no fundo, um suporte perfurado que sustenta o material de enchimento. Pelos orifícios de suporte, passa o ar a ser utilizado na oxidação. O material de enchimento deve formar uma grande superfície, para permitir o contacto íntimo entre o líquido e o ar, facilitando as trocas, sendo utilizadas vulgarmente aparas de madeira. Sobre o material de enchimento descansa uma placa crivada, para permitir uma perfeita distribuição do vinho que cai de um bico aspersor, colocado na parte superior (Mecca *et al.*, 1979; Aquarone *et al.*, 1983; Llaguno e Polo, 1991).

A acidez aumenta progressivamente conforme o líquido vai sendo passado, sucessivamente, duas ou três vezes pelo mesmo gerador ou através de geradores em série. Sendo o processo exotérmico, o líquido deve ser arrefecido antes de entrar novamente no gerador (Aquarone *et al.*, 2001).

Processos Submersos

Estes processos surgiram por volta do ano 1950. O método baseia-se em manter a cultura de bactérias acéticas submergidas no vinho a acetificar, com um fornecimento abundante de ar. Após a acetificação da matéria-prima, é feita a descarga de uma parte de vinagre, sendo repostada com uma parte de vinho, sem parar o processo. O processo de transformação leva em média 20 horas (Suarez-Lepe e Inigo-Leal, 2004). O substrato alcoólico, por este processo, pode ser fermentado trinta vezes mais rapidamente que por qualquer outro processo. Neste processo, o ar deve ser controlado cuidadosamente, pois um decréscimo da pressão parcial de oxigénio altera o metabolismo bacteriano.

O processo de acetificação é exotérmico e como tal deve-se permitir a dissipação térmica, possibilitando-se dessa forma, o controle da temperatura dentro de uma faixa conveniente. O óptimo de temperatura de fermentação depende da concentração do substrato, sendo a mesma de cerca de 28 °C (Troncoso, 2005).

O processo de fermentação submersa apresenta uma série de vantagens, relativamente aos restantes processos, de entre as quais se salienta:

- *Alta eficiência:* diariamente podem-se produzir cerca de 6% ou mais, de vinagre;
- *Rendimentos:* calculados em relação ao teórico, alcançam de 90 a 95%;
- *Prático:* dispensa tratamentos de clarificação e de filtração, normalmente onerosos e demorados.

O equipamento mais utilizado para a produção de vinagre em cultura submersa é conhecido pelo nome de acetificador de Frings, fabricado e patenteado pela Heinrich Frings-Bonn, Alemanha. A produtividade média desses acetificadores é igual a 1/4 de seu volume útil em litros de vinagre a 10% ao dia (Aquarone *et al.*, 2001).

A Figura 5, apresenta um acetificador Frings em aço inoxidável utilizado na produção de vinagre.



Figura 5. Acetificador Frings em aço inoxidável.

(Retirado de Suares-Lepe e Inigo-Leal, 2004).

Processamento final do vinagre

De acordo com Aquarone *et al.* (2001), antes de se colocar o vinagre em comercialização, este deve sofrer alguns tratamentos para melhorar e aumentar a estabilidade do produto final. Estas operações finais incluem, o armazenamento após a fermentação, os processos de clarificação, o envelhecimento, a estabilização e o engarrafamento.

A clarificação do vinagre pode ser feita de diversas formas, tais como: espontânea ou auto-clarificação, físico-química, química, mecânica, através de substâncias orgânicas e inorgânicas usadas como clarificantes (albumina, argilas, bentonite, caseína entre outras). A filtração pode ser definida como a separação de impurezas e de microrganismos do líquido com a ajuda de um material filtrante. É a operação que permite obter um vinagre límpido e brilhante. Os tipos de filtração mais utilizados são, filtração a cartucho; filtração com extracto filtrante; membrana filtrante; filtro rotativo a vácuo e filtração por meio de fibras vegetais (Aquarone *et al.*, 1983; Mecca *et al.*, 1979; Llaguno e Polo, 1991).

De acordo com a matéria-prima utilizada, vinho ou sumo de frutas, o vinagre deve ser envelhecido por um determinado período de tempo, por vezes até um ano ou mais.

Durante esse tempo, ocorrem reacções de esterificação, responsáveis pelo desenvolvimento de aromas agradáveis (Tsfaye *et al.*, 2002).

A estabilização do vinagre permite manter as suas características físico-químicas e organolépticas durante o período de comercialização. Pode ser feita através de métodos físicos ou de métodos químicos.

Os métodos físicos mais usados na indústria vinagreira são a pasteurização e a ultra filtração (Mecca *et al.*, 1979; Llaguno e Polo, 1991). A pasteurização consiste em tratar o vinagre a temperaturas variáveis de 50 a 80 °C de modo a destruir totalmente os microrganismos e a desactivar as enzimas que são predominantemente a causa mais importante das alterações (oxidação do ácido acético) do vinagre. O tratamento do vinagre mediante o calor pode ser uma alternativa eficaz e segura para uma melhor conservação do produto (Aquarone *et al.*, 2001).

A pasteurização do vinagre pode ocorrer de duas formas:

- Rápida: 75 a 80 °C durante 30 a 40 segundos;
- Lenta: 50 a 65 °C durante 20 a 30 minutos.

Os métodos químicos, de estabilização dos vinagres, consistem na adição de substâncias, legalmente autorizadas, tais como o ácido ascórbico e o dióxido de enxofre, que auxiliam na sua estabilização.

O vinagre deve ser embalado em material resistente que não sofra corrosão e que não transmita cor ou odores desagradáveis ao produto. Geralmente são utilizadas garrafas de vidro, PVC ou polietileno, fechadas com tampas plásticas. Após o engarrafamento, é feita uma pasteurização a uma temperatura de 60-66 °C, durante 30 min. Pode-se também fazer a pasteurização contínua e embalar posteriormente (Aquarone *et al.*, 1983).

A eliminação do ar existente na embalagem é essencial para garantir a preservação do produto. Uma clarificação adequada, uma boa filtração, uma adequada pasteurização e uma adição de conservantes são os parâmetros que definem a quantidade de ar a ser retirada no momento do engarrafamento (Aquarone *et al.*, 2001).

2.2. Os compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis, como são vulgarmente designados, são compostos que apresentam actividade anti-radical livre (Reynertson *et al.*, 2006; Kuskoski *et al.*, 2006), encontrando-se em diferentes alimentos tais como, vegetais, frutas, chocolate, chá, café, vinho, sumos de uva e vinagre, em diferentes concentrações (Dávalos *et al.*, 2005). Os polifenóis totais têm sido estudados devido à sua influência na qualidade dos alimentos, englobando uma variedade significativa de substâncias que apresentam actividades farmacológicas, inibição da oxidação lipídica, proliferação de fungos, além de participarem em processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (Soares, 2002).

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam grupos hidroxilos e anéis aromáticos, nas formas simples ou polímeros, que lhes conferem poder antioxidante, destacando-se entre eles, os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis, como antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural. Estes compostos são eficientes na prevenção da auto-oxidação, apresentando acções importantes na redução do risco de desenvolvimento de patologias, como a arteriosclerose e o cancro (Yang *et al.*, 1997; Kähkönen *et al.*, 1999; Degáspari e Waszczynskyj, 2004; Angelo e Jorge, 2007).

A actividade anti-carcinogénica, atribuída aos compostos fenólicos tem sido associada à inibição de cancro do cólon, do esófago, do pulmão, do fígado, da mama e da pele. Os compostos fenólicos associados a este efeito potencial são o resveratrol, a quercetina, o ácido cafeico e os flavonóis (Bravo, 1998).

Os compostos fenólicos podem ser classificados de diferentes formas, dada a complexidade do tema, não sendo possível uma classificação perfeita e exaustiva de todos eles. No entanto, podem ser classificados geralmente em dois grandes subgrupos: os flavonóides e os não flavonóides.

Na Figura 6, é apresentada de forma esquemática a classificação dos diferentes compostos fenólicos.

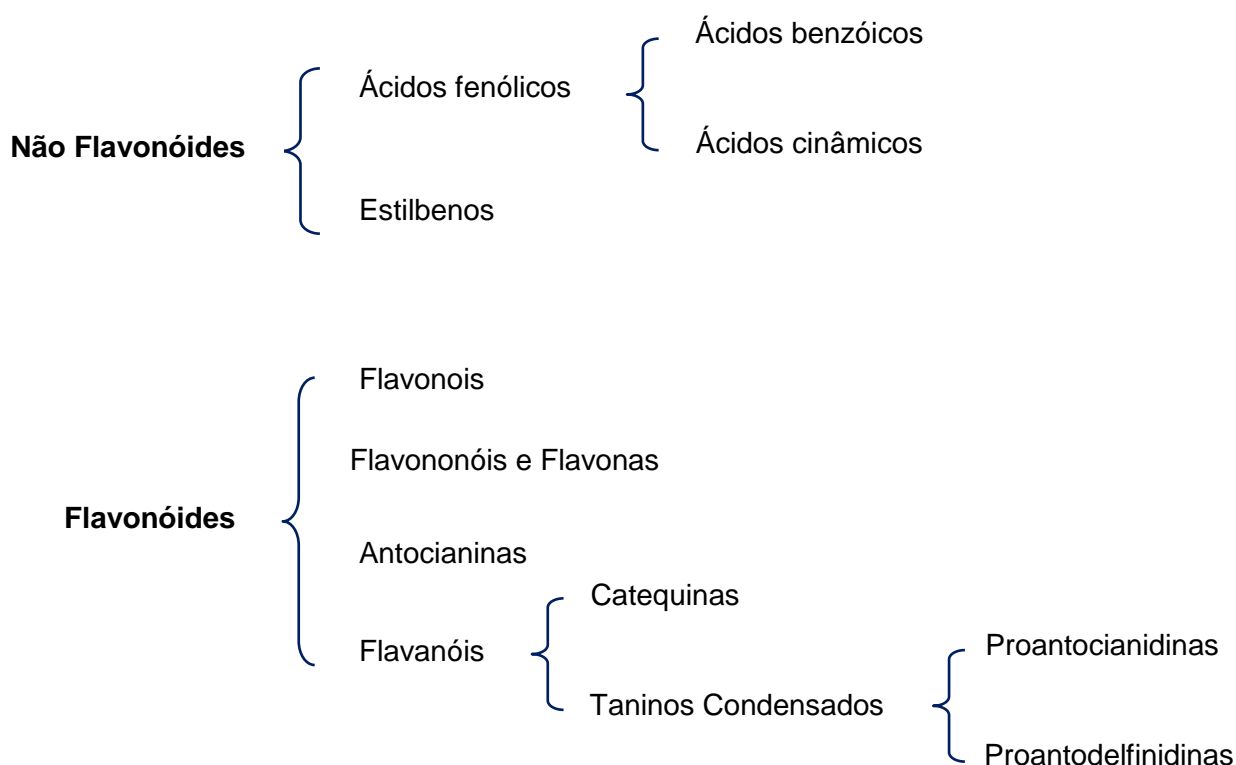


Figura 6. Diagrama geral de classificação dos diferentes compostos fenólicos.

(Adaptado de Zamora-Marin, 2003).

De acordo com vários autores (Harborne, 1989; Harborne *et al.*, 1998), a diversidade estrutural, em termos químicos, dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que ocorrem na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. As várias estruturas fenólicas podem ser agrupadas em várias classes, tal como é apresentado na Tabela 2.

De entre os vários compostos fenólicos, destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (King e Young 1999).

De todos os compostos fenólicos, as antocianinas e os flavanóis são os compostos fenólicos que têm maior influência sobre a cor e ainda sobre as características organolépticas dos vinhos e seus derivados (Zamora-Marin, 2003).

Tabela 2. Diferentes classes de compostos fenólicos e respectivas estruturas químicas.

Classe	Estrutura química
Compostos fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C_6-C_3
Nafitoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

(Adaptado de Balasundram *et al.*, 2006).

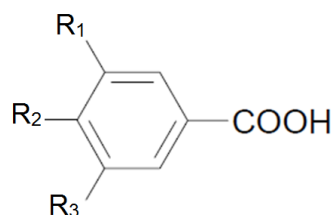
2.2.1. Compostos fenólicos não flavonóides

Os compostos fenólicos não flavonóides incluem duas grandes famílias: os ácidos fenólicos e os estilbenos.

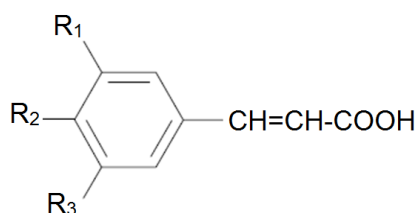
Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos consistem em dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzóico e os derivados do ácido hidroxicinâmico. Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos, gálico, p-hidroxibenzóico, protocatético, vanílico e siríngico, que têm uma estrutura comum, C_6-C_1 (Balasundram *et al.*, 2006). Os ácidos hidroxicinâmicos, são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral (C_6-C_3), como sejam o ácido cafeíco, ferúlico, p-cumárico e sináptico (Bravo, 1998). As estruturas químicas genéricas dos ácidos fenólicos são apresentadas na Figura 7.

Assim, os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzénico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos de hidroxilo e/ou metoxilo na molécula, encontrando-se nos frutos na forma livre e em baixas concentrações quando comparados com as suas formas conjugadas (Clifford, 1997). Estes ácidos aparecem numa variedade de produtos vegetais desde as películas das uvas aos cereais, sobretudo sobre a forma de ésteres com ácido tartárico ou ligados a açúcares (Michael, 1999).



Ácido fenólico		R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -hidroxibenzoico	4-Hidroxibenzoico	H	OH	H
protocatético	3,4-Dihidroxibenzoico	OH	OH	H
gálico	3,4,5-Trihidroxibenzoico	OH	OH	OH
vanílico	4-Hidroxi-3-metoxibenzoico	OCH ₃	OH	H
siríngico	3,5-Dimetoxibenzoico	OCH ₃	OH	OCH ₃



Ácido fenólico		R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -cumárico	4-Hidroxicinâmico	H	OH	H
caféico	3,4-Dihidroxicinâmico	OH	OH	H
ferrúlico	4-Hidroxi-3-metoxicinâmico	OCH ₃	OH	H
sinápico	4-Hidroxi-3,5-dimetoxicinâmico	OCH ₃	OH	OCH ₃

Figura 7. Estrutura química dos principais ácidos fenólicos.

(Adaptado de Shahidi e Naczki 2003).

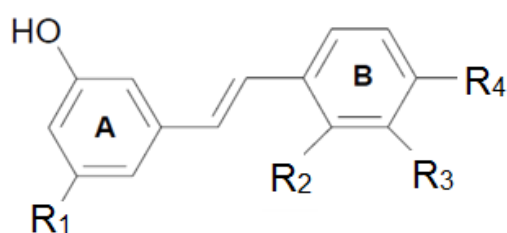
Os ácidos cinâmicos, ferúlico e *p*-cumárico são antioxidantes mais activos do que os derivados do ácido benzoico, tais como o ácido protocatético, siríngico e vanílico (Balasundram *et al.*, 2006). Tal facto, de acordo com Wanasundara *et al.* (1994) resulta de possuírem uma dupla ligação na molécula dos derivados do ácido cinâmico, que participa na estabilidade do radical por ressonância de deslocamento do electrão desemparelhado, enquanto que os derivados do ácido benzoico não apresentam essa característica.

Estilbenos

Os estilbenos são outro grupo de compostos fenólicos não flavonóides cuja função biológica parece estar relacionada com mecanismos de defesa dos bagos das uvas contra os ataques fúngicos (Zamora-Marin, 2003; Michalak, 2006).

A estrutura química dos estilbenos encontra-se representada na Figura 8. O resveratrol é o estilbeno mais abundante e encontra-se em maiores concentrações nas uvas e nos amendoins com valores entre 0.24 e 1.25 mg/Kg e entre 0.01 e 0.26 mg/Kg (Romero-Perez *et al.*, 1996; Romero-Perez *et al.*, 1999; Sobolev *et al.*, 1999; Sanders *et al.*, 2000; Burns *et al.*, 2002; Moreno-Labanda *et al.*, 2004; Hurst *et al.*, 2008), respectivamente.

Os estilbenos não têm qualquer importância do ponto de vista da cor ou de outras propriedades organolépticas nos alimentos de origem vegetal. No entanto, ultimamente tem sido alvo de relevância científica devido à possibilidade dos efeitos benéficos do resveratrol e de outros compostos fenólicos parecerem exercer sobre a saúde humana (Lamuella-Raventos e Waterhouse, 1999; Shankar *et al.*, 2007; Saiko *et al.*, 2008; Das e Das, 2010; Petrovski *et al.*, 2011).



Estilbeno	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Pinosilvina	OH	H	H	H
Resveratrol	OH	H	H	OH
Hidroxi-resveratrol	OH	OH	H	OH
Piceatanol	OH	H	OH	OH
Rapontigenina	OH	H	OH	OCH ₃

Figura 8. Estrutura química geral dos principais estilbenos.

(Adaptado de Shahidi e Naczki 2003).

2.2.2. Compostos fenólicos flavonóides

O grupo de compostos fenólicos mais relevante nos alimentos é o dos flavonóides.

Os compostos fenólicos flavonóides incluem quatro grandes famílias: os flavonóis, os flavanonóis e flavonas, as antocianinas e os flavanóis. Esta última família, inclui os taninos condensados ou proantocianidinas (Zamora-Marin, 2003).

Os flavonóides são caracterizados pela estrutura C₆-C₃-C₆ com dois anéis fenólicos (A e B) e um anel heterocíclico pirânico (C) que os une e cuja representação esquemática da sua estrutura química é apresentada na Figura 9 (Shahidi e Naczki, 2003).

Dos compostos fenólicos, os flavonóides, são os principais responsáveis pelas sensações gustativas (flavan-3-óis) e pela cor dos vinhos tintos (antocianinas), assumindo ainda um importante papel no envelhecimento dos mesmos (Jordão, 1999).

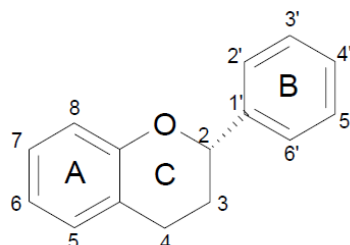


Figura 9. Estrutura química do núcleo flavânico dos compostos fenólicos flavonóides.

(Adaptado de Shahidi e Nacz 2003)

Na Tabela 3 e Tabela 4, encontram-se apresentados, a título de exemplo, os teores em compostos fenólicos totais e compostos fenólicos flavonóides quantificados em alguns frutos e vegetais.

Tabela 3. Teores em compostos fenólicos totais e compostos fenólicos flavonóides em alguns frutos.

Fruto	Nome científico	Compostos fenólicos totais*	Flavonóides totais**
Pêra (c/casca)	<i>Pyrus communis</i>	124.7	69.9
Pêra (s/casca)	<i>Pyrus communis</i>	91.0	48.5
Maçã amarela (c/casca)	<i>Malus pumila</i>	99.7	34.8
Maçã amarela (s/casca)	<i>Malus pumila</i>	75.8	20.9
Maçã vermelha (c/casca)	<i>Malus pumila</i>	125.4	48.6
Maçã vermelha (s/casca)	<i>Malus pumila</i>	104.3	32.7
Maçã verde (c/casca)	<i>Malus pumila</i>	118.1	40.4
Maçã verde (s/casca)	<i>Malus pumila</i>	97.5	17.3
Ameixa	<i>Prunus domestica</i>	303.6	136.2
Pêssego	<i>Prunus persica</i>	50.9	15.0
Amora silvestre	<i>Rubus coesins</i>	355.3	55.5
Framboesa	<i>Rubus ideaus</i>	178.6	26.6
Morango	<i>Fragaria vesca</i>	244.1	69.7
Cereja	<i>Prunus avium</i>	78.8	19.6
Ginjas	<i>Prunus cerasus vulgaris</i>	429.5	138.6
Mirtilo	<i>Vaccinium myrtillus</i>	670.9	190.3
Figo	<i>Ficus carica</i>	59.0	20.2
Uva branca	<i>Vitis vinifera</i>	184.1	36.5
Uva Tinta	<i>Vitis vinifera</i>	213.3	77.1
Corniso	<i>Cornus mas</i>	432.0	91.4

* Valores expressos em equivalentes de ácido gálico por 100g de massa fresca (GAE mg/100g). ** Valores expressos em equivalentes de catequina (CE) por 100g de massa fresca (CE mg/100g). (Adaptado de Marinova *et al.*, 2005).

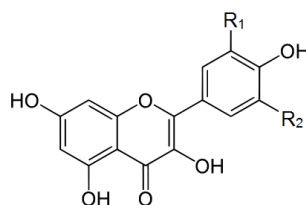
Tabela 4. Teores em compostos fenólicos totais e compostos fenólicos flavonóides em alguns legumes.

Legume	Nome científico	Compostos fenólicos totais*	Flavonóides totais**
Cenouras	<i>Daucus carota</i>	96.0	26.7
Aipo (folhas)	<i>Apium graveolens</i>	113.0	46.4
Salsa	<i>Petroselinum sativum</i>	188.0	27.2
Quiabo	<i>Hibiscus esculentus</i>	153.7	49.1
Tomate	<i>S. lycopersicum</i>	76.9	12.8
Pimento vermelho	<i>Capsicum anuum</i>	173.2	13.7
Pimento verde	<i>Capsicum anuum</i>	246.7	27.4
Alface	<i>Lactuca sativa</i>	116.2	76.5
Alface	<i>Lactuca sativa capitata</i>	124.5	97.2
Rábano	<i>Brassica oleraceae var. caulorapa</i>	44.9	8.9
Repolho roxo	<i>Brassica oleraceae var. botritis</i>	139.3	23.7
Couve bruxelas	<i>Brassica oleraceae var. Gemmifera</i>	161.5	33.1
Brócolos	<i>Brassica oleraceae var. Italica</i>	101.7	18.8
Rabanete	<i>Raphanus sativus, var. Radicula</i>	160.0	48.5
Cebola vermelha	<i>Allium cepa</i>	154.1	18.7
Cebola branca	<i>Allium cepa</i>	120.0	16.0
Cebola branca (folhas)	<i>Allium cepa</i>	81.0	11.7
Cebola branca (tronco)	<i>Allium cepa</i>	36.5	2.5
Alho-porro (folhas)	<i>Allium porrum</i>	35.7	3.9
Alho-porro (tronco)	<i>Allium porrum</i>	27.7	2.6
Feijão verde	<i>Phaseolus vulgaris</i>	35.5	4.1
Feijão amarelo	<i>Phaseolus vulgaris</i>	55.7	8.2

* Valores expressos em equivalentes de ácido gálico por 100g de massa fresca (GAE mg/100g). ** Valores expressos em equivalentes de catequina (CE) por 100g de massa fresca (CE mg/100g). (Adaptado de Marinova *et al.*, 2005)

Flavonóis

Os flavonóis são os responsáveis pela cor amarela da película das uvas brancas e naturalmente de uma parte da coloração amarela dos vinhos brancos. A sua estrutura química encontra-se representada na Figura 10.



Flavonóis	R ₁	R ₂
Kaempferol	H	H
Quercitina	OH	H
Miricetina	OH	OH
Isoramnetina	OCH ₃	H

Figura 10. Estrutura química dos principais flavonóis.

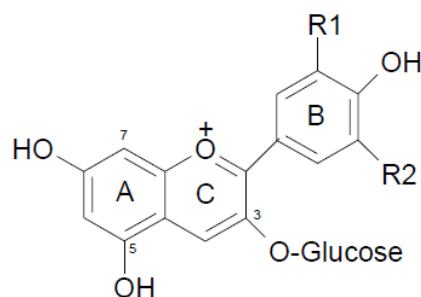
(Adaptado de Zamora-Marin, 2003)

Flavanonóis e flavonas

Os flavanonóis e as flavonas apresentam uma estrutura muito semelhante à dos flavonóis, diferenciando-se unicamente pela ligação dupla entre os heteróciclos (Zamora-Marin, 2003).

Antocianinas

As antocianinas são responsáveis pela coloração vermelha dos frutos, pela cor vermelha azulada das películas das uvas tintas e conseqüentemente pela cor dos vinhos tintos (Zamora-Marin, 2003). Trata-se de um grupo de compostos que apresentam um importante papel na cor dos frutos e cuja estrutura deriva de glucósidos do catião flavílio com diferentes graus de hidroxilação e metoxilação. Na sua forma não glicosilada denominam-se antocianidinas. A diversidade estrutural das antocianidinas depende do número e da posição dos grupos hidroxilo e metóxilo ligados aos anéis aromáticos (A e B). Estas moléculas são mais estáveis na sua forma glicosídica (antocianinas) do que na forma aglicona (antocianidinas) (Ribereau-Gayon, 2001). Na Figura 11, encontram-se representadas as principais antocianinas identificadas nos frutos.



Antocianina	R ₁	R ₂
Pelargonidina-3-glucósido	H	H
Cianidina-3-glucósido	OH	H
Delfinidina-3-glucósido	OH	OH
Peonidina-3-glucósido	OCH ₃	H
Petunidina-3-glucósido	OCH ₃	OH
Malvidina-3-glucósido	OCH ₃	OCH ₃

Figura 11. Estrutura química geral das antocianinas.

(Adaptado de Ribereau-Gayon, 2001)

As antocianinas podem ainda diferir na natureza, em número e posição dos açúcares (pentoses, metilpentoses e hexoses) ligados à molécula e na presença e natureza dos ácidos esterificados na molécula de açúcar. Na maioria dos casos os açúcares ligam-se na posição O-3 podendo também ocorrer ligação em O-5 em algumas espécies do género *Vitis* (Zamora-Marin, 2003).

Na Figura 12, encontram-se representadas as estruturas químicas das antocianinas 3-monoglucosídicas e respectivos ésteres acilados.

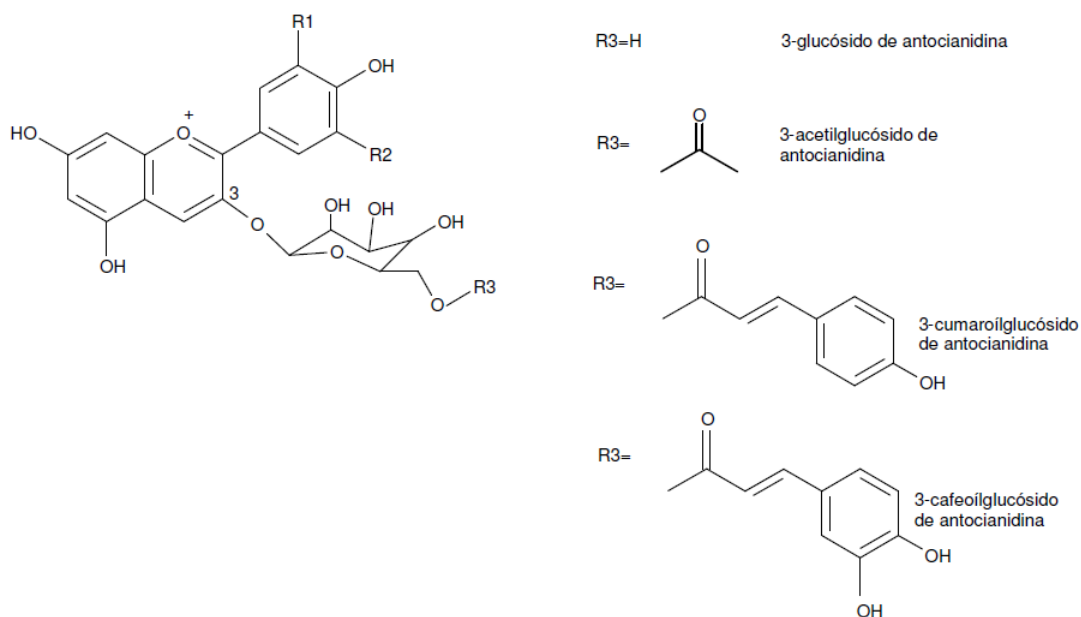


Figura 12. Estruturas químicas das antocianinas 3-monoglucosídicas e respectivos ésteres acilados.

(Adaptado de Ribereau-Gayon, 2001).

As antocianinas são pigmentos solúveis em água e que se encontram na maioria das espécies do reino vegetal (Harborne, 1998). Encontram-se em frutas tais como, a amora, a framboesa vermelha e preta, o mirtilo, o arando, a cereja, a groselha, a laranja sanguínea, as bagas de sabugueiro e as uvas. Encontram-se também em vegetais, tais como: cebola vermelha, rabanete, repolho roxo, alface vermelha, beringela, batata de pele vermelha e púrpura e batata-doce (Tabela 5). Antocianinas podem ser encontradas em todas as partes das plantas. Apesar de se acumularem principalmente nas flores e nos frutos, também estão presentes nas folhas, caules e órgãos de armazenamento (Brouillard, 1982; Delgado-Vargas e Paredes-López, 2003). Entre plantas diferentes ou mesmo cultivares na mesma planta, os teores de antocianinas totais variam consideravelmente, afetados pelos genes, pela luz, pela

temperatura e ainda por fatores agronômicos. Dos dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que de um modo geral o teor de antocianinas em frutas é muito maior do que nos vegetais. Há apenas um vegetal comum, que contém um alto nível de antocianinas, a beringela.

Tabela 5. Teores em antocianinas totais presentes em alguns frutos e legumes.

Alimento	Antocianinas totais ^a	Fontes bibliográficas
Maçã (casca)	100 - 2160	Eder (2000)
Uva-do-monte	4600	Eder (2000)
Amora	820 - 1800	Eder (2000); Clifford (2000)
Mirtilo	825 - 5300	Timberlake e Henry (1988); Eder (2000); Clifford (2000)
Cereja	3500 - 4500	Eder (2000)
Arando	5060 - 10000	Clifford (2000)
Arando Vermelho	460 - 2000	Timberlake e Henry (1988); Eder (2000)
Baga Sabugueiro	2000 - 15600	Eder (2000); Clifford (2000)
Uva vermelha	300 - 7500	Timberlake e Henry (1988); Clifford (2000)
Uva roxa	80 - 3880	Eder (2000)
Laranja sanguínea	2000	Clifford (2000)
Ameixa vermelha	19 - 250	Timberlake e Henry (1988); Eder (2000)
Framboesa preta	100 - 600	Timberlake e Henry (1988); Eder (2000); Clifford (2000)
Framboesa vermelha	763 - 4277	Timberlake e Henry (1988); Clifford (2000)
Morango	127 - 360	Timberlake e Henry (1988); Clifford (2000)
Groselha preta	1300 - 4000	Timberlake e Henry (1988); Clifford (2000)
Groselha vermelha	119 - 186	Clifford (2000)
Repolho vermelho	250	Timberlake e Henry (1988)
Beringela	7500	Clifford (2000)
Rabanete vermelho	110 - 600	Giusti <i>et al.</i> (1998)
Cebola vermelha	250	Timberlake e Henry (1988)
Ruibarbo	2000	Timberlake e Henry (1988)

^a Valores expressos em mg de antocianinas totais por quilograma de peso fresco (mg/kg).

A distribuição das seis antocianinas mais comuns nas partes comestíveis de vegetais é a seguinte: cianidina (50%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), delphinidina (12%), petunidina (7%), e malvidina (7%) (Kong *et al.*, 2003). As três antocianinas não-metiladas: cianidina (Ci), delphinidina (Df) e pelargonidina (Pg), são as mais difundidas na natureza. A maioria das espécies contém um número limitado de antocianinas (maçãs, ameixas, pêras), mas em alguns casos - como as uvas tintas, estas podem conter uma mistura de mais de 20 pigmentos antociânicos diferentes (Clifford, 2000). No geral, a cianidina aglicona ocorre em cerca de 90% das frutas, e é a aglicona mais frequentemente (Prior, 2004) (Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8).

As antocianinas em frutas e verduras encontram-se normalmente na forma glicosilada. Os resultados das Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8, são relatados como agliconas, sendo

os resultados resumidos em ambas as tabelas após a conversão dos valores em glicosídeos nas formas agliconas, com base no peso molecular.

Nos vegetais as três classes de antocianinas glicosídeas mais comuns são: 3-monoglicosídeos, 3-diglicosídeos, e 3,5-diglicosídeos. Os 3-Glicosídeos ocorrem cerca de duas vezes e meia mais frequentemente do que os 3,5-diglicosídeos (Kong *et al.* 2003). Considerando que a forma glicosídea é o mais abundante em comparação com outros glicosídeos, a cianidina 3-glucosídeo é a antocianina mais difundida na natureza (Prior, 2004; Kong *et al.*, 2003).

Tabela 6. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em frutas.

Fruto	Ci	Pg	Mv	Pt	Pn	Df	Fontes bibliográficas
	(mg/100g de peso fresco)						
Maçã (<i>Royal gala</i>)	1.5						Arabbi <i>et al.</i> (2004); Franke <i>et al.</i>
Maçã (<i>Golden</i>)	2.0						(2004); Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i>
Maçã (<i>Red delicious</i>)	6.1						(2006).
Banana						7.4	Harnly <i>et al.</i> (2006)
Amora silvestre	90.3	0.2					Fan-Chiang e Wrolstad (2005); Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)
Uva-do-monte	112.6		54.4	51.1	51.1	161.9	Kahkonen <i>et al.</i> (2003)
Mirtilo	17.0		61.4	26.4	11.4	47.4	Franke <i>et al.</i> (2004); Gao e Mazza (1994)
Arando	435.8	1.4					Slimestad <i>et al.</i> (2005); Wu <i>et al.</i> (2004)
Arando vermelho	41.8		0.3		42.1	7.7	Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)
Groselha preta	85.6	1.2		3.9	0.7	181.1	Iversen (1999); Kahkonen <i>et al.</i> (2003); Määttä <i>et al.</i> (2003); Wu <i>et al.</i> (2004)
Groselha vermelha	12.9						Määttä <i>et al.</i> (2003); Wu <i>et al.</i> (2004)
Baga sabugueiro	758.5	1.1					Kaack e Austed (1998); Wu <i>et al.</i> (2004)
Uva tinta	1.5	1.1	34.7	2.9	2.1	3.7	Franke <i>et al.</i> (2004); Revilla <i>et al.</i> (1998); Wu <i>et al.</i> (2006)
Ameixa	39.7						Franke <i>et al.</i> (2004); Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)
Pera	12.2						Harnly <i>et al.</i> (2006)
Framboesa preta	323.5						Wu <i>et al.</i> (2006)
Framboesa vermelha	35.8	1.9	0.7			0.3	Ancos <i>et al.</i> (1999); Mullen <i>et al.</i> (2002); Wu <i>et al.</i> (2006)
Ginja	6.6						Wang <i>et al.</i> (1997)
Cereja	75.2	0.5			4.5		Gao e Mazza (1994); Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)
Morango	2.0	31.3				0.3	Franke <i>et al.</i> (2004); Garcia-Vigera <i>et al.</i> (1998); Harnly <i>et al.</i> (2006); Wang <i>et al.</i> (2002); Wang e Lin (2003); Wu <i>et al.</i> (2006)

Ci, Cianidina; **Pg**, Pelargonidina; **Mv**, Malvidina; **Pt**, Petunidina; **Pn**, Peonidina; **Df**, Delfinidina.

Tabela 7. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em legumes.

Legume	Ci	Pg	Mv	Pt	Pn	Df	Fontes bibliográficas
	(mg/100g de peso fresco)						
Feijão preto			6.5	9.6		12.0	Franke <i>et al.</i> (2004); Romani <i>et al.</i> (2004); Wu <i>et al.</i> (2006)
Feijão vermelho	1.2	2.4					Wu <i>et al.</i> (2006)
Repolho roxo	72.9					0.1	Franke <i>et al.</i> (2004); Wu <i>et al.</i> (2006)
Beringela						13.8	Franke <i>et al.</i> (2004); Wu <i>et al.</i> (2006)
Alface vermelha	2.8						Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)
Cebola vermelha	6.2				1.2	2.3	Arabi <i>et al.</i> (2004); Franke <i>et al.</i> (2004); Wu <i>et al.</i> (2006); Gennaro <i>et al.</i> (2002); Ferreres <i>et al.</i> (1996)
Rabanete		25.7					Harnly <i>et al.</i> (2006); Wu <i>et al.</i> (2006)

Ci, Cianidina; **Pg**, Pelargonidina; **Mv**, Malvidina; **Pt**, Petunidina; **Pn**, Peonidina; **Df**, Delfinidina.

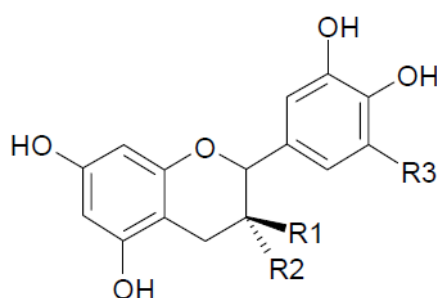
Tabela 8. Conteúdo das principais antocianinas quantificadas em bebidas.

Legume	Ci	Pg	Mv	Pt	Pn	Df	Fontes bibliográficas
	(mg/100g de peso fresco*)						
Vinho tinto	0.4		7.0	0.9	0.8	1.0	Andlauer <i>et al.</i> (2000); Dugo <i>et al.</i> (2004); Frankel <i>et al.</i> (1995); Gambelli e Santorini (2004); Gómez-Plaza <i>et al.</i> (1999); Sanchez-Moreno <i>et al.</i> (2003); Teissedre e Landrault (2000)
Vinho branco			0.1				Frankel <i>et al.</i> (1995); Teissedre e Landrault (2000)
Sumo de groselha preta	16.1					27.8	Iversen (1999)
Sumo de amora silvestre	24.8						Fan-Chiang e Wrolstad (2005)
Sumo de amora concentrado	110.0					201.3	Bermudez-Soto e Tomás-Barberan (2004)
Sumo de arando vermelho	0.4	0.03				0.03	Franke <i>et al.</i> (2004)
Sumo de uva engarrafado	0.6	0.02				0.5	Franke <i>et al.</i> (2004)
Sumo de laranja	3.0						Proteggente <i>et al.</i> (2003)
Vinagre vinho tinto			0.4	0.1	0.1	0.1	Andlauer <i>et al.</i> (2000)

Ci, Cianidina; **Pg**, Pelargonidina; **Mv**, Malvidina; **Pt**, Petunidina; **Pn**, Peonidina; **Df**, Delfinidina. * Valores ajustados pelos respectivos pesos específicos.

Flavanóis

Os flavanóis representam uma complexa família composta pelas diferentes formas isoméricas da catequina e seus polímeros. Na Figura 13 está representada a estrutura química dos principais flavanóis presentes nos alimentos.



Flavanóis	R ₁	R ₂	R ₃
(+)-catequina	OH	H	H
(-)-epicatequina	H	OH	H
(+)-galhocatequina	OH	H	OH
(-)-epigalhocatequina	H	OH	OH

Figura 13. Estrutura dos flavan-3-óis mais abundantes nos alimentos.

(Adaptado de Ribereau-Gayon, 2001).

Os flavanóis poliméricos recebem o nome de taninos condensados e correspondem a cadeias de diferente número de unidades dos diferentes flavanóis monómeros mediante ligações C₄-C₈ ou C₄-C₆. Estas moléculas podem apresentar um número bastante elevado de unidades. Os polímeros de flavanól ou taninos condensados denominam-se proantocianidinas ou procianidinas dado que em meio ácido, por hidrólise e a quente libertam antocianinas. Caso o polímero seja formado por unidades de galhocatequina e/ou epigalhocatequina, obtém-se por hidrólise ácida a delphinidina e portanto designam-se por prodelfinidinas.

Os taninos condensados, denominados proantocianidinas, são oligómeros e polímeros de flavan-3-ol (catequina) e/ou flavan-3,4-diól (leucocianidina). As proantocianidinas apresentam uma rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituição entre unidades flavânicas, diversidade de posições entre as suas ligações e estereoquímica dos seus compostos (Monteiro *et al.*, 2005).

Na Figura 14, são apresentadas as estruturas químicas dos flavan-3-óis e de alguns polímeros das proantocianidinas.

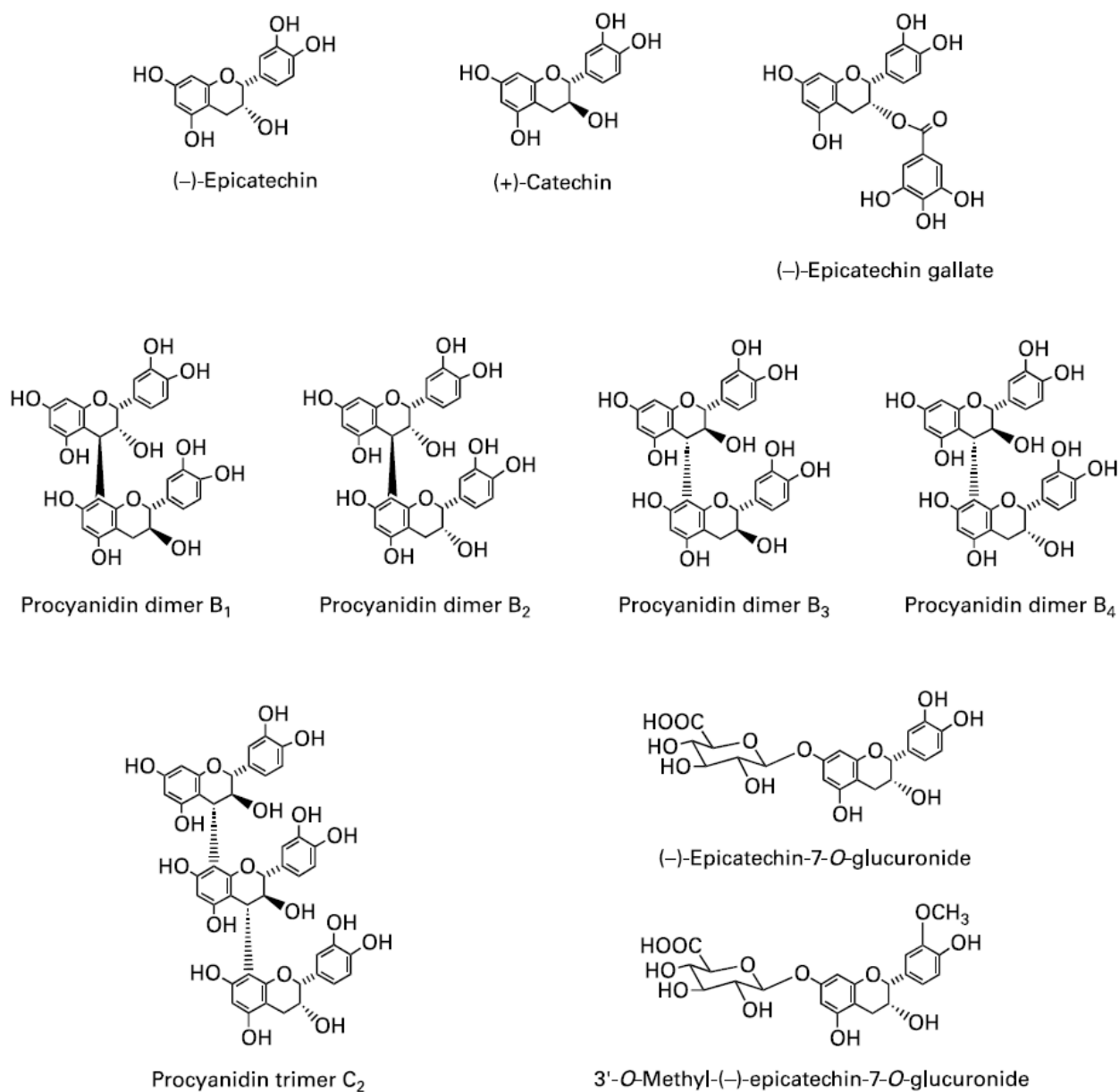


Figura 14. Estruturas químicas dos flavan-3-óis e de alguns polímeros das proantocianidinas.

(Adaptado de Catherine *et al.*, 2005).

As proantocianidinas são responsáveis pelo sabor amargo e pela adstringência dos frutos e de algumas bebidas. Nos vinhos, transmitem também uma sensação de estrutura e de corpo, influenciando a capacidade de envelhecimento dos mesmos, bem como a manutenção da cor ao longo do processo de envelhecimento (Zamora-Marin, 2003).

Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico e ácido elágico glicosilado (Figura 15), onde os grupos hidroxilos do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Na maior parte dos casos, estes encontram-se na natureza sobre a forma de ésteres múltiplos com açúcares, nomeadamente a D-glucose formando estruturas complexas como é o caso da 1,2,3,4,6-penta-O-galoil- β -D-glucose (Figura 15). Esta molécula é a base da biossíntese dos taninos hidrolisáveis mais complexos como o ácido tânico encontrado em partes não comestíveis das plantas (Haslam, 1998). Estes compostos, apesar de estarem presentes nas plantas, essencialmente nas partes não comestíveis como ramos e raízes, podem ser introduzidos na dieta humana através de operações tecnológicas, como por exemplo o uso da madeira de carvalho para o envelhecimento e conservação em barrica dos vinhos e dos vinagres.

Os taninos elágicos são mais comuns que os gálicos e é provável que o sistema bifenílico do ácido hexahidroxidifenílico seja resultante da ligação oxidativa entre dois ácidos gálicos (Porter, 1989; King e Young, 1999; Burns *et al.*, 2000).

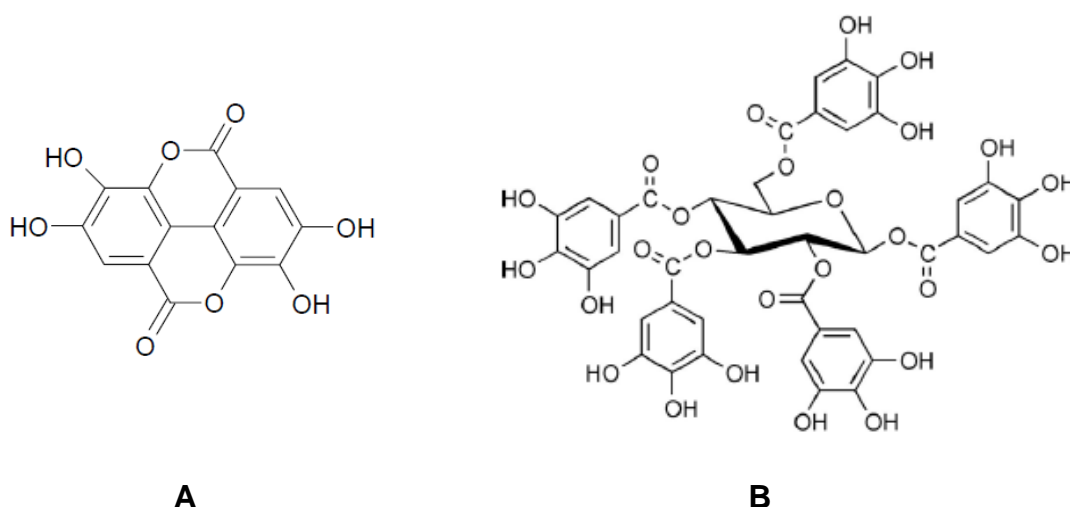


Figura 15. Estrutura química de ácido elágico (A) e do pentagaloiil-glucose (B).

(Adaptado de Ribereau-Gayon, 2001)

Na Tabela 9, são apresentados os teores em proantocianidinas quantificadas em alguns alimentos, em função do seu grau de polimerização.

Tabela 9. Teores em proantocianidinas em função do grau de polimerização quantificados em alguns produtos alimentares.

Alimento	Grau de polimerização					
	1	2	3	4-6	7-10	>10
Mirtilo	4.0±1.5	7.2±1.8	5.4±1.2	19.6±3.4	14.5±2.0	129.0±47.3
Groselha	0.9±0.2	2.9±0.4	3.0±0.3	10.6±1.7	9.9±1.4	122.4±28.0
Arando	7.3±1.5	25.9±6.1	18.9±3.4	70.3±13.1	62.9±14.7	233.5±49.1
Morango	4.2±0.7	6.5±1.3	6.5±1.2	28.1±6.5	23.9±3.5	75.8±13.4
Maçã ^a	9.6±0.9	13.8±0.6	9.3±0.4	30.2±1.2	25.4±1.2	37.6±2.6
Sumo de Maçã ^b	1.0±0.0	2.0±0.0	1.0±0.0	4.0±0.0	1.0±0.0	ND
Pêra	2.7±1.5	2.8±1.3	2.3±0.9	6.5±1.9	4.6±1.0	13.1±11.3
Ameixa	11.4±3.4	31.5±7.4	23.9±5.1	58.0±12.5	33.8±11.9	57.3±24.4
Pêssego	4.7±1.4	7.0±2.2	5.0±1.4	17.7±5.5	10.9±3.7	22.0±7.7
Abacate	1.0±0.8	1.5±0.8	1.4±0.4	3.2±0.8	0.4±0.7	ND
Sorgo	27.8±1.2	78.2±3.4	99.2±7.7	585.5±50	734.3±69.3	2440.4±271
Cevada	11.0±0.3	21.4±1.1	14.6±1.0	27.2±0.6	ND	ND
Avelã	9.8±1.6	12.5±3.8	13.6±3.9	67.7±20.3	74.6±21.9	322.4±102.5
Pistacho	10.9±4.3	13.3±1.8	10.5±1.2	42.2±5.2	37.9±4.9	122.5±37.1
Amêndoa	7.8±0.9	9.5±1.6	8.8±1.7	40.0±8.5	37.7±8.4	80.3±28.1
Noz	6.9±3.4	5.6±0.9	7.2±1.2	22.1±3.3	5.4±0.8	20.0±9.3
Amendoim	5.1±1.0	4.1±0.7	3.7±0.5	2.8±0.2	ND	ND
Manteiga de Amendoim	2.0±0.9	3.0±0.7	8.1±3.5	ND	ND	ND
Chocolate Preto	31.4±0.2	31.2±0.9	21.1±0.8	55.5±3.5	38.5±3.0	68.2±8.8
Chocolate de Leite	26.9±3.0	26.2±2.5	19.3±2.6	51.4±9.8	35.3±7.2	32.8±9.2
Cerveja	4.0±0.0	11.0±1.0	3.0±0.0	4.0±0.0	ND	ND
Vinho Tinto	20.0±1.0	40.0±1.0	27.0±1.0	67.0±2.0	50.0±1.0	110.0±2.0
Sumo de Uva	18.0±0.0	34.0±0.0	19.0±0.0	80.0±0.0	69.0±0.0	303.0±2.0
Grainha de Uva (seca)	660.3±8.3	417.3±4.8	290.2±4.5	664.0±8.2	400.3±31.3	1100.1±86.3

Valores expressos em mg/100 g de peso fresco de alimentos ou mg/L bebidas; ^a Maçã *Red Delicious* com casca; ^b Sumo de maçã *Red Delicious* sem casca; ND, não determinado.

(Adaptado de Gu *et al.*, 2004)

2.3. A actividade antioxidante

Compostos com actividade antioxidante são segundo Sies e Stahl (1995), substâncias presentes em baixas concentrações, quando comparados com o estrato oxidável e que atrasam ou inibem a oxidação desse substrato de uma forma eficaz.

Os antioxidantes são bastante utilizados nas indústrias alimentares para evitarem a deterioração dos produtos e manter as suas características nutricionais. São também de grande interesse para os bioquímicos e profissionais de saúde, pois podem ajudar na protecção do organismo contra os danos causados pelas espécies reactivas de oxigénio (ROS's) e as doenças degenerativas. Estes, são ainda conhecidos pela sua acção em diferentes níveis do processo de oxidação de moléculas de lípidos, diminuindo a concentração de oxigénio, interceptando o singuleto de oxigénio; evitando a fase de iniciação da oxidação pela captura de radicais hidroxil; quelando iões metálicos; decompondo produtos primários em compostos que não são radicais (Shahidi, 1997).

Uma das formas dos alimentos sofrerem deterioração, resulta da oxidação dos óleos e das gorduras que ocorrem durante o processamento, armazenamento, distribuição e confecção. Quando os alimentos entram em contacto com o ar, inicia-se a reacção de oxidação que leva à produção de substâncias com sabores e odores indesejáveis, como seja o odor a ranço. Por outro lado ocorre ainda a descoloração e a produção de vários produtos de degradação tais como epóxidos e hidroperóxidos, além de outras alterações que irão afectar a qualidade nutricional, a integridade e a segurança dos alimentos pela formação de compostos potencialmente tóxicos (Kubow, 1993).

Para prevenir ou retardar a deterioração oxidativa dos alimentos, várias acções têm sido tomadas, como seja a utilização de antioxidantes em óleos, gorduras e alimentos processados. Entre os antioxidantes naturais, mais utilizados na indústria alimentar, destacam-se os tocoferóis e o ácido ascórbico. Dos antioxidantes sintéticos mais utilizados pode citar-se o caso, do butil-hidroxi-anisol (BHA), do butil-hidroxi-tolueno (BHT) e do butil-hidroquinona-terceária (TBHQ) (Nakatani, 1996; Rice-Evans *et al.*, 1996; Shahidi e Naczk, 2003).

Na Figura 16, encontram-se representadas as estruturas químicas de alguns dos principais antioxidantes utilizados na indústria alimentar.

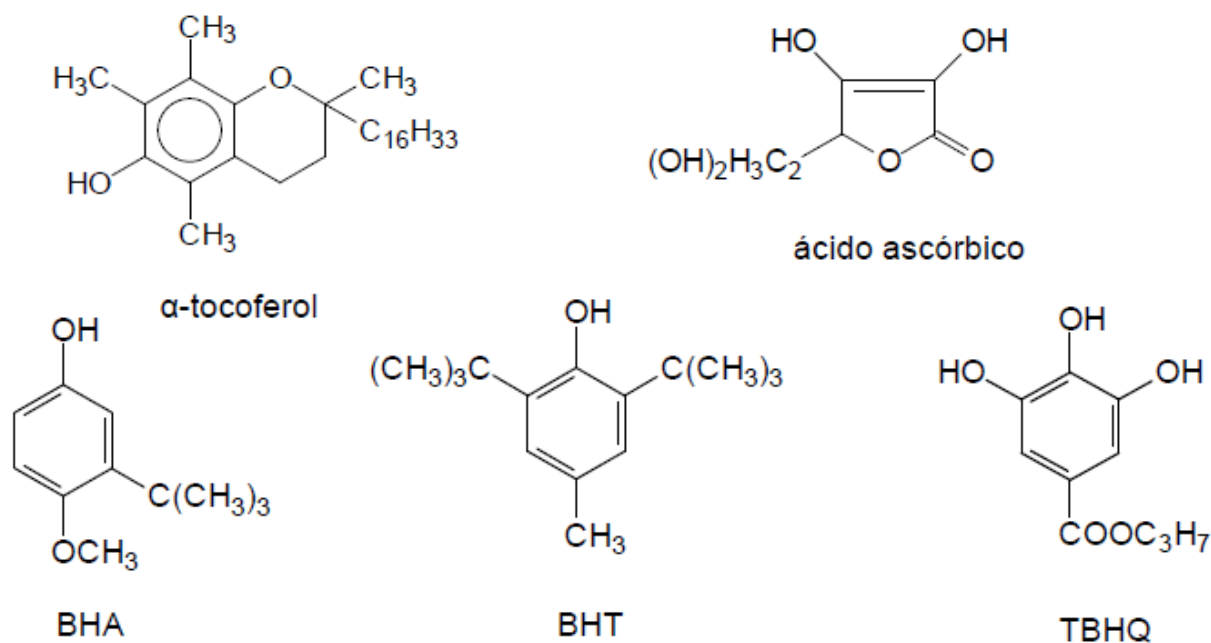


Figura 16. Estrutura química de alguns antioxidantes naturais e sintéticos mais utilizados na indústria alimentar.

(Adaptado de Shahidi e Naczk, 2003)

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à acção dos radicais livres no organismo. Os radicais livres são moléculas muito reactivas devido ao electrão isolado, livre para se ligar a qualquer outro electrão e por isso causam danos nos tecidos pela reacção com os lípidos das membranas celulares, nucleótidos do DNA (ácido desoxirribonucleico) e ligações sulfidril (-SH) em proteínas (Machlin e Bendich, 1987). Os antioxidantes são capazes de neutralizar esses radicais livres, contribuindo para a prevenção de doenças como o cancro, as cataratas, o reumatismo e algumas das doenças que estão relacionadas com o cérebro (Shahidi e Naczk, 2003; García-Alonso *et al.*, 2004). A superprodução de ROS (Espécies Reactivas de Oxigénio) tem sido inclusivamente relacionada com o processo de envelhecimento (Lachance *et al.*, 2001).

Na Figura 17, encontram-se representadas algumas das doenças e alterações decorrentes da acção das espécies reactivas de oxigénio (ROS).

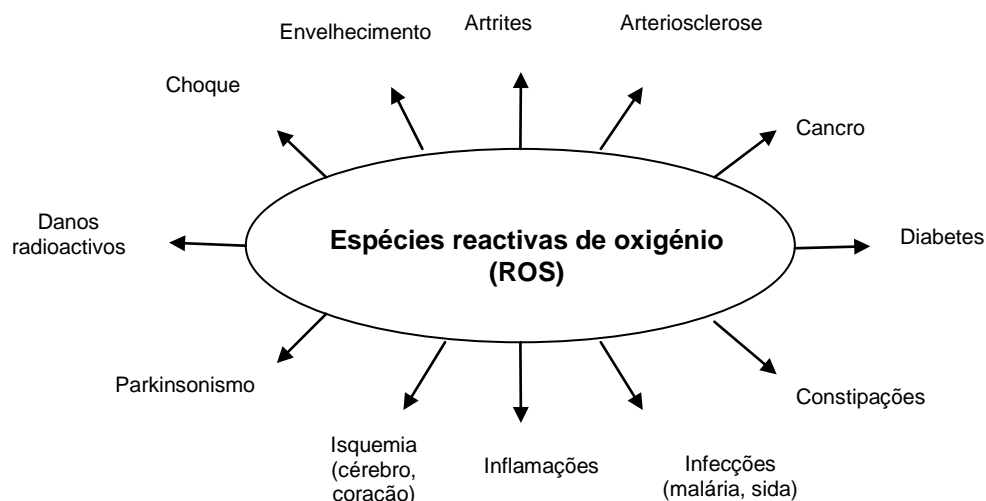


Figura 17. Algumas doenças e alterações provocadas pelas espécies reactivas de oxigénio.

(Adaptado de Shahidi e Naczki, 2003)

Os antioxidantes sintéticos são muito eficazes e estáveis, no entanto a sua utilização como aditivos alimentares é muito restrita devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis no sistema enzimático do corpo humano. Assim, existe um grande interesse em encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e provenientes de fontes naturais (Nakatani, 1996).

Na generalidade dos alimentos naturais não processados, os antioxidantes estão presentes naturalmente, conferindo-lhes protecção contra o ataque oxidativo. Dos antioxidantes presentes nos vegetais, os mais activos são os compostos fenólicos. As propriedades benéficas destes compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de captar os radicais livres (Decker, 1997).

Os antioxidantes naturais incluem os tocoferóis, a vitamina C (ácido ascórbico), os carotenóides e os compostos fenólicos. Os compostos fenólicos presentes nas plantas, actuam como factor de protecção, protegendo-as contra as agressões externas (de origem microbiológica) dos seus tecidos, acção de subprodutos provenientes da fotossíntese e também contra a acção de animais herbívoros. Muitos desses compostos possuem semelhanças quanto à sua estrutura molecular básica, possuindo pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxilo ligado. Incluem

principalmente ácidos fenólicos e flavonóides que conjuntamente, representam os antioxidantes que agem por diversos mecanismos de forma a conferir protecção contra o ataque dos radicais livres formados (Shahidi, 1997).

Nos processos biológicos, existe a formação de uma enorme variedade de radicais livres (Erenel *et al.*, 1993; Rice-Evans e Burdon, 1993), como se pode verificar pela análise da Tabela 10.

Tabela 10. Exemplos de radicais livres formados nos processos biológicos.

Radicais de oxigénio ou espécies reactivas de oxigénio	Complexos de Metais de Transição	Radicais de Carbono	Radicais de Enxofre	Radicais de Nitrogénio
lão superóxido ($O_2^{\cdot-}$)				
Hidroxilo (OH^{\cdot})	Fe^{3+} / Fe^{2+}			Fenildiazina ($C_6H_5N = N^{\cdot}$)
Peróxido de hidrogénio (H_2O_2)		Triclorometil (CCl_3^{\cdot})	Tiol (RS^{\cdot})	
Alcoxilo (RO^{\cdot})				
Peroxilo (ROO^{\cdot})	Cu^{2+} / Cu^+			Óxido nítrico (NO^{\cdot})
Peridroxilo (HOO^{\cdot})				
Oxigénio singoleto (1O_2)				

(Adaptado de Erenel *et al.*, 1993; Rice-Evans e Burdon, 1993)

Na Tabela 11, estão apresentados, a título de exemplo, valores da actividade antioxidante de alguns grupos de compostos fenólicos, de vitaminas e ainda as respectivas fontes alimentares.

Tabela 11. Valores da actividade antioxidante de alguns compostos fenólicos flavonóides, vitaminas e as respectivas fontes alimentares.

Composto antioxidante	Fonte alimentar	Actividade antioxidante (mM)*
Vitaminas		
Ácido ascórbico (Vita. C)	Frutos e vegetais	1.0 ± 0.02
Alfatocoferol (Vita. E)	Grãos, nozes e óleos	1.0 ± 0.03
Flavonóides		
Antocianinas		
Oenina	Uvas tintas e vinhos tintos	1.8 ± 0.02
Cianidina	Uvas, framboesas e morangos	4.4 ± 0.12
Delfinidina	Beringela (película)	4.4 ± 0.11
Flavon-3-óis		
Quercitina	Cebola, maçã (casca), bagas, uvas tintas, chá e brócolos	4.7 ± 1.0
Kaempferol	Endívias, alho-porro, brócolos, sumo de uvas e chá	1.3 ± 0.08
Flavonas		
Rutina	Cebola, maçã (casca), bagas, uvas tintas, chá e brócolos	2.4 ± 0.12
Luteolina	Limão, azeitona, aipo e pimenta vermelha	2.1 ± 0.05
Crisina	Frutos (casca)	1.4 ± 0.07
Apigenina	Aipo e salsa	1.5 ± 0.08
Flavan-3-óis		
Epicatequina	Uvas tintas e vinho tinto	2.4 ± 0.02
Epigallocatequina	Chás	3.8 ± 0.06
Epigallocatequina galato	Chás	4.8 ± 0.06
Epicatequina galato	Chás	4.9 ± 0.02
Flavanonois		
Taxifolina	Citrinos	1.9 ± 0.03
Narirutina	Citrinos	0.8 ± 0.50
Naringenina	Citrinos	1.5 ± 0.05
Hesperidina	Sumo laranja	1.0 ± 0.03
Hesperetina	Sumo laranja	1.4 ± 0.08
Hidroxicinematos		
Ácido cafeíco	Uvas brancas, azeitonas, repolho e espargos	1.3 ± 0.01
Ácido clorogénico	Maçã, pêra, cereja, tomate e pêssego	1.3 ± 0.02
Ácido ferulico	Grãos, tomate, repolho e espargos	1.9 ± 0.02
Ácido <i>p</i> -cumárico	Uvas brancas, tomate, repolho e espargos	2.2 ± 0.06

* Valores de actividade antioxidante expressos em equivalentes de Trolox (TEAC mM), obtidos pelo método ABTS.

(adaptado de Rice-Evans *et al.*, 1997)

3.OBJECTIVOS

Este trabalho teve como objectivo geral proceder a uma avaliação das características físico-químicas, da composição fenólica, da capacidade antioxidante e ainda avaliar sensorialmente um vasto número de vinagres existentes no mercado português, de forma a efectuar um aprofundamento do conhecimento deste tipo de produto.

Assim, de forma a cumprir este objectivo geral, procedeu-se à realização de um conjunto de determinações de carácter geral, de uma caracterização fenólica e de uma avaliação da capacidade antioxidante, de onde se salientam:

1. A caracterização físico-química geral dos diferentes vinagres objecto de estudo, através da determinação da acidez total, acidez volátil, acidez fixa, pH, extracto seco e teor em cinzas;
2. Avaliação da composição fenólica, através do estudo dos principais componentes da cor (intensidade, tonalidade da cor e ainda das diferentes coordenadas cromáticas), da quantificação de alguns dos principais compostos fenólicos (teor em fenóis totais, antocianinas totais, e individuais, de alguns ácidos fenólicos e ainda de valores totais em fenóis flavonóides e não flavonóides) e ainda da avaliação de algumas das fracções fenólicas em função do seu grau de polimerização/natureza;
3. Estudo da capacidade antioxidante existente nos vinagres estudados e sua relação com a composição fenólica;
4. Avaliação sensorial, ao nível discriminativo e descritivo, de alguns dos vinagres comerciais objecto de estudo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostras de vinagres estudadas

Para a realização deste trabalho foram estudadas 21 amostras diferentes de vinagres comerciais elaborados a partir de diferentes matérias-primas e que foram adquiridos no mercado nacional. Na Tabela 12, são apresentados os vinagres estudados, nomeadamente ao nível da sua designação comercial, da matéria-prima utilizada para a sua elaboração e outras indicações relevantes.

Tabela 12. Vinagres estudados, designação comercial, matéria-prima usada e respectivos códigos de identificação utilizados.

Designação comercial	Matéria-prima	Outras indicações	Código*
Herdade do Esporão	Vinho Tinto	Estagiado em barricas de carvalho Americano	VT1
Auchan	Vinho Tinto	Estagiado em barricas de carvalho Americano	VT2
Cristal	Vinho Tinto	-	VT3
Galo	Vinho Tinto	Estagiado em barricas de carvalho	VT4
Chatel	Vinho Tinto	-	VT5
Cigalau	Vinho Tinto	-	VT6
Cigalau	Vinho Tinto	Envelhecido	VT7
Monari Federzoni	Vinho Tinto	Balsâmico de Modena tradicional	VM1
Blaze	Vinho Tinto	Balsâmico de Modena biológico	VM2
Peninsular	Vinho Branco	-	VB1
Peninsular	Champanhe	-	VB2
Cigalau	Vinho Branco	Com estragão	VB3
Mizkan	Arroz	-	VC1
Cristal	Sidra	-	VF1
Peninsular	Frutas	Branco	VF2
Salutem	Sidra	Agricultura biológica	VF3
Cristal	Sidra	-	VF4
Peninsular	Figo	-	VF5
Chatel	Maracujá	-	VF6
Chatel	Goiaba	-	VF7
Chatel	Tangerina	-	VF8

* Corresponde ao código atribuído no âmbito do trabalho e usado na apresentação e discussão dos resultados.

Os vinagres foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do ramo alimentar, localizados na zona centro do país.

Foram seleccionados vinagres, aleatoriamente, de forma a obter amostras representativas de todos os tipos de vinagres disponíveis (nomeadamente tendo em conta a matéria-prima utilizada) no mercado. De salientar que foram seleccionados

sete vinagres diferentes de vinho tinto, pelo facto de serem tradicionalmente os vinagres mais consumidos e de serem aqueles onde existe uma maior diversidade de produtores/marcas.

Após a abertura das embalagens dos vinagres, os mesmos foram filtrados com papel de filtro com diâmetro de poros de 10-13 μm , de modo a remover eventuais partículas que pudessem encontrar-se em suspensão, de forma a facilitar as determinações analíticas a realizar.

Os vinagres filtrados foram acondicionados em vários porta-amostras mais pequenos, sendo depois conservados, a baixa temperatura e ao abrigo da luz, até serem efectuadas as várias determinações.

4.2. Caracterização físico-química geral

Na Tabela 13, são apresentadas as várias determinações realizadas no âmbito da caracterização físico-química geral dos vinagres estudados, assim como as referências às respectivas metodologias usadas

Tabela 13. Determinações realizadas no âmbito da caracterização físico-química geral dos vinagres estudados.

Parâmetro	Metodologia	Referência
Extracto seco total	Gravimetria	A. O. A. C. (2002)
Cinzas	Gravimetria	O. I. V. (2006)
Acidez total	Titulimetria	A. O. A. C. (2002)
Acidez fixa	Titulimetria	A. O. A. C. (2002)
Acidez volátil	Titulimetria	A. O. A. C. (2002)
pH	Potenciometria	O. I. V. (2006)

4.3. Determinação da composição fenólica

A cor de um vinagre é uma das características visuais mais importantes, pois fornece uma quantidade considerável de informações relevantes. Trata-se de uma sensação perceptível visualmente a partir da refacção ou da reflexão da luz sobre a superfície dos objectos.

O vinagre absorve uma parte das radiações de luz que incidem e reflecte a outra, parte desta atinge os olhos do observador, fazendo-o experimentar a sensação de cor. Por exemplo, a sensação de muito escuro do vinagre de vinho tinto é devido ao facto da radiação incidente ser muito absorvida. Sendo-lhes portanto, a cor, conferida principalmente pelos compostos fenólicos.

4.3.1. Caracterização geral da composição fenólica

De modo a realizar uma avaliação geral da fracção fenólica dos vários vinagres estudados, procedeu-se a um conjunto de determinações, as quais se encontram resumidamente apresentadas assim como a metodologia utilizada na Tabela 14.

Em todas as determinações fenólicas efectuadas, foi utilizado um espectrofotómetro Shimadzu (modelo UVmini-1240) (Figura 18). A maioria das determinações foi efectuada em triplicado.

Tabela 14. Determinações referentes à caracterização fenólica geral dos vinagres estudados.

Parâmetro	Metodologia	Referência
Intensidade da cor	Abs. 420, 520, 620 nm	Sudraud (1958) Glories (1984)
Tonalidade da cor	Abs 420 / Abs 520	Sudraud (1958) Glories (1984)
Coordenadas cromáticas	L* (luminosidade) a* (verde/vermelho) b* (azul/amarelo) C* (Chroma)	Pérez-Magariño e González-SanJose (2002) C. I. E. (1986)
Compostos fenólicos totais	Folin-Ciocalteau e IPT	Singleton e Rossi (1965) Singleton <i>et al.</i> , (1999) Ribéreau-Gayon, (1970)
Fenóis flavonóides	Espectrofotometria	Meda (2005)
Fenóis não flavonóides	Espectrofotometria	Meda (2005)
Antocianinas totais	Espectrofotometria	O. I. V. (2006)



Figura 18. Espectrofotómetro Shimadzu utilizado para as determinações fenólicas efectuadas aos vinagres.

Para algumas das determinações fenólicas realizadas, foi necessário estabelecer-se algumas rectas de calibração adaptadas às características dos vinagres estudados. Assim, na Figura 19, são apresentadas as rectas padrão elaboradas, referentes à determinação do teor em compostos fenólicos totais e do teor em fenóis flavonóides, tendo sido utilizado o ácido gálico como padrão.

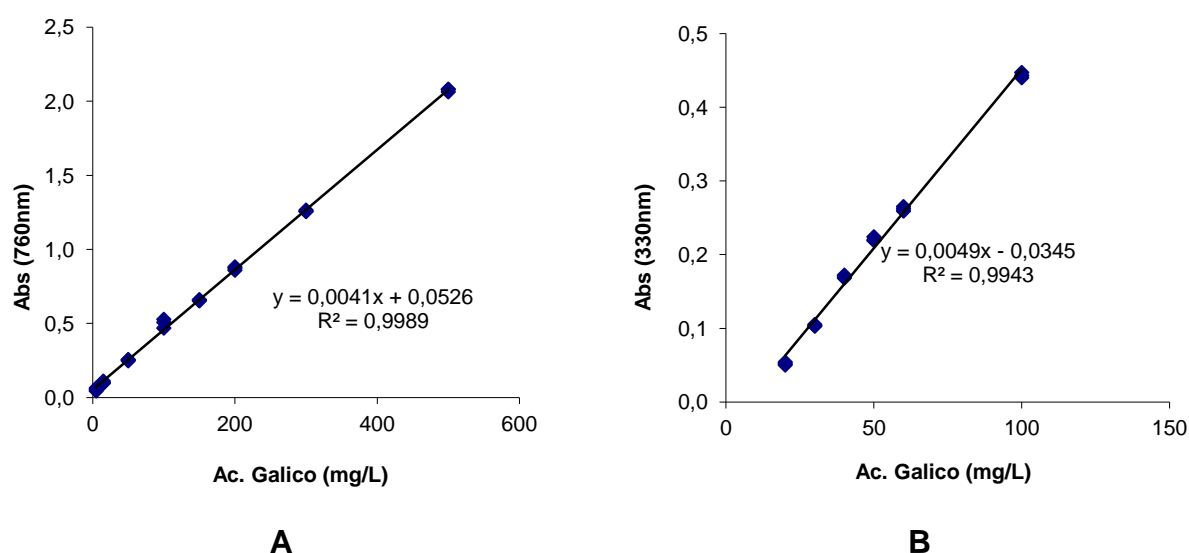


Figura 19. Rectas de calibração obtidas com padrões de ácido gálico, utilizadas na determinação do teor em fenóis totais (**A**) e na determinação do teor em fenóis flavonóides (**B**).

4.3.2. Fraccionamento dos compostos fenólicos em função da sua estrutura química

O processo de fraccionamento dos polifenóis dos vinagres foi efectuado por adaptação da metodologia descrita por Sun *et al.* (2006). A Figura 20, descreve de forma esquemática o procedimento usado.

O fraccionamento da composição fenólica em função da sua estrutura química foi realizado só nos vinagres de vinho tinto, em virtude de serem estes os que apresentaram uma composição fenólica mais elevada.

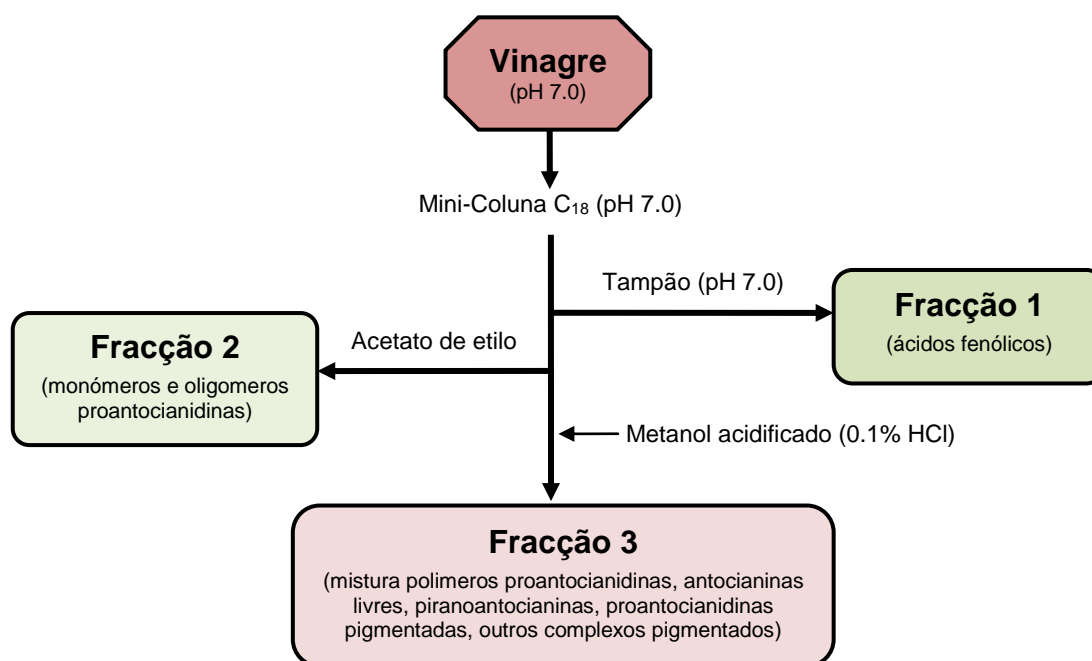


Figura 20. Diagrama de fraccionamento, dos polifenóis, efectuado nos vinagres de vinho tinto estudados.

(Adaptado de Sun *et al.*, 2006)

Para o processo de fraccionamento dos polifenóis dos vinagres foram utilizadas mini-colunas Discovery DSC-18, de 60 ml de capacidade e com 10 gramas de material de preenchimento C₁₈ (Figura 21). As colunas foram activadas com 60 ml de metanol e em seguida lavadas com 120 ml de água destilada, seguindo-se um pré-condicionamento com 60 ml de solução tampão comercial de fosfato de pH 7.0, antes da sua utilização.

Como a Figura 20 apresenta, 50 ml de vinagre tinto foram neutralizados com solução 5M de NaOH até pH ≈ 7.0 (onde a cor do vinagres mudou de vermelho para azul), seguido pela adição de 5ml de tampão fosfato comercial de pH 7.0, para ajustar o pH do vinagre a 7.0. As soluções de vinagre, com pH ajustado, foram cuidadosamente

carregadas nas colunas DSC-18 pré-condicionadas, com um fluxo de menos de 2 ml/min. O fraccionamento começou com 50 ml de vinagre neutralizados e eluídos com tampão fosfato pH 7.0 (08/01, v / v) para eluir os ácidos fenólicos (Fracção 1). A coluna foi lavada com 100 ml de água destilada e seca sob vácuo durante alguns segundos. A eluição com 100 ml de acetato de etilo permitiu isolar a fracção constituída por monómeros e oligómeros das proantocianidinas (Fracção 2).

Os compostos fenólicos fixados na coluna, constituídos por antocianinas e proantocianidinas poliméricas e outros complexos pigmentados, foram eluídos com 100 ml de metanol acidificado com 0.1% de HCl (Fracção 3). A fracção 2, após evaporada até a secura foi recuperada com metanol/água (20/80 v/v). Todas as fracções após sua concentração por evaporação foram analisadas de modo a avaliar a sua actividade antioxidante, assim como a sua composição fenólica.

No caso da fracção 1, esta após concentração por evaporação foi filtrada e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para se efectuar a separação e identificação dos diferentes ácidos fenólicos presentes.



Figura 21. Mini-coluna Discovery DSC-18 utilizada para o fraccionamento dos polifenóis dos vinagres.

4.3.3. Determinação das antocianinas por HPLC

Para a determinação das antocianinas individuais dos vinagres de vinho tinto estudados, efectuou-se uma injeção directa no HPLC com previa concentração e filtração das amostras, segundo a metodologia descrita por Dallas e Laureano (1994). Para tal, utilizou-se um equipamento de cromatografia Dionex Ultimate 3000 Chromatographic System (Sunnyvale, California, USA) (Figura 23) equipado com uma bomba quaternária modelo GPL-3400 A, um injektor automático ACC-3000, um compartimento de colunas com termóstato (regulável até 35 °C) e um detector UV/Vis modelo MWD-300. Foi utilizada uma coluna (250 x 4.6 mm, tamanho das partículas 5 µm) C₁₈ Acclaim® 120 (Dionex, Sunnyvale, Califórnia, USA), protegida por uma pré-coluna do mesmo material.

Os solventes utilizados foram: (A) ácido fórmico a 40%, (B) acetonitrilo puro e (C) água bidestilada, ambos de qualidade analítica para uso cromatográfico. A eluição decorreu com um fluxo de 0.7 mL/min. O gradiente utilizado na análise cromatográfica é apresentado na Tabela 15.

O volume de injeção foi de 20 µL de amostra de vinagre previamente filtrada com filtro de 0.45 µm de diâmetro de poro e concentrada 25 vezes, sendo a análise realizada a 35 °C. A detecção foi efectuada a 520 nm. O tratamento dos dados foi efectuado recorrendo-se ao software Chromeleon (versão 6.8) (Sunnyvale, Califórnia, EUA).

Tabela 15. Condições cromatográficas utilizadas na análise das antocianinas individuais dos vinagres de vinho tinto por HPLC.

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Solvente C (%)
0	25.0	6.0	69.0
15	25.0	6.0	69.0
85	25.0	25.5	49.5
105	25.0	25.5	49.5
110	25.0	6.0	69.0
125	25.0	6.0	69.0

As antocianinas foram quantificadas recorrendo-se a uma curva de calibração previamente obtida com soluções padrão de malvidina-3-glucósido (Figura 22). Os picos cromatográficos das antocianinas individuais foram identificados de acordo com os tempos de retenção apresentados por Dallas e Laureano (1994).

Todas as injeções foram efectuadas em triplicado para cada vinagre analisado.

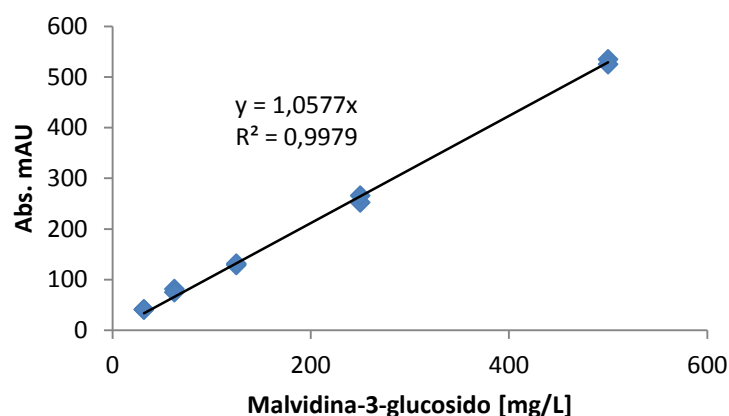


Figura 22. Recta de calibração obtida a 520 nm com padrões de malvidina-3-glucósido, utilizada na quantificação das antocianinas individuais, por HPLC.

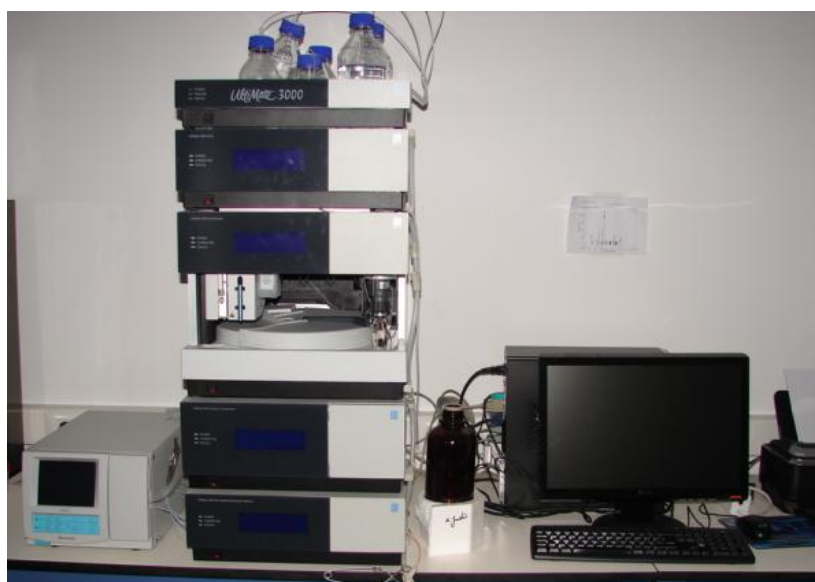


Figura 23. Equipamento de HPLC utilizado.

4.3.4. Determinação dos ácidos fenólicos por HPLC

Para a determinação dos ácidos fenólicos dos vinagres de vinho tinto, procedeu-se à análise da fracção dos vinagres (Fracção 1) contendo os ácidos fenólicos, anteriormente obtida pelo fraccionamento dos compostos fenólicos de acordo com a metodologia descrita no item 4.3.2 (fraccionamento dos compostos fenólicos).

O equipamento cromatográfico utilizado para a determinação dos ácidos fenólicos foi o mesmo anteriormente descrito para a quantificação das antocianinas individuais, assim como a coluna utilizada.

A metodologia de análise utilizada foi a que se encontra descrita por Dinis *et al.* (2009). Assim, a fase móvel A foi uma solução aquosa de ácido fórmico a 5% enquanto que a fase móvel B foi de metanol, ambos de qualidade analítica para uso cromatográfico. A eluição decorreu com um fluxo de 1.0 mL/min. Na Tabela 16, são apresentadas as condições cromatográficas utilizadas na quantificação dos diferentes ácidos fenólicos. A detecção foi feita a 280 nm. O volume de amostra injectado (concentrada 5 vezes) foi de 40 μ L tendo esta sido previamente filtrada com filtro de 0.45 μ m de diâmetro de poro. A análise foi realizada a 35 °C. Cada um dos ácidos fenólicos individuais, foi identificado tendo como base a ordem de eluição, os tempos de retenção e respectivos espectros de ultra violeta-visível, comparativamente a padrões standard puros, previamente injectados sob as mesmas condições.

Tabela 16. Condições cromatográficas utilizadas na análise dos ácidos fenólicos dos vinagres de vinho tinto por HPLC.

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0.0	95.0	5.0
5.0	95.0	5.0
65.0	40.0	60.0
70.0	40.0	60.0
75.0	95.0	5.0

Os ácidos fenólicos individuais foram quantificados utilizando-se a recta de calibração elaborada para o ácido cafeíco (Figura 24) tendo pois os resultados sido expressos em equivalentes de ácido cafeíco.

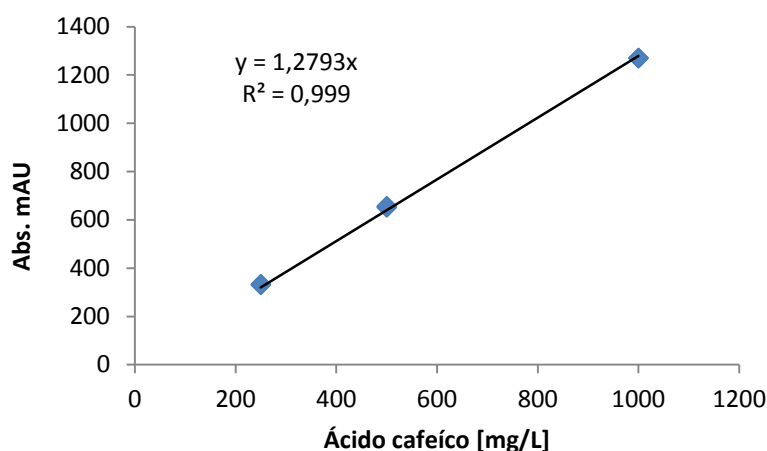


Figura 24. Recta de calibração obtida a 280 nm com padrões de ácido cafeíco, utilizada na análise dos ácidos fenólicos individuais por HPLC.

Os picos cromatográficos relativos a cada um dos ácidos fenólicos estudados, foram identificados tendo em conta os tempos de retenção determinados através da injeção dos respectivos padrões de ácidos fenólicos, sob as mesmas condições das amostras estudadas.

4.4. Determinação da actividade antioxidante total

A determinação da actividade antioxidante total dos vinagres foi efectuada utilizando dois métodos: método do DPPH[•] de acordo com o descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) e o método do ABTS^{•+} de acordo com o descrito por Re *et al.* (1999). Todas as determinações foram feitas em triplicado.

4.4.1. Método do DPPH[•]

Foi utilizado o método do DPPH[•] descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), com adaptações, sendo este método baseado na captura do radical DPPH[•] (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por substâncias antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm. O DPPH[•] é um radical livre que pode ser obtido directamente por dissolução do reagente em meio orgânico.

Na presença de uma substância capaz de lhe doar um átomo de hidrogénio, o DPPH[•] transforma-se na sua forma reduzida (DPPH) perdendo a cor violeta da solução original.

Foi elaborada uma recta de calibração (Figura 25) utilizando como padrão, soluções de Trolox, com concentrações de 0.08 a 0.40 mM.

A percentagem de inibição das amostras foi determinada pela utilização da seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Na qual:

A_0 = Absorvância do tubo de controlo (Branco)

A_t = Absorvância do tubo com amostra decorrido determinado período de tempo (t=30 minutos).

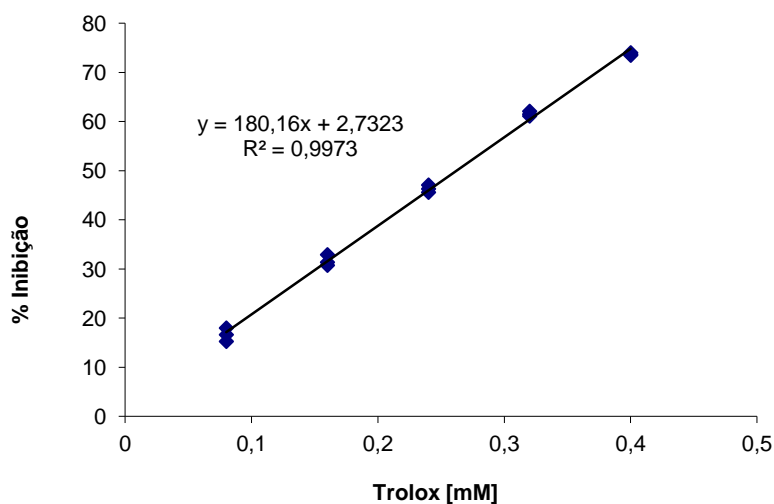


Figura 25. Recta de calibração elaborada com padrões de Trolox usada na determinação da actividade antioxidante pelo método DPPH.

4.4.2. Método do ABTS^{•+}

Foi utilizado o método ABTS descrito por Re *et al.* (1999), com algumas adaptações. O método do ABTS^{•+} (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) baseia-se na geração de um catião radicalar (ABTS^{•+}) através da reacção entre o ABTS e o persulfato de potássio originando uma solução azul-esverdeada, com capacidade de absorver a 734 nm. A adição de substâncias com poder antioxidante à solução com o ABTS^{•+} provoca uma alteração estrutural que se traduz na descoloração e perda da capacidade de absorver nesse comprimento de onda.

Foi elaborada uma recta de calibração, apresentada na Figura 26, utilizando como padrão, soluções de Trolox, com concentrações de 0.02 a 0.40 mM.

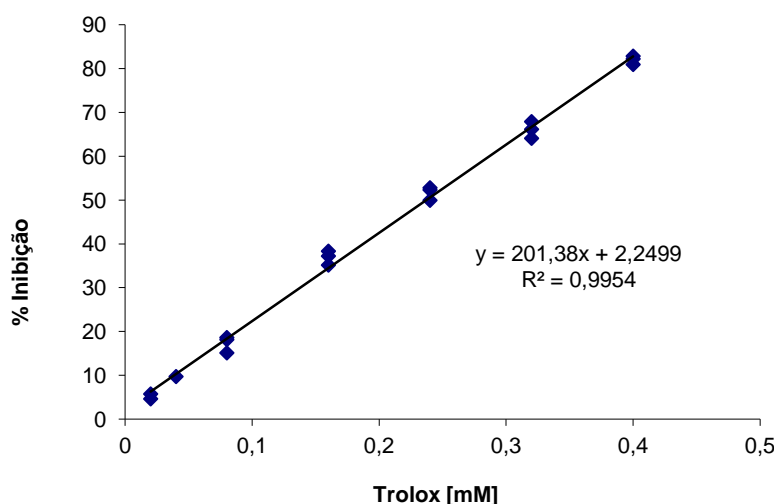


Figura 26. Recta de calibração elaborada com padrões de Trolox utilizada na determinação da actividade antioxidante pelo método ABTS.

A percentagem de inibição das amostras foi determinada pela utilização da seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Na qual:

A_0 = Absorvância do tubo de controlo (Branco)

A_t = Absorvância do tubo com amostra decorrido determinado período de tempo (t=15 minutos).

4.5. Análise sensorial

As sessões de prova efectuadas na análise sensorial dos vinagres foram realizadas no laboratório da Escola Superior Agrária de Viseu, preparado para o efeito e reproduzindo as condições ideais de prova descritas nas normas NP 4258-1993 e ISO 8589-1988, como seja: provas efectuadas em cabines individuais, temperatura constante de 20 ± 2 °C, isenção de ruídos externos, ventilação e isenção de odores, iluminação a mais aproximada possível da iluminação natural. Foram utilizados os utensílios e equipamentos adequados referenciados na norma ISO 3591-1977. As provas foram realizadas por um conjunto de dezoito provadores semi-treinados, maioritariamente do sexo masculino e com uma média de idades de trinta anos, tentando reproduzir ao máximo as condições descritas pelas normas ISO 8586.1-1993

e NP ISO 8586-1-2001, utilizando o vocabulário e os termos referenciados pela norma ISO 5492-1992.

As amostras utilizadas na análise sensorial foram seleccionadas a partir do número inicial de 21 amostras de vinagre estudadas ao longo deste trabalho, tendo em conta a maior concentração de compostos fenólicos totais e o maior poder antioxidante total. Dada a heterogeneidade das amostras foi efectuado um agrupamento tendo em conta a origem principal da matéria-prima: vinho ou frutos. Assim, foram efectuados dois grupos distintos: um grupo com sete amostras de vinagres de vinho tinto e outro com oito amostras de vinagres de frutas.

A todas as amostras de vinagres seleccionadas foram efectuadas dois tipos de testes sensoriais: provas discriminativas (prova de ordenação) e provas descritivas (perfil sensorial).

As provas discriminativas foram realizadas com o objectivo de ordenação das diversas amostras de cada grupo no que diz respeito à preferência dos atributos por parte do painel de provadores ao nível da cor, do aroma e do sabor. Estas provas foram efectuadas com o principal intuito de efectuar uma pré-selecção de amostras para a análise descritiva.

Como resultado da pré-selecção, foram seleccionadas quatro amostras de vinagre, duas de vinagres de vinho tinto e duas de vinagres de frutas. Estas quatro amostras foram objecto de uma análise sensorial descritiva com a finalidade de traçar o perfil sensorial de cada uma.

4.5.1. Provas discriminativas - prova de ordenação

As provas discriminativas foram efectuadas seguindo a metodologia descrita pela norma ISO 8587-1988. Para tal, apresentou-se ao grupo de provadores semi-treinados, um conjunto de sete amostras de vinagres de vinho tinto e oito amostras de vinagres de frutas, ordenadas aleatoriamente, sendo solicitado que as ordenassem, novamente, de forma crescente de preferência de acordo com o atributo em questão (cor, aroma, sabor). As amostras de cada conjunto, foram apresentadas simultaneamente de uma só vez a cada provador em dias separados, tendo sido diluídas com água mineral na proporção de 1:20 (v:v), com a excepção das que se destinaram à prova referente ao atributo cor, que foram apresentadas no seu estado inicial.

Os provadores começaram por ordenar as amostras de cada grupo segundo uma classificação provisória e em seguida verificar a ordenação e proceder às alterações necessárias. Foram ainda informados que mesmo em caso de duas ou mais amostras tivessem preferências iguais, quanto ao atributo em questão, deveriam ordenar as amostras, no entanto e caso não as conseguissem ordenar, deveriam indicar quais as amostras que consideraram idênticas na folha de respostas elaborada para o efeito e que se encontra no ANEXO 3.

Após a obtenção dos resultados de todos os provadores e para cada grupo de amostras analisadas, foi efectuada uma análise estatística utilizado para tal o teste de *Friedman* segundo a metodologia descrita pela Norma ISO 8587-1988, para testar se as amostras seriam ou não diferentes entre si. Assim, foi efectuado o teste considerando H_0 - hipótese nula (não há diferenças entre duas ou mais amostras) e H_1 - hipótese alternativa (há diferenças entre as amostras), tendo sido considerado um nível de significância de 95 %. Para tal, foi calculado o valor de *Friedman* (**Fr**), utilizando a seguinte fórmula:

$$FR = \frac{12}{Nk(k+1)} \sum_{j=1}^k R_j^2 - 3N(k+1)$$

Na qual:

Fr= valor de *Friedman*;

N= número de provadores;

k= número de amostras;

R_j= representa a soma das ordens para a amostra *j* (1, 2, ..., *k*).

O valor de *Fr* calculado, foi então comparado com os valores críticos apresentados no ANEXO 4. Quando o valor de *Fr* seja superior ao valor tabelado, para um dado número de amostras, provadores e nível de significância previamente estabelecido, deverá ser concluído que existe uma diferença global entre as amostras.

Nos casos em que estatisticamente foi demonstrado, que existia uma diferença significativa entre as amostras foi necessário saber quais as amostras que apresentavam essa diferença, calculando a diferença mínima significativa (DMS) entre elas. Assim, considerando quaisquer duas amostra *i* e *j* e as suas somas de ordem *R_i* e

R_j , podemos, segundo a Norma ISO 8587-1988 dizer que, para um nível de significância de 5%, as amostras são significativamente diferentes se:

$$|R_i - R_j| \geq 1.96 \sqrt{\frac{N \times k \times (k + 1)}{6}}$$

Na qual:

$|R_i - R_j| = DMS$;

N = número de provadores;

k = número de amostras;

R_i = representa a soma das ordens para a amostra i (1, 2, ..., k);

R_j = representa a soma das ordens para a amostra j (1, 2, ..., k).

A utilização combinada do teste de *Friedman* e da DMS (para mais de um par de amostras) é indicadora da ordenação hierárquica das amostras.

4.5.2. Provas descritivas – perfil sensorial

As provas descritivas foram efectuadas segundo a metodologia descrita pela norma ISO 4121-1987.

Para o estabelecimento do perfil sensorial das amostras seleccionadas (4 amostras) foi necessário efectuar uma diluição prévia (1:20; v:v) de cada amostra. Para cada atributo analisado (ao nível do aspecto visual, aroma, sabor e apreciação global) foi utilizada uma escala semi-estruturada de 10 cm, ordenada de forma crescente de intensidade (ANEXO 3).

A lista dos descritores, foi elaborada adaptando alguns dos descritores referenciados por Tesfaye *et al.* (2009). Assim foram seleccionados doze descritores distribuídos por quatro grupos como se apresenta na Tabela 17.

Para cada atributo, o resultado atribuído por cada provador foi efectuado por medição exacta do valor assinalado na respectiva escala e calculada a média para cada atributo dos valores das respectivas medições para todos os provadores. Foi ainda calculado o coeficiente de variação (CV) para avaliar a exactidão dos resultados assim como o desvio padrão para avaliar a precisão dos mesmos.

Tabela 17. Atributos, seleccionados para a análise sensorial descritiva, das amostras de vinagre.

Grupo do descritor	Descritor
Aspecto Visual	Cor
	Limpidez
Aroma	Ácido acético
	Floral
	Frutado
	Vinho
	Intensidade do aroma
Sabor	Acidez
	Adstringente
	Intensidade do gosto
	Persistência do gosto
Apreciação final	Apreciação final

O perfil sensorial de cada vinagre foi representado através de gráfico de radar, tradicionalmente usado para o efeito, segundo Hollowood *et al.* (2009), utilizando para tal os valores médios das medições para cada atributo. Cada atributo foi representado nas extremidades dos eixos. No centro encontra-se o valor mínimo (zero) de intensidade para os atributos sendo o incremento da mesma do centro para a periferia dos eixos, num dos quais está representada a respectiva escala.

4.6. Análise estatística dos resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicado e o resultado final expresso em valor médio (\pm desvio padrão), com a excepção das análises efectuadas para a caracterização físico-química genérica, as quais foram efectuadas sem sem repetições. O coeficiente variação e coeficiente de correlação entre os valores da capacidade antioxidante total e o conteúdo da composição fenólica total foram estabelecidos pelo software Microsoft Excel 2007.

Os resultados, obtidos das análises físico-químicas gerais a todos os vinagres estudados, foram submetidos à análise de componentes principais (PCA), que é uma técnica estatística de análise multivariada que transforma linearmente um conjunto

original de variáveis num conjunto substancialmente menor de variáveis não correlacionadas que contem a maior parte da informação do conjunto original.

A análise de componentes principais foi realizada com o intuito de reduzir as variáveis através de critérios objectivos, possibilitando a construção de gráficos bidimensionais. Com a PCA é possível reescrever as coordenadas das amostras noutro sistema de eixo mais conveniente para a análise dos dados. Assim, as inúmeras variáveis originais geram através das suas combinações lineares, inúmeros componentes principais, sendo que a principal característica além, da ortogonalidade, é que são obtidos em ordem decrescente de variância, ou seja, a componente principal 1 tem maior informação estatística que a componente principal 2 e assim sucessivamente. Na análise dos componentes principais é necessário interpretar a distribuição dos pontos no gráfico de componentes principais e identificar as variáveis originais com maior peso na combinação linear das componentes principais mais importantes. Para a análise em PCA foi utilizado o software SPSS versão 16.0 (SPSS-Statistical Package for the Social Sciences-SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Os resultados da análise sensorial efectuada às 15 amostras de vinagres (7 Vinagres de vinho tinto e 8 vinagres de frutas) foram avaliados utilizando o teste de *Friedman*, segundo a metodologia descrita pela Norma ISO 8587:1988.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização físico-química geral

Os resultados das determinações físico-químicas realizadas, para a caracterização genérica dos vinagres estudados, estão apresentados na Tabela 18. Nesta tabela apresentam-se, também, os valores médios (VM) e o intervalo de valores (I) obtidos para os vinagres de vinho tinto (T), vinagres de vinho branco (B), vinagres de frutos e cereais (O) e vinagres balsâmicos (BS).

Tabela 18. Caracterização físico-química geral, dos vinagres objecto de estudo.

Vinagre	Acidez total declarada * (%)	Acidez total (%)	Acidez fixa (%)	Acidez volátil (%)	Extrato seco (%)	Cinzas (g/L)	pH
VT1	7.0	7.56	0.11	7.45	1.68	2.73	3.1
VT2	7.0	7.68	0.19	7.49	2.11	2.66	3.0
VT3	6.5	6.51	0.17	6.34	1.68	2.40	2.9
VT4	7.0	7.5	0.19	7.31	1.68	2.72	2.9
VT5	6.0	6.42	0.11	6.31	1.35	2.37	3.1
VT6	6.0	6.51	0.14	6.37	2.01	2.38	3.0
VT7	7.0	7.59	0.16	7.43	2.11	2.98	3.1
VM1	6.0	6.75	0.87	5.88	23.41	1.73	3.4
VM2	ND	3.90	1.28	2.62	66.92	1.07	3.1
VB1	6.0	6.69	0.58	6.11	2.02	1.92	2.9
VB2	ND	6.45	0.19	6.26	1.44	2.04	2.9
VB3	7.0	7.56	0.17	7.39	1.72	2.33	3.0
VC1	5.0	5.31	0.13	5.18	2.53	1.21	2.9
VF1	5.0	5.52	0.17	5.35	1.42	2.04	3.0
VF2	5.0	5.52	0.14	5.38	1.33	1.48	2.9
VF3	5.0	5.46	0.07	5.39	1.89	2.14	3.2
VF4	5.0	5.46	0.17	5.29	1.82	2.05	3.1
VF5	5.0	5.94	0.23	5.71	2.24	2.18	3.0
VF6	ND	7.17	2.93	4.24	20.07	16.22	3.1
VF7	6.0	6.24	2.09	4.15	23.06	7.78	3.1
VF8	6.0	5.64	1.77	3.87	22.98	14.77	3.1
VM (T)		7.11	0.16	6.96	1.80	2.61	3.0
I (T)		6.40-7.70	0.10-0.20	6.31-7.49	1.35-2.11	2.37-2.98	2.9-3.1
VM (B)		6.93	0.33	6.59	1.73	2.10	2.93
I (B)		6.50-7.60	0.20-0.60	6.11-7.39	1.44-2.02	1.92-2.33	2.9-3.0
VM (O)		5.80	0.86	4.95	8.59	5.54	3.0
I (O)		5.30-7.20	0.10-2.90	3.87-5.71	1.33-23.06	1.21-16.22	2.9-3.2
VM (BS)		5.35	1.10	4.25	45.17	1.40	3.2
I (BS)		3.90-6.80	0.90-1.30	2.62-5.88	23.41-66.92	1.07-1.73	3.1-3.4

* valor declarado pelo fabricante; *ND* valor não declarado; VM (T) valores médios para vinagres tintos; I (T) intervalo para vinagres tintos; VM (B) valores médios para os vinagres brancos; I (B) intervalo para vinagres brancos; VM (O) valores médios para vinagres de frutos e cereais; I (O) intervalo para vinagres de frutos e cereais; VM (BS) valores médios para vinagres balsâmicos; I (BS) intervalo para vinagres balsâmicos. Valores de acidez expressos em percentagem de ácido acético.

Em geral, os valores obtidos para os diferentes parâmetros físico-químicos gerais encontram-se de acordo com o estipulado na legislação portuguesa (Decreto – Lei n.º 174/2007) e no Codex Alimentarius (codex stan 162-1987), sendo ainda semelhantes aos descritos por Rizzon e Miele (1998), para vinagres comerciais.

O valor médio obtido para a acidez total para vinagres de vinho tinto foi de 7.11 %, para vinagres de vinho branco de 6.93 % e para dos vinagres de frutas foi de 5.80 %. Estes valores estão de acordo com os determinados anteriormente por Pinsiromdom *et al.* (2008). No entanto, os valores obtidos para a acidez total da generalidade dos vinagres de vinho encontram-se acima dos obtidos por Rizzon e Miele (1998), que obtiveram valores entre 4.34 – 4.79 % para vinagres de vinho tinto e branco.

É ainda de referir que os valores obtidos experimentalmente para a acidez total foram ligeiramente superiores aos valores referenciados pelos fabricantes nos respectivos rótulos das embalagens.

Relativamente à acidez volátil e à acidez fixa, os valores obtidos foram ligeiramente superiores aos determinados por Rizzon e Miele (1998), que obtiveram valores entre 4.20 e 4.62 % e entre 0.10 a 0.23 %, respectivamente, para a acidez volátil e acidez fixa em vinagres de vinho tinto e branco.

Como se pode observar pela Figura 27, a acidez total dos vinagres apresentou uma correlação com a acidez volátil, sendo o seu coeficiente de correlação linear de 0.64. Assim, confirma-se que o ácido acético é o componente que mais contribui para a acidez total.

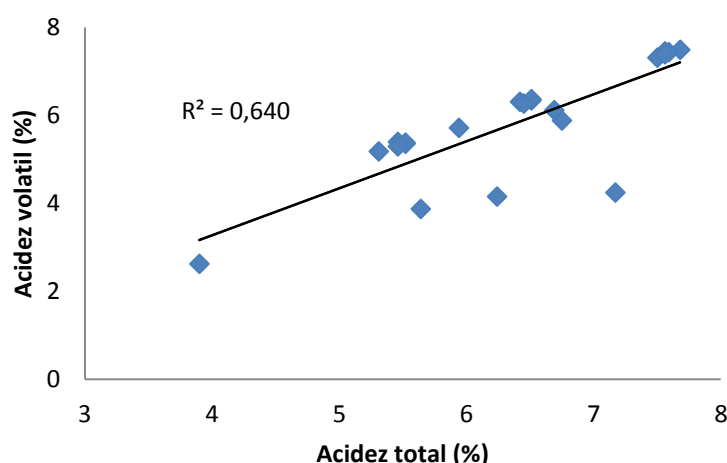


Figura 27. Correlação linear obtida entre os valores de acidez total e de acidez volátil para todos os vinagres analisados.

Os valores obtidos para o pH dos vinagres objecto de estudo, variam entre 2.9 a 3.4, o que está na mesma linha dos resultados obtidos por outros autores para diversos tipos de vinagres comerciais (White, 1971; Rizzon e Miele, 1998; Pinsiroadom *et al.*, 2008).

O extracto seco total dum vinagre representa o material mineral e orgânico de um vinagre. Assim, neste âmbito o vinagre balsâmico VM2 apresentou o valor mais elevado de extracto seco (66.92 %) entre todos vinagres analisados. Os valores médios de extracto seco total, dos vinagres de vinho tinto (1,80 %) e dos de vinho branco (1,73 %), estão de acordo com os valores obtidos anteriormente por Rizzon e Miele (1998).

Em geral, os valores de cinzas obtidos em todos os vinagres objecto de estudo, estão de acordo com os obtidos anteriormente por Rizzon e Miele (1998), que obtiveram valores entre 1.23 a 1.70 g/L para vinagres de vinho tinto e entre 1.36 e 1.64 g/L para vinagres de vinho branco.

As cinzas do vinagre são consideradas como sendo o resíduo mineral da amostra. Assim, verifica-se que os vinagres VM1, VM2, VF6, VF7 e VF8 apresentaram um elevado conteúdo de extracto seco e pequena quantidade de cinzas, demonstrando que a sua composição é rica em compostos orgânicos, mas baixa em elementos minerais.

5.2. Avaliação geral da fracção fenólica

5.2.1. Determinação da cor e das coordenadas cromáticas

Os resultados obtidos para a determinação directa das absorvâncias dos vinagres a 420, 520 e 620 nm encontram-se apresentados na Tabela 19.

Pela análise da Tabela 19, é possível constatar que no geral foram os vinagres de vinho tinto, em especial os vinagres balsâmicos, os que evidenciaram valores mais elevados de absorvância nos comprimentos de onda considerados, seguindo-se os vinagres de frutas e por último os vinagres de vinho branco.

Tabela 19. Valores das absorvâncias, para os vários comprimentos de onda considerados (420, 520 e 620 nm), nos vinagres estudados.

Vinagres	Absorvâncias		
	420 nm	520 nm	620 nm
VT1 ^a	1.613	1.020	0.260
VT2 ^a	1.383	0.900	0.240
VT3 ^a	1.483	0.840	0.200
VT4 ^a	1.670	0.950	0.190
VT5 ^a	0.157	1.447	0.340
VT6 ^a	0.129	1.280	0.230
VT7 ^a	0.156	1.060	0.270
VM1 ^{a,c}	33.408	15.400	5.775
VM2 ^{a,c}	36.200	18.200	10.383
VB1 ^b	0.302	ND	ND
VB2 ^b	0.176	ND	ND
VB3 ^b	0.322	ND	ND
VC1 ^b	0.216	ND	ND
VF1 ^b	0.159	ND	ND
VF2 ^b	0.152	ND	ND
VF3 ^b	0.593	ND	ND
VF4 ^b	0.233	ND	ND
VF5 ^b	0.643	ND	ND
VF6 ^{b,c}	11.500	9.783	7.250
VF7 ^{b,c}	8.458	7.617	6.858
VF8 ^{b,c}	4.742	4.583	3.375
VM (T)	0.942±0.75	1.071±0.22	0.247±0.05
I (T)	0.129-1.670	0.840-1.447	0.190-0.340
VM (O)	0.645±0.69	ND	ND
I (O)	0.152-2.300	ND	ND

^a células de 1 mm de percurso óptico; ^b células de 10 mm de percurso óptico; ^c Absorvâncias multiplicadas por factor de diluição; ND Valores não Determinados; VM (T) valores médios para vinagres tintos; I (T) intervalo para vinagres tintos; VM (O) valores médios para outros vinagres; I (O) intervalo para outros vinagres.

Os valores das absorvâncias medidas a 420 nm para os vinagres de vinho tinto variaram entre 0.129 a 1.670, tendo sido ligeiramente superiores aos obtidos por Rizzon e Miele (1998) em vinagres de vinho tinto (0.370 a 0.580). Num estudo realizado sobre vinagres comerciais portugueses, Gonçalves *et al.* (2010) obtiveram um valor médio de 1.02 para a absorvância a 420 nm em vinagres de vinho tinto. Os valores obtidos para os restantes vinagres variaram entre 0.152 e 2.300, tendo sido o valor médio de 0.645. Rizzon e Miele (1998) descreveram para vinagres de vinho branco valores de absorvância a 420 nm entre 0.620 e 1.650 com um valor médio de 1.140, enquanto que para vinagres não tintos Gonçalves *et al.* (2010) obtiveram valores de absorvância a 420 nm entre 0.02 e 0.68.

Os valores de absorvância determinados a 520 nm para vinagres de vinho tinto variaram entre 0.840 e 1.447 com um valor médio de 1.071 tendo estes sido superiores aos determinados por Rizzon e Miele (1998) também em vinagres de vinho tinto, que obtiveram valores entre 0.360 e 0.600 e um valor médio de 0.480. De salientar ainda, que os valores obtidos para os vinagres objecto de estudo foram também superiores aos valores obtidos por Gonçalves *et al.* (2010) para vinagres tintos (média de 0.75).

Assim, podemos considerar a existência de uma grande dispersão de valores que podemos encontrar na bibliografia. Esta grande variabilidade está relacionada com diversos factores, tais como: o tipo de matéria-prima utilizada (nomeadamente as características dos vinhos utilizados ao nível do seu conteúdo fenólico) e ainda o tipo de tecnologia empregue e as especificações consideradas por cada fabricante.

Os resultados obtidos para a determinação da intensidade e da tonalidade da cor e ainda das coordenadas cromáticas dos vinagres estudados, encontram-se apresentados na Tabela 20.

Tabela 20. Valores da cor e das coordenadas cromáticas dos vinagres estudados.

Vinagres	COR						
	Intensidade	Tonalidade	L*	a*	b*	c*	h*
VT1	2.89	1.58	49.25	41.28	49.69	42.87	82.72
VT2	2.52	1.54	53.57	38.07	33.72	39.67	78.87
VT3	2.52	1.77	55.87	36.38	45.34	38.00	98.61
VT4	2.81	1.76	51.73	39.43	57.77	41.03	97.93
VT5	3.36	1.09	36.54	51.39	27.96	52.93	39.88
VT6	2.80	1.01	41.06	47.65	9.37	49.20	33.20
VT7	2.89	1.47	47.89	42.31	43.46	43.89	73.50
VM1	54.58	2.17	58.23	401.70	2104.80	408.65	667.18
VM2	64.78	1.88	23.52	511.95	2791.43	518.35	543.30
VB1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VB2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VB3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VC1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VF6	28.53	1.18	127.87	308.32	366.38	315.75	238.20
VF7	22.93	1.12	176.02	264.00	179.29	271.66	215.45
VF8	12.70	1.03	264.75	192.64	-33.24	200.65	177.43

ND Valores não determinados. a* Coordenada colorimétrica (verde - vermelho); b* Coordenada colorimétrica (amarelo - azul); C* Cromaticidade; L* Luminosidade; h* Tom.

Os valores obtidos para a tonalidade da cor dos vinagres tintos, 1.01 a 1.77 com um valor médio de 1.46 são superiores aos obtidos por Rizzon e Miele (1998) que obtiveram valores de 0.912 a 1.085 com uma média de 0.998. Esta diferença de valores poderá dever-se possivelmente à utilização de diferentes matérias-primas e processos tecnológicos empregues na fabricação dos respectivos vinagres.

A partir dos dados das coordenadas cromáticas apresentados na Tabela 20, foi efectuada uma representação gráfica a três dimensões dos parâmetros L^* , a^* e b^* como se observa na Figura 28.

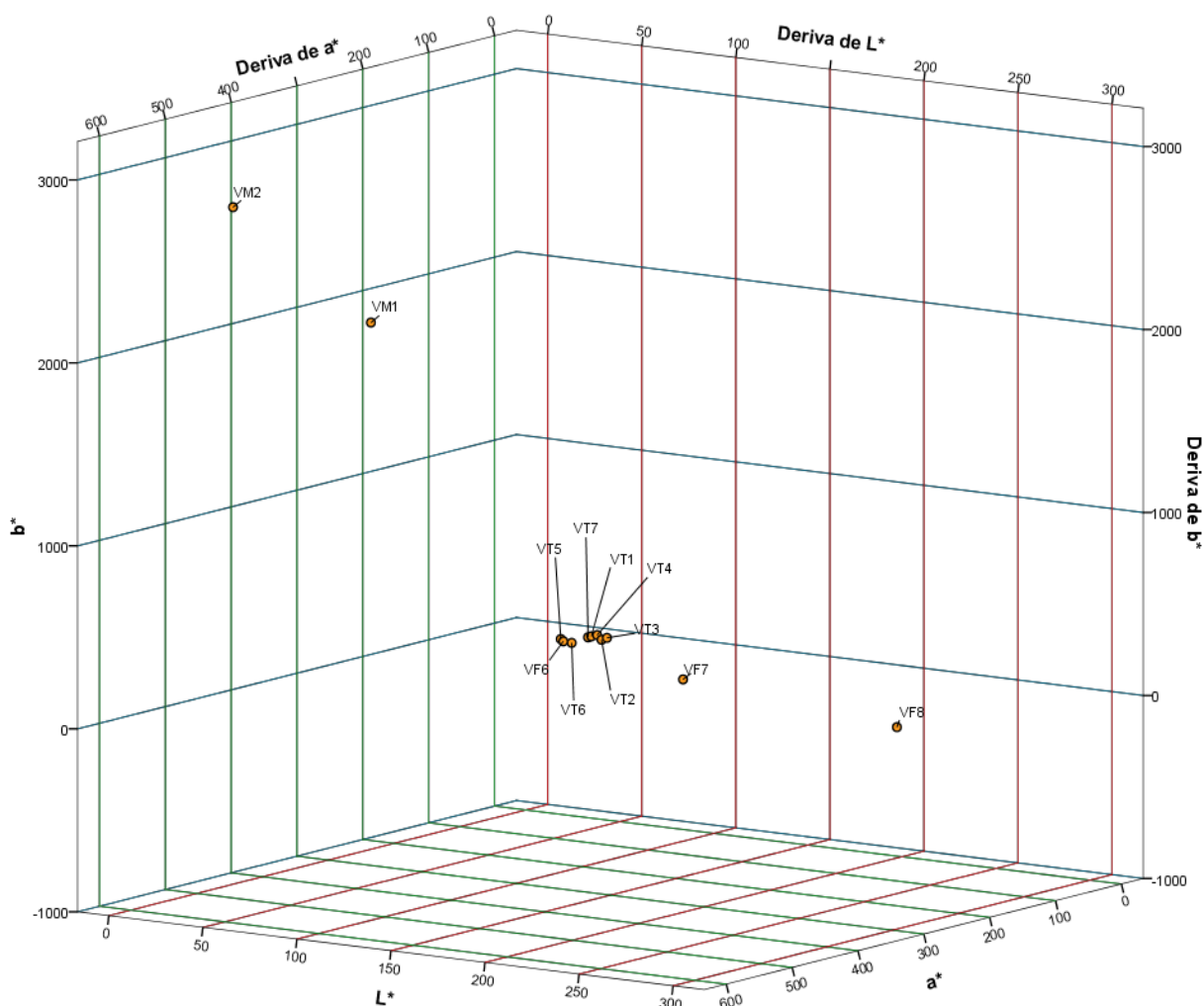


Figura 28. Representação gráfica da distribuição dos vinagres no espaço tridimensional das coordenadas cromáticas.

A coordenada L^* representa a luminosidade, a coordenada a^* representa a componente de cor verde/vermelha e a coordenada b^* representa a componente de cor azul / amarela.

Como se pode verificar na Figura 28, a maior parte dos vinagres (VT1, VT2, VT3, VT4, VT5, VT6, VT7 e VF6) formaram um grupo com características idênticas, apresentando um valor de L^* baixo, sendo portanto escuras e com os parâmetros a^* e b^* idênticos e positivos apresentando respectivamente características ligeiramente vermelhas e amarelas. Por outro lado, as coordenadas das amostras VM1 e VM2, indicam uma cor mais escura e uma tonalidade amarela bastante acentuada. A amostra VF8 (vinagre de fruta) apresentou valores negativos relativamente ao parâmetro b^* sendo portanto a única amostra que apresentou características de cor azul.

5.2.2. Determinação da composição fenólica

Os valores obtidos nas análises efectuadas para a determinação dos compostos fenólicos totais, compostos fenólicos flavonóides, compostos fenólicos não flavonóides e antocianinas totais, encontram-se apresentados na Tabela 21.

Os teores médios de compostos fenólicos totais quantificados nos vinagres balsâmicos (3081.3 GAE mg/L), foram bastante superiores aos valores médios obtidos nos vinagres de vinho tinto (896.7 GAE mg/L), que por sua vez foram, ainda, superiores aos dos restantes vinagres (296.0 GAE mg/L), o que está de acordo com os resultados obtidos por vários autores (Verzelloni *et al.*, 2010; Pinsiromdom *et al.* 2008). No entanto, os valores obtidos para os vinagres balsâmicos (VM1 e VM2) encontraram-se acima dos valores máximos determinados por Dávalos *et al.* (2005), também para o mesmo tipo de vinagres, enquanto que, os teores de compostos fenólicos totais para os restantes vinagres foram semelhantes aos descritos pelos mesmos autores.

De salientar ainda que conteúdo em compostos fenólicos totais obtidos para os vinagres de vinho tinto, foram superiores ao encontrado para vinagres de vinho tinto portugueses por Gonçalves *et al.* (2010) e semelhante ao reportado por Dávalos *et al.* (2005), para vinagres espanhóis (306 a 867 GAE mg/L).

Tabela 21. Valores médios da composição fenólica dos vinagres estudados, provenientes do mercado português.

Vinagres	Compostos Fenólicos Totais		Comp. Fenólicos Flavonóides	Comp. Fenólicos Não Flavonóides	Antocianinas Totais
	Folin-Ciocalteu	IPT			
	(mg/L) ^a		(mg/L) ^a	(mg/L) ^a	(mg/L) ^b
VT1	888.9±13.5	19.6±1.2	669.4±5.0	219.56±0.02	19.82±3.11
VT2	718.7±5.1	18.6±0.2	650.5±1.8	68.19±0.01	15.29±0.78
VT3	845.1±17.6	17.1±0.1	533.8±1.2	311.28±0.02	15.36±0.71
VT4	985.8±9.0	20.3±0.3	657.7±1.8	328.12±0.01	19.98±1.67
VT5	1059.7±16.9	19.7±0.2	745.4±2.7	314.27±0.02	27.38±1.36
VT6	926.8±0.7	19.4±0.1	762.1±1.2	164.75±0.00	30.08±1.59
VT7	851.6±22.1	20.0±0.7	674.3±3.9	177.31±0.03	18.84±1.33
VM1	3503.0±316.6	175.7±4.2	3421.9±176.4	81.12±0.12	193.02±15.76
VM2	2659.6±242.3	287.3±4.0	2522.8±172.1	136.81±0.13	37.33±3.75
VB1	231.7±0.9	6.0±0.1	ND	ND	ND
VB2	241.6±1.2	6.0±0.1	ND	ND	ND
VB3	177.4±4.2	8.2±0.1	ND	ND	ND
VC1	153.9±1.3	9.4±0.1	ND	ND	ND
VF1	159.4±3.5	5.2±0.1	ND	ND	ND
VF2	146.7±2.6	3.6±0.1	ND	ND	ND
VF3	352.2±4.0	9.4±0.3	ND	ND	ND
VF4	276.2±2.6	7.5±0.0	ND	ND	ND
VF5	185.7±1.6	11.8±0.6	ND	ND	ND
VF6	455.5±31.6	46.0±2.5	ND	ND	ND
VF7	848.6±81.6	40.2±0.7	ND	ND	ND
VF8	323.5±18.1	28.9±2.7	ND	ND	ND
VM (T)	896.7±109.4	19.3±1.1	670.5±74.4	226.2±97.1	21.0±5.7
I (T)	718.7-1059.7	17.1-20.3	533.8-762.1	68.2-328.1	15.3-30.1
VM (BS)	3081.3±596.4	231.5±78.9	2972.3±635.8	109.0±39.4	115.2±110.1
I (BS)	2659.6-3503.0	175.7-287.3	2522.7-3421.9	81.1-136.8	37.3-193.0
VM (O)	296.0±197.6	15.2±14.6	ND	ND	ND
I (O)	146.7-848.6	3.6-46.0	ND	ND	ND

± desvio padrão de três réplicas; ND valores não determinados; VM (T) valores médios para vinagres tintos; I (T) intervalo para vinagres tintos; VM (BS) valores médios para vinagres balsâmicos; I (BS) intervalo para vinagres balsâmicos; VM (O) valores médios para vinagres de vinho branco, frutas e cereais; I (O) intervalo para vinagres de vinho branco, frutas e cereais. ^a valores expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE). ^b valores expressos em equivalentes de malvidina-3-glucósido (MVE).

Entre os vinagres de vinho tinto, os vinagres estagiados em barricas de carvalho (VT1, VT2 e VT4) apresentaram valores em compostos fenólicos totais semelhantes aos restantes vinagres de vinho tinto, demonstrando assim, que os diferentes processos de envelhecimento, não influenciaram de forma marcante a sua composição fenólica total. Estudos efectuados por Alonso *et al.* (2004), referem que o vinho de base utilizado para a elaboração do vinagre é um factor determinante no conteúdo em compostos fenólicos

presentes nos vinagres de vinho, quando comparado com o envelhecimento de vinagres de vinho em contacto com madeira de carvalho.

O teor de polifenóis totais dos vinagres depende do estado de maturação das uvas na data de colheita, da variedade dos frutos utilizados, das técnicas de produção de mostos e das condições de envelhecimento e de conservação. Frutos com quantidades mais elevadas de compostos fenólicos dão origem a vinagres com maior conteúdo fenólico (Dávalos *et al.*, 2005). Por exemplo, vinagres obtidos a partir de uvas tintas possuem o teor de compostos fenólicos superior ao encontrado em vinagres de laranja. Os restantes vinagres (fruta, cereais e vinho branco) apresentaram valores de fenóis totais que variaram entre 146.7 e 848.6 GAE mg/L. No entanto, os vinagres de frutas VF6, VF7 e VF8 apresentaram valores de fenóis totais (323.5 a 848.6 GAE mg/L) superiores à generalidade dos outros vinagres de frutas, possivelmente por terem sido elaborados a partir de polpa de frutas mantendo assim o aspecto viscoso.

Relativamente à composição em compostos fenólicos flavonóides e na mesma linha do que tinha ocorrido para os teores em compostos fenólicos totais, os vinagres balsâmicos apresentaram valores médios bastante superiores (2972.3 GAE mg/L), relativamente aos dos vinagres de vinho tinto (670.5 mg/L). A mesma tendência foi verificada por Verzelloni *et al.* (2007) que obteve valores cerca de três vezes superiores para vinagres balsâmicos relativamente a vinagres de vinho tinto. Os valores, em compostos fenólicos flavonóides, obtidos para a generalidade dos vinagres encontraram-se acima dos valores máximos obtidos por Gonçalves *et al.* (2010).

Os valores médios obtidos para os compostos fenólicos não flavonóides dos vinagres de vinho tinto (226.2 GAE mg/L) mostram que estes apresentaram teores mais elevados, cerca do dobro, dos teores em fenóis não flavonóides quantificados nos vinagres balsâmicos (109.0 GAE mg/L).

Para os vinagres de vinho branco, de frutas e de cereais não foram determinados os valores dos teores em compostos fenólicos flavonóides, compostos fenólicos não flavonóides e antocianinas, pois nestes os teores nos referidos componentes é muito reduzido, como também refere a bibliografia (Verzelloni *et al.*, 2007; Gonçalves *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos na determinação das antocianinas totais dos vinagres de vinho tinto (21.0 MvE mg/L) foram bastante inferiores aos determinados para os vinagres balsâmicos (115.2 MvE mg/L). É ainda de salientar que os valores médios determinados para as antocianinas totais dos vinagres de vinho tinto estagiados e envelhecidos em madeira (VT1, VT2, VT4 e VT7) apresentaram valores inferiores aos do vinagre de vinho tinto não estagiado e envelhecido (VT6). Estudos efectuados por Alonso *et al.* (2004), referem a influência do envelhecimento de vinagres de vinho em contacto com a madeira de carvalho, tendo concluído que é o tipo de vinho de base utilizado, o factor determinante no conteúdo em compostos fenólicos presentes nos vinagres de vinho.

Por outro lado, segundo Jordão *et al.* (2008) existem várias reacções que ocorrem entre os compostos fenólicos do vinho e os compostos fenólicos extractáveis da madeira de carvalho. Assim, estes autores verificaram utilizando soluções modelo, de vinho, que na presença de extractos de madeira de carvalho a malvidina-3-glucósido (antocianina mais abundante nos vinhos tintos) apresentou um decréscimo mais acentuado ao longo do tempo, comparativamente ao verificado em soluções modelo de vinho, contendo malvidina-3-glucósido, sem os referidos extractos de madeira.

Tais resultados, podem contribuir para explicar os valores obtidos para os teores de antocianinas totais nos vinagres de vinho tinto, com e sem estagio em barricas de madeira de carvalho.

A tendência verificada para os diversos vinagres, ao nível da composição fenólica, está de acordo com resultados anteriormente publicados por Verzelloni *et al.* (2007), que também obtiveram valores mais elevados em fenóis totais e fenóis flavonóides nos vinagres balsâmicos, comparativamente a outros vinagres de vinho tinto.

Os vinagres balsâmicos apresentaram os maiores valores para os parâmetros analisados relativamente à sua composição fenólica, podendo este facto ser devido à natureza de vinagre balsâmico, pois este é produzido a partir de um processo lento de acetificação de mostos de uvas concentrados, com alto teor de açúcar e o seu processamento e envelhecimento ser efectuado em barricas de madeira e como tal permitir uma transferência de compostos fenólicos da madeira para os vinagres (Plessi *et al.*, 2006).

A análise da Tabela 22, na qual está apresentada a correlação linear para a determinação de compostos fenólicos totais pelos métodos Folin-Ciocalteu e do índice de polifenóis totais (IPT), permite verificar que existe uma correlação positiva entre os valores obtidos pelos dois métodos utilizados.

Tabela 22. Correlação linear entre os teores compostos fenólicos totais dos vinagres, quantificados pelo método Folin-Ciocalteu e pelo método IPT.

Vinagres	R ²
Todos	0.7351
Vinho Branco/Cereais/Frutas	0.6258
Vinho Tinto/Balsâmicos	0.7595

R², Coeficiente de correlação linear.

O teor em compostos fenólicos totais, determinado pelo método Folin-Ciocalteu e pelo IPT, foi ainda correlacionado com a intensidade da cor dos vinagres estudados (Figura 29). Os resultados mostraram uma correlação mais forte da intensidade da cor com o IPT (0.883) comparativamente ao método Folin-Ciocalteu (0.633). Esta diferença resulta do facto de serem utilizados diferentes comprimentos de onda para os dois métodos. Num comprimento de onda maior a absorção da radiação é efectuada por um grande número de compostos fenólicos, enquanto que para um comprimento de onda mais baixo, apenas as antocianinas absorvem radiação, sendo portanto estas as principais responsáveis pela coloração dos vinhos e vinagres tintos (Zamora-Marin, 2003).

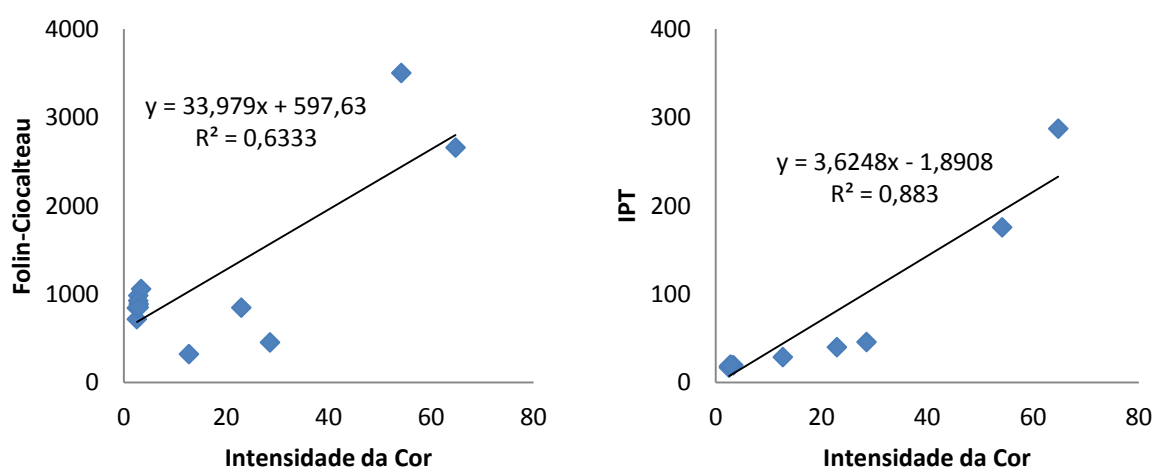


Figura 29. Correlação linear estabelecida entre a intensidade da cor e os teores em compostos fenólicos totais, quantificados por dois métodos (Folin-Ciocalteu e IPT).

5.2.3. Fraccionamento dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos dos vinagres comerciais de vinho tinto foram fraccionados por extração em fase sólida (SPE), em coluna C₁₈, dando origem a 3 fracções. A fracção 1 (F1) foi maioritariamente constituída por ácidos fenólicos, a fracção 2 (F2) maioritariamente constituída por proantocianidinas monoméricas e oligoméricas e a fracção 3 (F3) maioritariamente composta por proantocianidinas poliméricas, antocianinas e outros compostos poliméricos.

A taxa de recuperação dos compostos fenólicos totais relativamente à composição inicial dos vinagres após a sua passagem em coluna SPE C₁₈, foi calculada pela razão entre a soma dos compostos fenólicos de cada uma das fracções e os compostos fenólicos inicialmente quantificados nos vinagres, expressa em percentagem (Tabela 23).

Tabela 23. Taxa de recuperação dos compostos fenólicos totais após fraccionamento em coluna SPE C₁₈.

Vinagres	Taxa Recuperação de Compostos Fenólicos (%)
VT1	90
VT2	94
VT3	83
VT4	80
VT5	80
VT6	99
VT7	96

Como se pode verificar através dos dados apresentados na Tabela 23, foi possível obter uma elevada taxa de recuperação dos compostos fenólicos das fracções dos vinagres estudados, relativamente ao seu conteúdo inicial, tendo sido obtida uma taxa compreendida entre 80 para os vinagres VT4 e VT5 e 99 % para o vinagre VT6, sendo a média de recuperação de 89 %.

Os valores em compostos fenólicos totais, quantificados em cada uma das fracções, encontram-se apresentados na Tabela 24. Nesta tabela, é também possível verificar a contribuição, em percentagem, de cada fracção, para o total de compostos fenólicos totais recuperados após o fraccionamento em coluna SPE C₁₈.

Tabela 24. Teores médios, em compostos fenólicos totais, quantificados nas 3 fracções obtidas dos vinagres e sua contribuição para a composição fenólica total dos vinagres.

Vinagre	Fracção	Compostos Fenólicos Totais	Taxa Contribuição
		Folin-Ciocalteau (mg/L) ^a	(%)
VT1	F1	145.0±5.6	18
	F2	57.3±1.6	7
	F3	597.6±31.0	75
VT2	F1	154.4±3.5	23
	F2	46.7±2.4	7
	F3	472.4±12.4	70
VT3	F1	178.0±1.0	25
	F2	39.7±1.7	6
	F3	486.1±20.7	69
VT4	F1	224.4±6.6	29
	F2	39.9±2.6	5
	F3	522.8±11.4	66
VT5	F1	231.5±2.9	27
	F2	43.6±0.8	5
	F3	569.6±31.2	68
VT6	F1	193.7±0.3	21
	F2	61.9±0.9	7
	F3	667.5±1.4	72
VT7	F1	163.1±1.2	20
	F2	53.0±2.9	6
	F3	604.1±17.6	74

± desvio padrão de três réplicas; ^a valores expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE).

A maior parte dos compostos fenólicos obtidos após o fraccionamento em coluna foram recolhidos na fracção F3 (66 a 75 %). A fracção F1 foi a segunda que mais contribuiu para a composição fenólica total dos vinagres, representando entre 18 a 29 % da composição fenólica total dos vinagres. Na fracção F2 obteve-se entre 5 e 7 % dos compostos fenólicos recolhidos após a passagem por coluna C₁₈. Assim, tendo por base estes resultados podemos considerar que para os vinagres de vinho tinto comerciais estudados, os compostos fenólicos presentes são maioritariamente proantocianidinas poliméricas, antocianinas e outros compostos poliméricos. Por outro lado, os compostos fenólicos presentes na forma de monómeros e oligómeros representam um valor quase que residual.

Estes resultados apresentam uma tendência semelhante ao descrito por Sun *et al.* (2006) num estudo sobre o fraccionamento de compostos fenólicos de vinhos tintos. Assim, estes autores obtiveram maiores valores para a fracção F3, seguida da fracção F1 e por último a que menos contribui para a composição fenólica total foi a fracção F2.

5.2.4. Determinação das antocianinas por HPLC

Considerando que de acordo com os resultados obtidos na avaliação das várias fracções fenólicas, as antocianinas estavam incluídas na fracção fenólica mais representativa (fracção F3), procedeu-se à sua avaliação individual em termos qualitativos e quantitativos.

A identificação e quantificação das antocianinas individuais, presentes nos vinagres, foi efectuada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Na Figura 30, encontra-se representado, a título de exemplo, o perfil cromatográfico obtido por HPLC-UV/Vis para uma amostra de vinagre de vinho tinto (VT6), na qual estão representados os picos cromatográficos referêntes às diferentes antocianinas identificadas, considerando a intensidade das suas absorvâncias e os respectivos tempos de retenção.

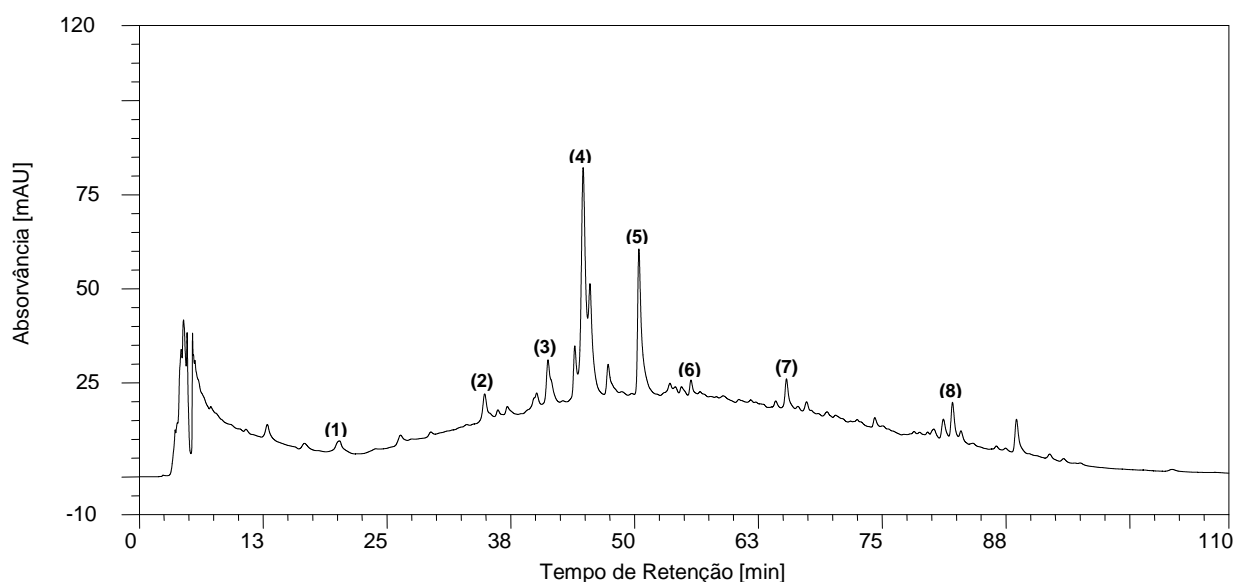


Figura 30. Perfil cromatográfico obtido a 520 nm, de um vinagre de vinho tinto (VT6).

- (1) Delfinidina-3-glucósido; (2) Petunidina-3-glucósido; (3) Peonidina-3-glucósido;
- (4) Malvidina-3-glucósido; (5) Delfinidina-3-(6-O-acetilglucósido);
- (6) Cianidina-3-(6-O-acetilglucósido); (7) Peonidina-3-(6-O-acetilglucósido);
- (8) Peonidina-3-(6-O-p-cumarilglucósido).

Na Tabela 25 encontram-se apresentados os tempos de retenção de cada uma das antocianinas, bem como a sua designação, para um vinagre de vinho tinto (VT6).

Tabela 25. Antocianinas identificadas no vinagre VT6 e respectivos tempos de retenção.

Tempo Retenção (min)	Antocianina	Abreviatura
20.22	Delfinidina-3-glucósido	Df3glc
34.88	Petunidina-3-glucósido	Pt3gcl
41.27	Peonidina-3-glucósido	Pn3gcl
44.81	Malvidina-3-glucósido	Mv3glc
50.44	Delfinidina-3-(6-O-acetilglucósido)	Df3acglc
55.70	Cianidina-3-(6-O-acetilglucósido)	Cy3acglc
65.34	Peonidina-3-(6-O-acetilglucósido)	Pn3acglc
81.19	Peonidina-3-(6-O-p-cumarilglucósido)	Peo3cumGlc

Na Tabela 26, estão apresentados os teores médios ($\mu\text{g/L}$) das diferentes antocianinas individuais presentes nos vinagres analisados. Os resultados obtidos estão expressos em equivalentes de malvidina-3-glucósido por litro de vinagre.

Tabela 26. Teores médios das diferentes antocianinas individuais quantificados nos vinagres de vinho tinto comerciais estudados.

Antocianinas	Vinagres						
	VT1	VT2	VT3	VT4	VT5	VT6	VT7
Df3glc	<i>ni</i>	<i>ni</i>	<i>ni</i>	\pm	<i>ni</i>	98.6 \pm 0.0	<i>ni</i>
Pt3gcl	<i>ni</i>	<i>ni</i>	10.5 \pm 4.8	11.2 \pm 4.7	<i>ni</i>	134.9 \pm 11.8	9.6 \pm 0.0
Pn3gcl	<i>ni</i>	9.4 \pm 0.1	41.2 \pm 4.0	63.9 \pm 2.1	33.3 \pm 14.0	237.7 \pm 22.0	<i>ni</i>
Mv3glc	10.2 \pm 0.2	14.0 \pm 5.1	119.0 \pm 9.9	144.6 \pm 12.7	35.6 \pm 21.6	1233.9 \pm 45.5	22.5 \pm 5.0
Df3acglc	81.5 \pm 1.2	121.9 \pm 2.0	<i>ni</i>	22.7 \pm 0.0	470.1 \pm 317.8	730.6 \pm 15.9	106.1 \pm 0.0
Cy3acglc	5.6 \pm 0.0	7.1 \pm 2.8	<i>ni</i>	<i>ni</i>	43.0 \pm 21.0	47.6 \pm 4.3	12.3 \pm 4.9
Pn3acglc	19.4 \pm 0.3	18.7 \pm 4.4	<i>ni</i>	9.1 \pm 0.0	107.7 \pm 74.1	125.0 \pm 8.1	23.3 \pm 0.0
Mv3acglc	<i>ni</i>	<i>ni</i>	<i>ni</i>	7.9 \pm 0.0	14.5 \pm 0.0	<i>ni</i>	<i>ni</i>
Peo3cumGlc	7.8 \pm 0.5	6.3 \pm 2.9	<i>ni</i>	<i>ni</i>	27.3 \pm 12.3	71.6 \pm 8.5	7.6 \pm 2.6
Malv3cumGlc	84.9 \pm 4.6	61.8 \pm 0.9	4.0 \pm 0.0	<i>ni</i>	89.4 \pm 33.6	107.9 \pm 8.0	121.8 \pm 2.8
Total	209.3 \pm 6.9	239.1 \pm 18.1	174.8 \pm 18.7	259.5 \pm 19.5	820.7 \pm 494.4	2787.8 \pm 124.1	303.0 \pm 23.4

\pm Desvio padrão de 3 injecções; Valores expressos $\mu\text{g/L}$ equivalentes de malvidina-3-glucosido (MVE); *ni*, não identificado.

Através da análise dos valores da Tabela 26, verifica-se que o vinagre VT6 foi o que apresentou maior teor em antocianinas individuais identificadas (2787.8 $\mu\text{g/L}$). Este resultado, está de acordo com o valor em antocianinas totais anteriormente apresentado, pois o vinagre VT6 foi o que evidenciou também maior concentração em antocianinas totais.

Na generalidade dos vinagres estudados, a malvidina-3-glucósido e a delphinidina-3-(6-O-acetilglucósido) foram as antocianinas identificadas presentes em maior concentração (10.2 a 1233.9 µg/L e 22.7 a 730.6 µg/L respectivamente).

É ainda de salientar, que os resultados obtidos se encontram de acordo com os valores obtidos por Andlauer *et al.* (2000) quando estudou o conteúdo de compostos fenólicos em vinhos tintos e brancos, em comparação com os perfis fenólicos nos vinagres correspondentes.

5.2.5. Determinação de ácidos fenólicos por HPLC

A identificação e quantificação dos ácidos fenólicos contidos na fracção F1, obtida pelo fraccionamento dos compostos fenólicos utilizando colunas C₁₈, dos vinagres de vinho tinto estudados, foi efectuada por HPLC-UV/Vis, a 280 nm. A partir deste resultado, foi possível estimar a quantidade de ácidos fenólicos presentes em cada vinagre de vinho tinto estudado.

Na Figura 31, encontra-se representado o perfil cromatográfico obtido por HPLC, a 280 nm, para a fracção F1 do vinagre de vinho tinto VT5 e na qual estão identificados alguns dos ácidos fenólicos presentes.

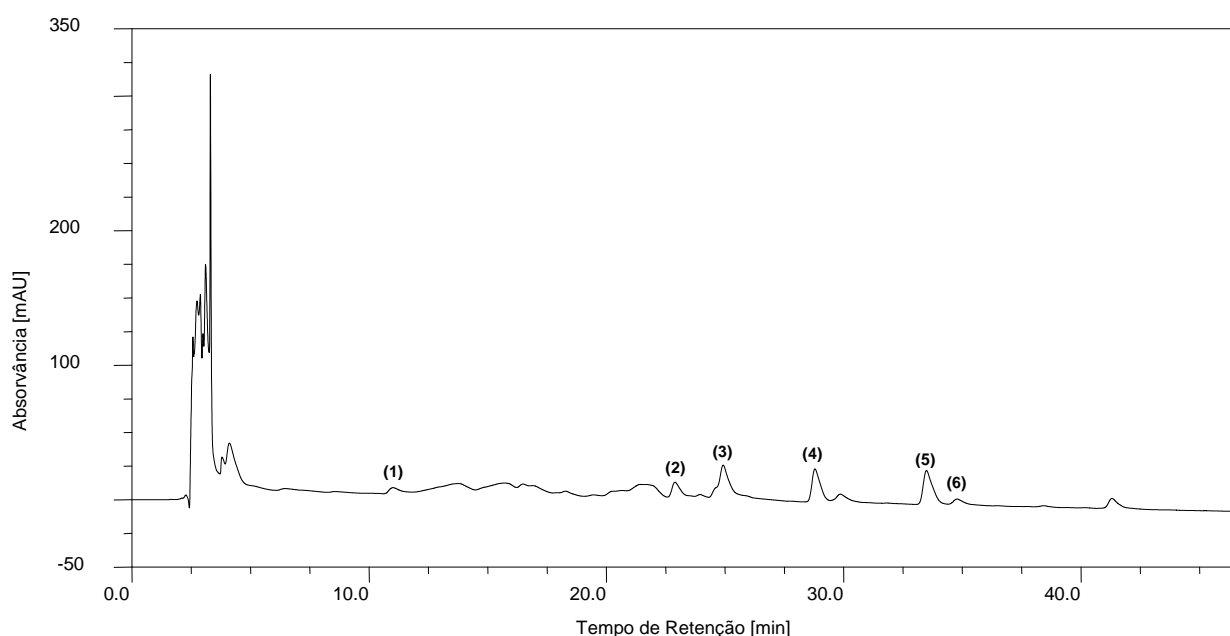


Figura 31. Perfil cromatográfico exemplificativo, obtido a 280 nm, da fracção F1 que continha os ácidos fenólicos presentes no vinagre VT5.

- (1) ácido protocatético; (2) ácido clorogénico; (3) ácido cafeíco; (4) ácido sirínico;
(5) ácido cumárico; (6) ácido hidroxicinámico.

Na Tabela 27, apresentam-se os tempos de retenção dos ácidos fenólicos identificados na fracção F1 do vinagre de vinho tinto VT5. Os ácidos siríngico e protocatético pertencem à classe dos ácidos benzóicos e os ácidos cumárico, cafeíco, clorogénico e hidroxicinâmico, pertencem à classe dos ácidos cinâmicos.

Tabela 27. Compostos identificados, da fracção F1 do vinagre VT7 que continha os ácidos fenólicos e os respectivos tempos de retenção.

Tempo Retenção (min)	Ácido Fenólico
11.01	Ácido protocatético
22.89	Ácido clorogénico
24.93	Ácido cafeíco
28.79	Ácido siríngico
33.49	Ácido cumárico
34.78	Ácido hidroxicinâmico

Na Tabela 28, estão apresentados os teores dos diferentes ácidos fenólicos identificados, a partir das áreas dos respectivos picos cromatográficos obtidos por HPLC utilizando uma recta de calibração obtida com padrões de ácido cafeíco. Para efeitos de cálculo dos teores de ácidos fenólicos dos vinagres estudados, admitiu-se que todos os ácidos fenólicos de cada vinagre tiveram a mesma taxa de recuperação dos compostos fenólicos totais (Tabela 23).

Tabela 28. Teores dos diferentes ácidos fenólicos quantificados nos vinagres de vinho tinto comerciais estudados.

Ácido Fenólico	Vinagres					
	VT1	VT3	VT4	VT5	VT6	VT7
Ácido clorogénico	1.47	<i>ni</i>	<i>ni</i>	1.52	1.13	1.47
Ácido cafeíco	1.79	1.87	2.56	5.0	4.65	2.94
Ácido siríngico	5.14	5.33	7.88	3.96	3.61	5.07
Ácido cumárico	2.77	0.45	0.75	4.44	2.14	3.35
Ácido protocatético	<i>ni</i>	1.39	1.57	0.78	1.46	1.81
Ácido hidroxicinâmico	<i>ni</i>	<i>ni</i>	<i>ni</i>	0.66	<i>ni</i>	0.36
Total	11.17	9.05	12.76	16.36	12.99	14.99

Valores expressos em mg de equivalentes de ácido cafeíco / L de vinagre; (*ni*), não identificado;

Através da análise dos valores da Tabela 28, verifica-se que o vinagre VT5 foi o que apresentou maior teor de ácidos fenólicos (16.36 mg/L), seguido do vinagre VT7 (14.9 mg/L).

Na generalidade dos vinagres estudados, o ácido siríngico foi o ácido fenólico identificado presente em maior concentração (entre 3.61 e 7.88 mg/L), seguindo-se o ácido cafeíco (entre 1.79 e 5.0 mg/L) e do ácido cumárico (entre 0.45 e 4.44 mg/L).

5.3. Determinação da actividade antioxidante total

A actividade antioxidante dos vinagres estudados foi determinada recorrendo-se a dois métodos: o método do DPPH[•] e o método do ABTS^{•+}. Os resultados obtidos na determinação da actividade antioxidante total dos vinagres de vinho tinto e balsâmicos encontram-se representados na Figura 32.

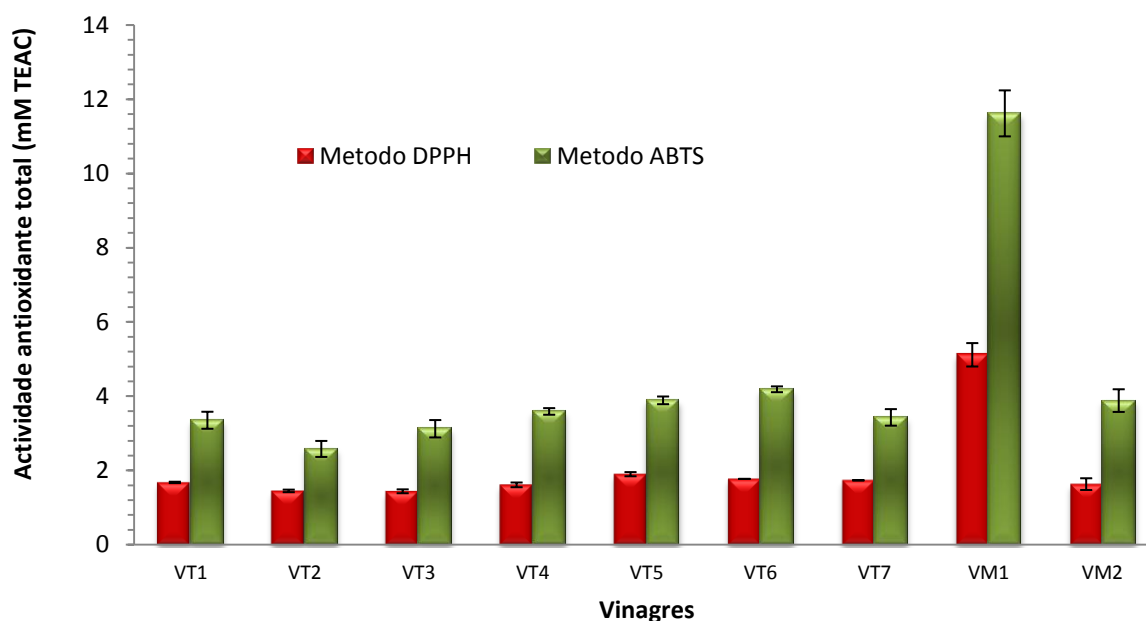


Figura 32. Actividade antioxidante total dos vinagres de vinho tinto e balsâmicos comerciais, determinada pelos métodos DPPH e ABTS.

O vinagre balsâmico tradicional (VM1) foi o que apresentou o valor mais elevado de actividade antioxidante, independentemente do método utilizado, 5.12 mM pelo método DPPH e 11.62 mM pelo método ABTS. Por outro lado, o vinagre balsâmico VM2 apresenta valores semelhantes aos restantes vinagres de vinho tinto estudados. Os

vinagres de vinho tinto apresentaram uma actividade antioxidante total muito semelhante entre si, variando os valores entre 1.44 a 1.90 mM TEAC, com uma média de 1.66 mM TEAC para o método DPPH e entre 2.58 a 4.19 mM TEAC, com uma média de 3.45 mM TEAC para o método ABTS.

Esta tendência está de acordo com os resultados apresentados por Verzelloni *et al.* (2007), que compararam os valores da actividade antioxidante de vinagres de vinho tinto e vinagres balsâmicos, pelo método do ABTS.

Na Figura 33, apresenta-se os valores da actividade antioxidante dos vinagres de vinho branco, de frutas e de cereais estudados.

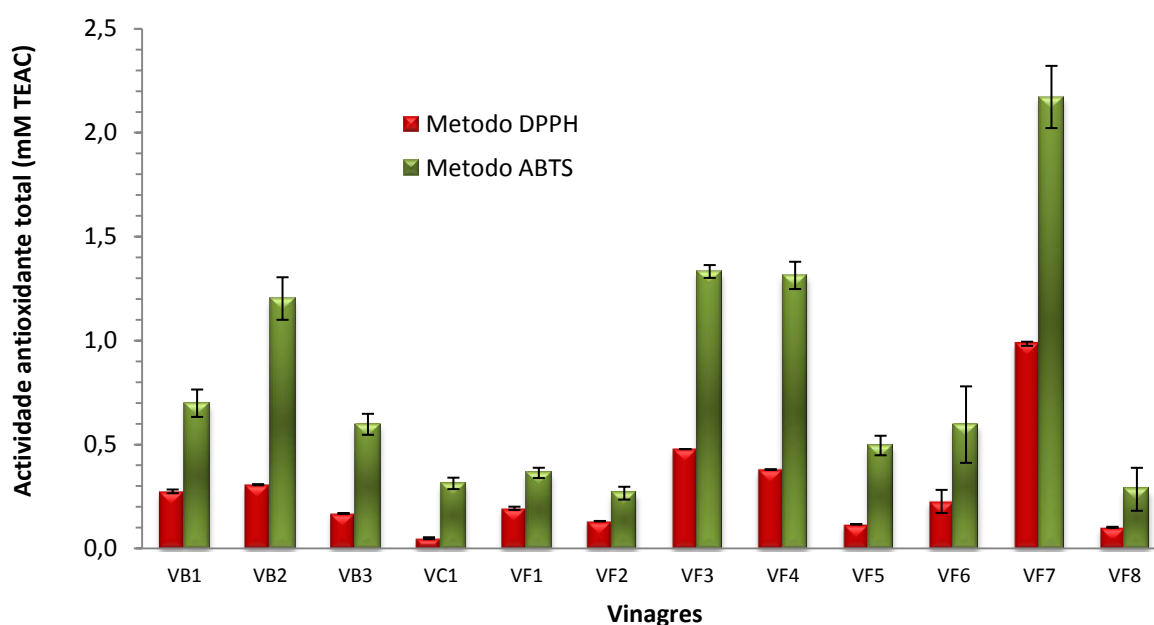


Figura 33. Actividade antioxidante total dos vinagres de vinho branco, de frutas e de cereais estudados determinada pelos métodos DPPH e ABTS.

Pela análise da Figura 33, é possível verificar que ocorreu uma grande variabilidade de resultados relativamente à actividade antioxidante total quantificada nos vinagres de vinho branco, de frutas e de cereais estudados. Os valores obtidos foram independentes dos dois métodos utilizados.

O vinagre de fruta VF7, foi o que apresentou um valor médio de actividade antioxidante total mais elevado (0.98 mM TEAC e 2.17 mM TEAC, respectivamente pelo método DPPH e ABTS), seguindo-se ainda outros vinagres de fruta (VF3 e VF4). O vinagre de

arroz (VC1) foi o que apresentou actividade antioxidante total mais baixa (0.05 mM TEAC e 0.31 mM TEAC, respectivamente pelo método DPPH e ABTS).

Pode ainda verificar-se por comparação dos resultados da Figura 32 e da Figura 33 que os vinagres de vinho tinto apresentaram uma actividade antioxidante total bastante superior aos restantes vinagres, apresentando valores cerca de duas vezes superiores, com a excepção dos vinagres balsâmicos que apresentam valores muito superiores.

Gonçalves *et al.* (2010) num estudo realizado com vinagres comerciais portuguesas, obtiveram também valores superiores de actividade antioxidante determinada pelos métodos DPPH e ABTS para vinagres balsâmicos (9.33 e 8.72 mM TEAC, pelo método DPPH e ABTS, respectivamente), relativamente aos vinagres de vinho tinto e valores inferiores para vinagres de vinho branco, frutas e cereais. Resultados semelhantes foram também obtidos por Verzelloni *et al.* (2007), que compararam os valores da actividade antioxidante de diversos vinagres de vinho tinto, entre os quais vinagres Balsâmicos. O método do ABTS deu origem a valores absolutos superiores aos obtidos pelo método DPPH.

Na Tabela 29, encontram-se apresentados os valores da correlação linear da actividade antioxidante entre os métodos DPPH e ABTS para os vinagres comerciais estudados.

Tabela 29. Correlação linear entre os dois métodos (DPPH e ABTS) utilizados na avaliação da actividade antioxidante total dos vinagres comerciais estudados.

Vinagres	R ²
Todos	0.987
Vinho Branco/Cereais/Frutas	0.898
Vinho Tinto/Balsâmicos	0.988

R², Coeficiente de correlação linear.

Os valores de correlação obtidos mostram que, ocorreu uma correlação elevada entre os dois métodos utilizados, o que está de acordo com o descrito por Gonçalves *et al.* (2010).

Xu *et al.* (2004), consideraram que existiu uma relação directa entre os valores da absorvância dos vinagres a 420 nm, com a sua actividade antioxidante total, o que

também se verifica neste estudo, pois os vinagres com valores de absorvância maiores, para este comprimento de onda (Tabela 19), foram também os que apresentam um teor mais elevado de compostos fenólicos totais e uma maior actividade antioxidante total. De um modo geral, as amostras de vinagre com cores mais escuras tenderam a apresentar também maior teor em compostos fenólicos totais (independentemente do método utilizado).

Os resultados obtidos na determinação da actividade antioxidante total dos vinagres, apresentaram a mesma tendência evidenciada na composição fenólica apresentada na Tabela 21. Assim, os vinagres com maiores valores em compostos fenólicos totais, foram no geral os que evidenciaram valores mais elevados de actividade antioxidante. Pinsirom *et al.* (2008), num estudo realizado em vinagres comerciais também constataram a mesma tendência.

Na Tabela 30 está apresentada a correlação linear, entre a actividade antioxidante dos vinagres, pelos métodos do DPPH* e do ABTS** e os teores em compostos fenólicos totais dos vinagres obtidos pelos métodos Folin-Ciocalteau e IPT.

Tabela 30. Correlação linear entre a actividade antioxidante total e os teores em compostos fenólicos totais dos vinagres comerciais estudados.

Vinagres	Métodos	R ²
Todos	DPPH Vs Folin-Ciocalteau	0.796
Todos	ABTS Vs Folin-Ciocalteau	0.821
Vinho Branco/Cereais/Frutas	DPPH Vs Folin-Ciocalteau	0.770
Vinho Branco/Cereais/Frutas	ABTS Vs Folin-Ciocalteau	0.598
Vinho Tinto/Balsâmicos	DPPH Vs Folin-Ciocalteau	0.643
Vinho Tinto/Balsâmicos	ABTS Vs Folin-Ciocalteau	0.696
Todos	DPPH Vs IPT	0.288
Todos	ABTS Vs IPT	0.321
Vinho Branco/Cereais/Frutas	DPPH Vs IPT	0.168
Vinho Branco/Cereais/Frutas	ABTS Vs IPT	0.082
Vinho Tinto/Balsâmicos	DPPH Vs IPT	0.169
Vinho Tinto/Balsâmicos	ABTS Vs IPT	0.213

R², Coeficiente de correlação linear.

Como se pode observar a partir da Tabela 30, existiu uma correlação elevada entre a actividade antioxidante total dos vinagres e a sua composição fenólica total, determinada pelo método Folin-Ciocalteu. No entanto, no caso da determinação dos compostos fenólicos totais pelo índice de polifenóis totais (IPT) os valores das correlações obtidas foram muito baixos.

A correlação elevada entre actividade antioxidante total e o teor em compostos fenólicos totais também foi verificada por outros autores (Sun *et al.*, 2002; Chinnici *et al.*, 2004) que encontraram uma correlação elevada entre a actividade antioxidante e o índice de polifenóis totais em frutas e sumos, matérias-primas estas utilizadas na produção de vinagres. Alonso *et al.* (2004), obtiveram correlações elevadas entre a actividade antioxidante e a composição fenólica total em vinagres de vinho. Resultados similares foram ainda obtidos em vinagres comerciais por outros autores (Pinsirodom *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2010).

O facto dos valores dos coeficientes de correlação embora em alguns casos sejam elevados, não o são na totalidade, o que poderá ficar a dever-se de acordo com Dávalos *et al.* (2005), ao facto da fermentação acética conduzir a um decréscimo dos teores em compostos fenólicos com elevado potencial antioxidante e/ou conduzir à formação de novos compostos fenólicos com valores mais reduzidos de actividade antioxidante relativamente aos inicialmente presentes por exemplo nos vinhos utilizados na elaboração dos vinagres.

5.3.1. Determinação da actividade antioxidante das três fracções fenólicas

Na Figura 34, encontram-se apresentados os resultados da actividade antioxidante total, das fracções fenólicas obtidas nos diversos vinagres de vinho tinto (F1, F2 e F3).

Os resultados da determinação da actividade antioxidante das diferentes fracções fenólicas mostram que a fracção F3 foi a fracção com maior capacidade antioxidante, com valores entre 0.93 a 1.26 TEAC mM com média de 1.11 mM TEAC para o método DPPH e entre 1.29 a 2.72 mM TEAC com média de 1.80 mM TEAC para o método ABTS, seguida da fracção F1 com valores entre 0.25 a 0.49 mM TEAC com média de 0.37 mM TEAC para o método DPPH e entre 0.49 a 0.96 mM TEAC com média de 0.77 mM TEAC para o método ABTS. A fracção F2 foi a que apresentou menor actividade

antioxidante, com valores entre 0.03 a 0.11 mM TEAC com média de 0.06 mM TEAC para o método DPPH e entre 0.10 a 0.25 mM TEAC com média de 0.15 mM TEAC para o método ABTS. A mesma tendência foi verificada por Sun *et al.* (2006) num estudo sobre o fraccionamento de compostos fenólicos em vinhos tintos.

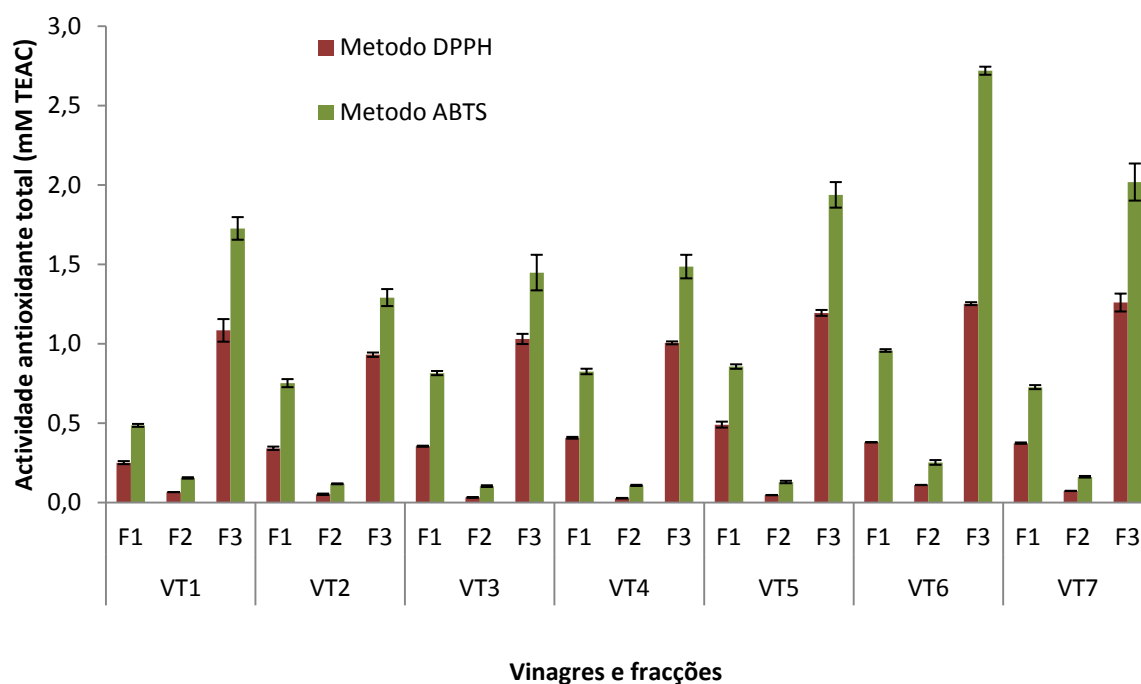


Figura 34. Actividade antioxidante total das fracções fenólicas dos compostos fenólicos dos vinagres de vinho tinto, obtida pelos métodos DPPH e ABTS.

Os valores da taxa de contribuição de cada uma das fracções para a actividade antioxidante encontram-se apresentados na Tabela 31.

A actividade antioxidante da fracção F3 foi a que maior contribuição apresentou para a actividade antioxidante dos vinagres, variando entre 69 a 77% para o método DPPH e 60 a 73% para o método ABTS. A fracção F1 foi a que em segundo lugar mais contribuiu para a actividade antioxidante dos vinagres com valores de 18 a 28%, para o método DPPH e 21 a 35 % para o método ABTS.

Tabela 31. Taxa de contribuição (%) das 3 fracções fenólicas dos vinagres de vinho tinto para a actividade antioxidante total dos vinagres.

Vinagres	Fracção	Taxa Contribuição (%)	
		DPPH	ABTS
VT1	F1	18	21
	F2	5	7
	F3	77	73
VT2	F1	26	35
	F2	4	5
	F3	70	60
VT3	F1	25	34
	F2	2	4
	F3	73	61
VT4	F1	28	34
	F2	2	4
	F3	70	61
VT5	F1	28	29
	F2	3	4
	F3	69	66
VT6	F1	22	24
	F2	6	6
	F3	72	69
VT7	F1	22	25
	F2	4	6
	F3	74	69

Estes resultados estão na mesma linha dos valores apresentados para as diferentes fracções ao nível da composição fenólica (Tabela 24), visto que também foi a fracção F3 a que apresentou maior teor em compostos fenólicos totais e como tal foi a que apresentou valores de actividade antioxidante mais elevados.

Por outro lado, é ainda possível constatar com estes resultados que são as proantocianidinas poliméricas, as antocianinas e os compostos poliméricos (fracção F3) aqueles que mais contribuem para a actividade antioxidante total dos vinagres de vinhos tintos.

Como se pode verificar através da análise da Tabela 32, a taxa de recuperação da actividade antioxidante das fracções fenólicas dos vinagres compreendeu em média 93% (intervalo entre 83 e 98%) para o método DPPH e 79% (intervalo entre 67 e 94%) para o método ABTS da actividade antioxidante total obtida nos vinagres de vinho tinto.

De salientar ainda que para todos os vinagres de vinho tinto estudados verificou-se que a percentagem de recuperação da actividade antioxidante foi maior no caso da utilização do método do DPPH.

Tabela 32. Taxa de recuperação da actividade antioxidante total resultante da soma das fracções F1, F2 e F3 relativamente à actividade antioxidante total quantificada nos vinagres de vinho tinto.

Vinagres	Taxa Recuperação (%)	
	DPPH	ABTS
VT1	83	70
VT2	91	84
VT3	98	76
VT4	89	67
VT5	91	75
VT6	98	94
VT7	98	85

5.4. Análise dos componentes principais (PCA)

A análise em componentes principais foi obtida a partir de um modelo com 75,7 % de variância total explicada das variáveis iniciais.

Na Figura 35, encontra-se representado gráficamente a projecção das variáveis iniciais sobre as componentes principais extraídas (PC 1 e PC 2).

As variáveis iniciais com maior peso para a componente principal 1 (PC 1) são: compostos fenólicos totais, extracto seco, pH e actividade antioxidante, enquanto que a acidez volátil, acidez total e a actividade antioxidante são as variáveis com maior peso para a componente principal 2 (PC 2). Constata-se ainda que a actividade antioxidante é uma variável que vai influenciar as duas componentes principais.

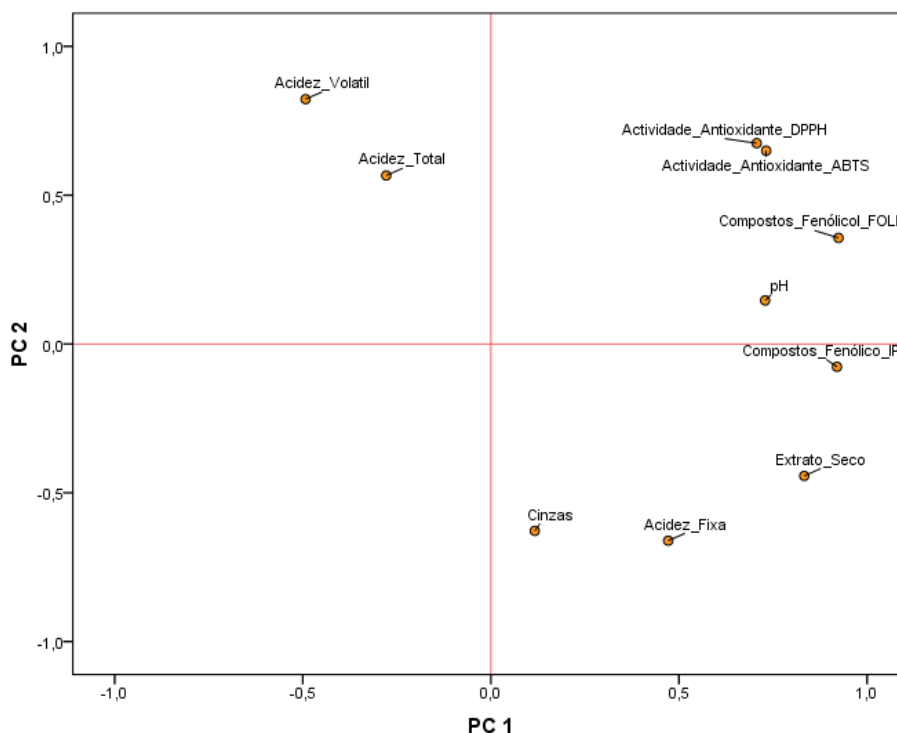


Figura 35. Relação entre a componente principal 1 (PC 1) e a componente principal 2 (PC 2), para as variáveis estudadas nos diversos vinagres comerciais estudados.

Na Figura 36, encontra-se representada gráficamente a projecção sobre as componentes principais 1 e 2 (PC 1 e PC 2) dos vinagres analisados.

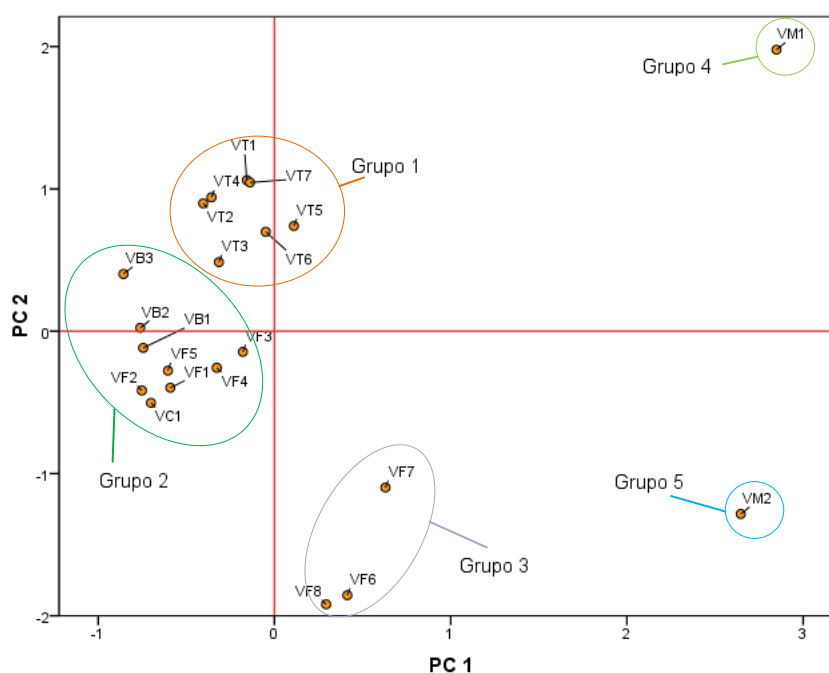


Figura 36. Relação entre a componente principal 1 (PC 1) e a componente principal 2 (PC 2), para as amostras dos vinagres comerciais estudados.

Pela observação da Figura 36, constata-se um certo agrupamento de alguns vinagres em cinco grupos, correspondentes a três grupos com vários vinagres e dois grupos com um só vinagre cada (vinagres balsâmicos VM1 e VM2). Os vinagres de vinho tinto formam o grupo 1 em que estes apresentam valores negativos para PC1 e valores positivos para PC2. O grupo 2, constituído pelos vinagres de vinho branco, de frutos e de cereais (VB1, VF1, VF2, VF3, VC1, VF4, VB2, VB3, VF5) apresentou valores negativos para PC1 e valores próximos do zero para PC2. Os vinagres VF6, VF7 e VF8 formam um grupo (grupo 3) com PC1 positivo e PC2 negativo. Os dois vinagres balsâmicos VM1, VM2, que não se enquadram em nenhum dos grupos descritos formam o quarto e quinto grupo, respectivamente. Assim, o grupo 4 apresenta valores altos e positivos para PC1 e PC2 e o grupo 5 apresenta valores altos e positivos para PC1 e valores negativos para PC2

Na Tabela 33, estão apresentados os valores médios, os desvios padrão e os coeficientes de variação para as variáveis estudadas referentes aos três grupos de vinagres formados na análise de componentes principais

Tabela 33. Valores médios, para as variáveis estudadas dos três grupos de vinagres formados a partir da análise de componentes principais.

Variáveis	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Acidez total ^a	7.1±0.59(8)	6.0±0.76(13)	6.4±0.77(12)
Acidez fixa ^a	0.2±0.03(22)	0.2±0.15(71)	2.3±0.60(26)
Acidez volátil ^a	7.0±0.58(8)	5.8±0.71(12)	4.1±0.19(5)
Extracto seco ^a	1.802±0.29(16)	1.8±0.40(22)	22.0±1.70(8)
Cinzas ^b	2.605±0.23(9)	1.9±0.36(19)	12.9±4.51(35)
pH	3.014±0.09(3)	3.0±0.11(4)	3.1±0.00(0)
Actividade antioxidante (DPPH) ^c	1.7±0.17(10)	0.2±0.14(59)	0.4±0.48(109)
Actividade antioxidante (ABTS) ^c	3.5±0.52(15)	0.7±0.44(60)	1.0±1.01(99)
Compostos. Fenólicos (Folin) ^d	896.7±109.42(12)	213.9±68.27(32)	542.5±273.16(50)
Compostos. Fenólicos (IPT)	19.3±1.09(6)	7.5±2.52(34)	38.4±8.66(23)

± desvio padrão (coeficiente de variação); ^a valores em %; ^b valores em g/L; ^c valores em TEAC mM/L; ^d valores em GAE mg/L.

Pela observação da Tabela 33, constata-se que os vinagres constituintes do grupo 1 apresentam valores médios maiores para as variáveis: acidez total (7.1 %), acidez volátil (7.0 %), actividade antioxidante (DPPH: 1.7 TEAC mM/L; ABTS: 3.5 TEAC mM/L), compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu: 896.7 GAE mg/L). Os vinagres pertencentes ao grupo 3 apresentam valores maiores para as variáveis: acidez fixa (2.3 %), extracto seco total (22.0 %), cinzas (12.9 g/L), pH (3,1), compostos fenólicos totais (38.4 índice IPT). Assim, confirma-se mais uma vez que embora exista uma correlação positiva entre a actividade antioxidante dos vinagres e a sua composição fenólica total (DPPH Vs Folin-Ciocalteu: $R^2 = 0,796$; ABTS Vs Folin-Ciocalteu: $R^2 = 0,821$), a actividade antioxidante dos vinagres possa ser influenciada por outros factores para além da sua composição fenólica.

5.5. Análise sensorial

5.5.1. Análise sensorial discriminativa

Para a análise sensorial discriminativa dos vinagres de frutas o painel de provadores foi inicialmente constituído por 18 provadores semi-treinados em relação ao atributo cor. Tendo sido 17 provadores para a avaliação dos atributos aroma e sabor. Contudo, e devido à falta de comparência de alguns dos provadores, a análise sensorial discriminativa dos vinagres de vinho tinto (atributos cor, aroma e sabor) o painel foi constituído apenas por 14 provadores.

Foram utilizadas, para a análise sensorial discriminativa, fichas de provas (ANEXO 3) e os resultados foram analisados e representados resumidamente (ANEXO 5 e ANEXO 6).

Na Tabela 34, estão apresentados os valores calculados para as somas das ordens dos vinagres de frutas e de vinho tinto, respectivamente, relativos aos atributos cor, aroma e sabor, cujos valores referentes a cada provador se encontram no ANEXO 7.

Tabela 34. Valores das somas das ordens para os vinagres de frutas e de vinho tinto, relativamente aos atributos cor, aroma e sabor.

Vinagres	Atributo		
	Cor	Aroma	Sabor
VF1	92.5	77.5	55.5
VF2	95.5	74.5	73.5
VF3	101.5	68.0	82.0
VF4	108.5	65.0	67.5
VF5	106.0	92.0	87.0
VF6	51.0	99.0	101.5
VF7	38.0	70.5	68.5
VF8	55.0	65.5	76.5
VT1	39.0	67.0	58.5
VT2	39.0	52.0	53.0
VT3	44.0	45.0	58.5
VT4	67.0	64.0	52.5
VT5	69.0	62.0	41.0
VT6	80.0	48.0	55.0
VT7	54.0	54.0	73.5

Os valores de *Friedman* (Fr) calculados para os vinagres, relativamente aos atributos cor, sabor e aroma, encontram-se apresentados na Tabela 35, bem como os valores críticos (χ^2), obtidos para os graus de liberdade correspondentes ao número de amostras analisadas simultaneamente.

Tabela 35. Valores de *Friedman* calculados para cada grupo de vinagres e valores críticos (χ^2) tabelados.

Atributo	Vinagres tintos ¹		Vinagres de Frutas ²	
	Valores de <i>Friedman</i> (Fr)	Valores críticos (χ^2)	Valores de <i>Friedman</i> (Fr)	Valores críticos (χ^2)
Cor	24.37*	12.59	51.56*	14.07
Sabor	8.66	12.59	13.34	14.07
Aroma	6.52	12.59	10.91	14.07

¹ sete amostras; ² oito amostras; * amostras significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Para o parâmetro cor, as amostras de vinagres do grupo de vinho tinto, assim como as do grupo de vinagres de frutas apresentam diferenças significativas entre duas ou mais amostras, considerando uma probabilidade de 95% ($p \leq 0,05$) de confiança, pois o valor

de *Friedman* calculado para cada grupo foi superior ao do valor tabelado (χ^2). Contudo, quanto aos restantes parâmetros avaliados (aroma e sabor) e para cada grupo, as amostras apresentaram semelhanças entre si.

Relativamente ao atributo cor, cujas amostras de vinagres de vinho tinto e de frutas apresentaram diferenças significativas entre si, foi calculado a diferença mínima de significância (DMS), com um grau de confiança de 95% ($p \leq 0.05$), para averiguar a igualdade/diferença entre as amostras de vinagres de cada grupo, cujos resultados se encontram apresentados no ANEXO 8.

Nos vinagres de vinho tinto verificou-se a formação de 3 grupos distintos, podendo ser representados da seguinte forma:

VT1^a VT2^a VT3^a VT4^{cb} VT5^{cb} VT6^b VT7^a

Nesta representação, todas as amostras com o mesmo código (a, b ou c) são não distinguíveis e as amostras com códigos diferentes são distinguíveis.

Os resultados mostraram que as amostras VT1, VT2, VT3 e VT7 são semelhantes entre si, assim como as amostras VT4 e VT5.

Nos vinagres de frutas verificou-se a formação de 2 grupos distintos, podendo ser representados da seguinte forma:

VF1^a VF2^a VF3^a VF4^a VF5^a VF6^b VF7^b VF8^b

Os resultados mostram que as amostras VF1, VF2, VF3, VF4 e VF5 são semelhantes entre si assim como as amostras VF6, VF7 e VF8.

Na Figura 37, estão representados graficamente os valores em percentagem (%), das somas relativas das ordens para as amostras, relativamente aos atributos cor, aroma e sabor. Como se pode constatar, através dos resultados obtidos, verificou-se uma grande dispersão dos resultados não se podendo afirmar concretamente qual, ou quais, os vinagres aos quais foi atribuído uma maior classificação relativamente a todos os atributos considerados por parte dos provadores. Apenas se pode separadamente e para cada atributo realçar o vinagre mais apreciado pelo grupo de provadores em causa.

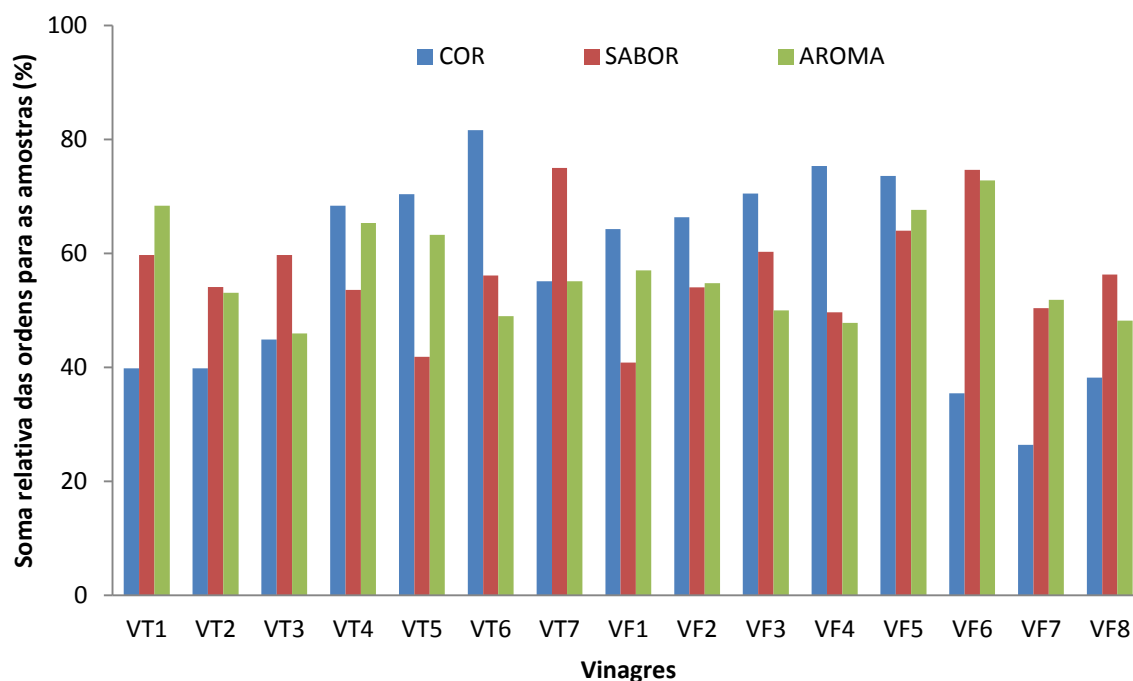


Figura 37. Somas relativas das ordens para as amostras de vinagre estudadas relativamente aos atributos, cor, sabor e aroma.

5.5.2. Análise sensorial descritiva

Os resultados obtidos (média, desvio padrão, coeficiente de variação) na análise sensorial descritiva, dos quatro vinagres seleccionados para estudo (VT5, VT6, VF3 e VF6), encontram-se apresentados na Tabela 36.

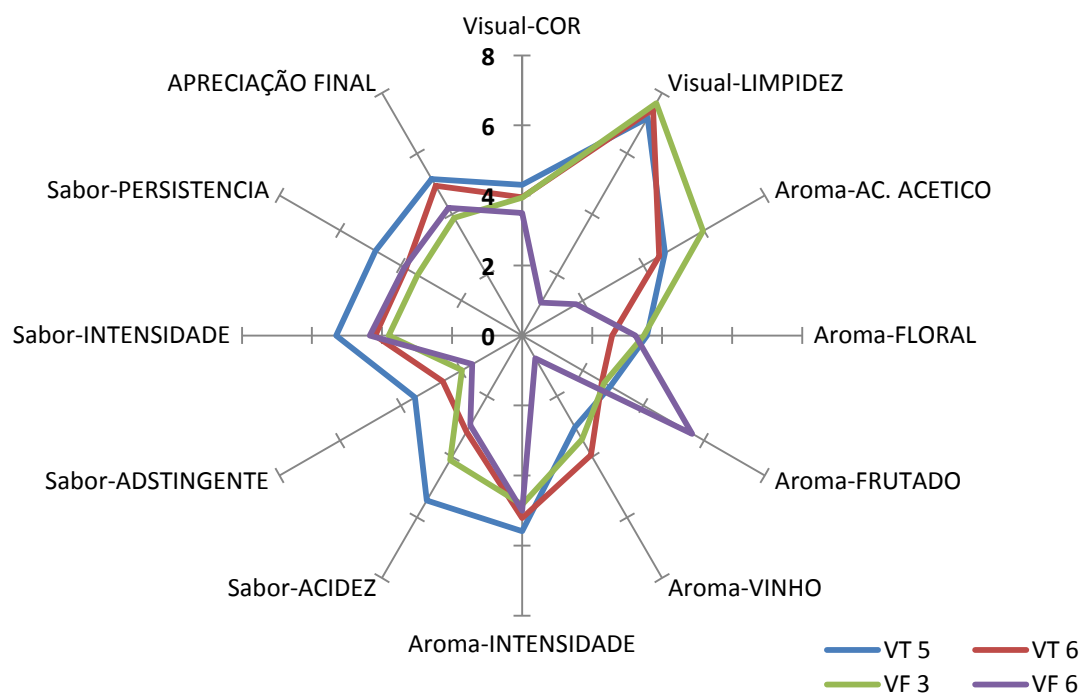
O coeficiente de variação (CV) permite avaliar a consistência do painel de provadores, representando o nível de concordância para cada amostra. Genericamente, o valor do CV considera-se de bom, ou razoável, quando compreendido entre 20-30% (Hollowood *et al.*, 2009). Como se pode observar na Tabela 36, os valores do CV, para a generalidade dos atributos, são bastante elevados, demonstrando pouca concordância dos provadores relativamente aos atributos em causa. Esta situação deve-se ao facto de a prova de vinagres ser bastante difícil de se realizar devido ao seu elevado teor de ácido acético que ao nível do aroma e sabor pode “mascarar” e saturar determinados atributos. Esta constatação também foi verificada por Tesfaye *et al.* (2009) num estudo realizado com vinagres de vinho Xerês tinto.

Tabela 36. Resultados obtidos na análise sensorial descritiva dos vinagres seleccionados.

Parâmetros	Vinagres			
	VT5	VT6	VF3	VF6
Visual				
Cor	4.3±2.6(60)	3.9±2.4(62)	3.9±2.8(71)	3.5±2.1(60)
Limpidez	7.2±1.9(26)	7.5±2.1(28)	7.7±2.2(28)	1.1±0.7(66)
Aroma				
Ac. Acético	4.7±2.6(56)	4.5±2.6(56)	6.0±2.6(44)	1.8±1.4(80)
Floral	3.6±1.9(54)	2.6±1.7(64)	3.5±2.3(66)	3.2±2.7(84)
Frutos	2.9±1.6(54)	2.6±1.3(49)	2.7±1.9(71)	5.6±2.9(51)
Vinho	3.0±2.3(74)	3.9±2.2(55)	3.4±2.9(85)	0.8±0.6(73)
Intensidade	5.6±2.1(38)	5.2±2.3(45)	4.8±2.3(47)	5.0±2.5(50)
Sabor				
Acidez	5.4±2.1(39)	3.2±1.9(61)	4.1±2.5(61)	3.0±2.0(67)
Adstringente	3.5±2.3(65)	2.6±1.9(73)	2.0±1.8(89)	1.6±1.4(85)
Intensidade	5.3±1.8(33)	4.2±2.3(54)	3.8±1.7(44)	4.4±2.4(56)
Persistência	4.8±2.0(41)	3.8±2.2(58)	3.5±2.1(62)	3.9±2.5(65)
Apreciação final	5.2±1.5(28)	4.9±2.1(42)	3.9±2.2(57)	4.2±2.7(66)

Valores apresentados como: média ± desvio padrão (coeficiente de variação)

A partir dos valores médios obtidos na análise sensorial descritiva, e para os atributos em estudo, foi possível efectuar a representação gráfica do perfil sensorial dos quatro vinagres comerciais considerados (Figura 38).

**Figura 38.** Perfil sensorial dos vinagres de vinho (VT5 e VT6) e dos vinagres de frutas (VF3 e VF6) estudados.

Pela análise da Figura 38, verificou-se que os vinagres VT5, VT6 e VF3 apresentaram um perfil sensorial idêntico, enquanto que o vinagre VF6 apresenta um perfil sensorial bastante diferente dos restantes. Assim, o vinagre VF6 diferiu dos restantes apresentando um valor médio baixo ao nível da limpidez (visual) e do aroma a vinho. Em contrapartida um valor médio bastante elevado ao nível do aroma frutado. O vinagre VF6 foi caracterizado como sendo um vinagre não límpido, com sabor a frutos e sem aroma a vinho. Enquanto que os restantes vinagres foram caracterizados por ter um aspecto visual bastante límpido, uma intensidade de aroma e sabor maior e um aroma a ácido acético e acidez acentuado, sendo pouco adstringentes.

Quanto à apreciação final dos vinagres por parte dos provadores, os vinagres VT5 e VT6 foram os mais apreciados.

6. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com a realização deste trabalho, foi possível efectuar uma caracterização físico-química, uma análise do potencial antioxidante, e uma caracterização da composição fenólica de vários vinagres comercializados no mercado português.

Os vinagres elaborados a partir de vinho tinto foram os que apresentaram teores em compostos fenólicos mais elevados, em particular os vinagres balsâmicos comparativamente aos restantes vinagres estudados (vinagres de vinho branco, de frutas e de arroz). Verificou-se por outro lado, uma correlação elevada entre a composição fenólica e a actividade antioxidante total dos vinagres estudados. No caso dos vinagres de vinho tinto, a fracção fenólica constituída pelas antocianinas, proantocianidinas poliméricas e outros compostos poliméricos, foi a que mais contribuiu para a actividade antioxidante total.

Os resultados obtidos na análise sensorial demonstram que os vinagres de vinho tinto foram os melhores classificados pelos provadores, tendo sido também demonstrada a dificuldade da execução da análise sensorial deste tipo de produto.

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o vinagre poderá ser uma fonte importante de compostos fenólicos, com potencial benéfico para a saúde humana, quando associado ao consumo de outros produtos alimentares saudáveis.

A realização deste trabalho, bem como os resultados nele apresentados poderão contribuir para que o vinagre deixe de ser considerado unicamente como o aproveitamento de subprodutos agro-industriais e que não seja simplesmente considerado como um produto usado para fins culinários com o objectivo maior de satisfação sensorial e que possa ser considerado um complemento à alimentação rica e variada em frutas, legumes e bebidas ricas em compostos fenólicos, contribuindo assim para o aumento da ingestão de substâncias com propriedades antioxidantes na dieta alimentar.

Atendendo ao facto da informação disponível sobre a caracterização dos diferentes vinagres disponibilizados no mercado nacional ser muito reduzida, várias perspectivas de estudos poderão ser realizadas, partindo entre outros aspectos dos resultados já obtidos com a realização do presente trabalho.

Assim, o aprofundamento desta temática poderá assentar, entre outras, nas seguintes linhas de investigação:

- a) A incidência do tipo e das características das matérias-primas utilizadas na elaboração dos vinagres sobre as suas diferentes características;
- b) Estudo da influência das diferentes tecnologias de elaboração utilizadas nas características físico-químicas e em particular na composição fenólica dos vinagres elaborados;
- c) Aprofundamento do estudo da composição fenólica existente nos diferentes vinagres e sua comparação com vinagres provenientes de outras origens;
- d) Caracterização de novas matérias-primas com vista à sua utilização na elaboração de vinagres e a sua aceitabilidade por parte dos consumidores.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. O. A. C. (Association of Official Analytical Chemists) International (2002). *Official Methods of Analysis of A. O. A. C. International* (17ª Edição). A. O. A. C. International.
- Adams MR (1985). Vinegar. In: Microbiology of fermented foods. Wood JB(ed), vol 1. Elsevier, London, 1-49.
- Alonso AM, Castro R, Rodríguez MC, Guillén DA, Barroso CG (2004). Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. *Food Research International*, **37**: 715-721.
- Ancos B, Gonzalez E, Cano MP (1999). Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 208(1): 33-38.
- Andlauer, W, Stumpf, C, Fürst, P (2000). Influence of the acetification process on phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48(8)**, 3533-3536.
- Angelo PM, Jorge N (2007). Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **66(1)**: 232-240.
- Aquarone E, Lima UA, Borzani W (1983). *Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação*. Editora Edgard Blücher, São Paulo , 243 p.
- Aquarone E, Lima UA, Borzani W, Schmidell W (2001). *Biotechnologia na produção de alimentos*. Editora Edgard Blücher, São Paulo, Volume **4**: 1-523. ISBN 85-212-0281-4.
- Zancanaro , O. (2001). Vinagres. In: Aquarone E.; Borzani W.; Schmidell W.: Urgel de Almeida Lima. (Eds.). *Biotechnologia Industrial* (1ª edição). Editora Edgard Blücher, São Paulo, volume. **4**: 183-208.
- Arabbi PR, Genovese MI, Lajolo FM (2004). Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 1124-1131.

Balasundram N, Sundram K, Samman S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, **99(1)**: 191-203.

Bermudez-Soto MJ, Tomás-Barberan FA (2004). Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *The Journal European Food Research and Technology*, **219(2)**: 133-141.

Bortolini F, Sant Anna ES, Torres RC (2001). Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinida deliciosa*): composição dos mostos e métodos de fermentação acética. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **21(2)**: 236-243.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, **28**: 25-30.

Bravo L (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviews*, **56(11)**: 317-333.

Brouillard R (1982). *Chemical structure of anthocyanins*. In "Anthocyanins as food colors". (Markakis P., eds.) Academic Press, New York, pp. 1-40.

Burns J, Gardner PT, O'Neil J, Crawford S, Morecroft I, MC Phail D.B, Lister C, Mathews D, MC Lean MR, Lean MEJ, Duthie GG, Crozier A (2000). Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48(2)**: 220-30.

Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME, Crozier A (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(11)**:3337-3340.

C. I. E. (1986). *Colorimetry* (2ª Edição). Publication CIE No. 15.2. Vienna, Austria: CIE. Related Topics. CIE Color Spaces.

Catherine T, Cyril A, William M, Aurélie B, Jean-Max R, Alan C, Pierre-Louis T (2005). The absorption, metabolism and excretion of flavan-3-ols and procyanidins following the ingestion of a grape seed extract by rats. *British Journal of Nutrition*, **94**: 170–181.

Cerezo AB, Tesfaye W, Torija MJ, Mateo. Carmen García-Parrilla EM, Troncoso AM (2008). The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods. *Food Chemistry*, **109(3)**: 606-615.

Chinnici F, Bendini A, Gaiani A, Riponi C (2004). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(15)**: 4684-4689.

Clifford MN (1997). Astringency. In *Phytochemistry of fruits and vegetables (Proceedings of the Phytochemical Society of Europe)*. Tomas-Barberam FA, Robins RJ. Oxford Univ Pr on Demand, Clarendon Press: 87-107. ISBN 01-9857-790-7.

Clifford MN (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80(7)**:1063-1072.

Dallas C, Laureano O (1994). Effects of pH, sulphur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on colour composition of a young Portuguese red table wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **65**: 477-485.

Das M, Das DK (2010). Resveratrol and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, **31(6)**:503-512.

Dávalos A, Bartolomé B, gómez-Cordovés C (2005). Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry*, **93(2)**: 325-330.

Decker EA (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants?. *Nutrition Reviews*, **55(11)**: 396-407.

Degáspari CH, Waszczyński N (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, **5(1)**: 33-40.

Delgado-Vargas F, Paredes-López O (2003). *Anthocyanins and betalains*. In “*Natural Colorants for Food and Nutritional Uses*”. CRC Press, Boca Raton, pp: 167-219.

Dinis MJ, Bezerra RMF, Nunes F, Dias AA, Guedes CV, Ferreira LMM, Cone JW, Marques GSM, Barros ARN, Rodrigues MAM (2009). Modification of wheat straw lignin by solid state fermentation with white-rot fungi. *Bioresource Technology*, **100(20)**:4829-35.

DL - Decreto-Lei n.º 174/2007. 08 de Maio. I Série, **88**: 2995.

DL - Decreto-Lei n.º 199/2008. 8 de Outubro. I Série, **195**: 7133.

DL - Decreto-Lei n.º 560/99. 18 de Dezembro. I Série-A, **293**: 9049.

Dugo P, Favoino O, Presti ML, Luppino R, Dogo G, Mondello L (2004). Determination of anthocyanins and related components in red wines by micro- and capillary HPLC. *Journal of Separation Science*, **27(17-18)**, 1458-1466.

Ebihara K, Nakajima A (1998). Effect of acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agricultural and Biological Chemistry*, **52(5)**: 1311-1312.

Eder A (2000). *Pigments in food analysis by HPLC*. (Nollet MLL eds.) Marcel Dekker, New York, pp. 845-880.

Entani E, Tsujihata S, Tsukamoto Y, Ohta M (1998). Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, **61(8)**:953-959.

Erenel G, Erbas D, Aricioglu A (1993). Free radicals and antioxidant systems. *Materia Medica Polona*, **1(85)**: 37-43.

Evangelista J (2001). Microrganismos e enzimas de utilidade na indústria de alimentos. In: *Tecnologia de alimentos* (2ª Edição), São Paulo: 245-281. ISBN:857379075X.

Fan-Chiang H-J, Wrolstad RE (2005). Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science*, **70(3)**: C198-C202.

FAO/OMS-Codex Alimentarius (1985). Codex Stan 1-1985 - "General standard for the labelling of prepackaged foods".

FAO/OMS-Codex Alimentarius (1987). Codex Stan 162-1987- "Proposed draft revised regional standard for vinegar".

Ferreres F, Gil MI, Tomás-Barberán FA (1996). Anthocyanins and flavonoids from shredded red onion and changes during storage in perforated films. *Food Research International*, **29(3-4)**: 389-395.

Franke AA, Custer LJ, Arakaki C, Murphy SP (2004). Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, **17(1)**: 1-35.

Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE (1993). Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet Journal*. **341**: 454-457.

Frankel EN, Waterhouse AI, Teissedre PL (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43(4)**, 890-894.

Fushimi T, Tayma K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y. Sato Y (2001). Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *Journal of Nutrition*, **131**: 1973-1977.

Gambelli L, Santorini GP (2004). Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *Journal of Food Composition and Analysis*, **17**: 613-618.

Gao L, Mazza G (1994). Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *Journal of Food Science*, **59(5)**: 1057-1059.

García-Alonso M, Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, **84**: 13-18.

Garcia-Vigera C, Zafrilla P, Tomás-Barberán FA (1998). The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. *Phytochemical Analysis*, **9(6)**: 274-277.

Gennaro L, Leonardi C, Esposito F, Salucci M, Maiani G, Quaglia G, Fogliano V (2002). Flavonoid and carbohydrate contents in tropea red onions: Effects of homelike peeling and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(7)**: 1904-1910.

Giusti MM, Ghanadan H, Wrolstad RE (1998). Elucidation of the structure and conformation of red radish (*Raphanus sativus*) anthocyanins using one- and two

dimensional nuclear magnetic resonance techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46(12)**: 4858-4863.

Glories Y 1 (1984). La couleur des vins rouges, 2^a. Partie: mesure, origine et interpretation. *Connaissance Vigne et Vin*, **18(4)**: 253-271.

Gómez-Plaza E, Gil-Muñoz R, López-Roca JM, Martínez A (1999). Color and phenolic compounds of a young red wine as discriminating variables of its ageing status. *Food Research International*, **32(7)**, 503-507.

Gonçalves FJ, Ramirez RR, Santos SL, Correia AC, Jordão AM (2010). Avaliação da capacidade antioxidante e da composição fenólica de vinagres comercializados no mercado português. In: Livro de actas: *8^o Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo*: 387-395.

Gu L, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of Nutrition*, **134(3)**:613-617.

Guzmán M (1998). *El vinagre, características, atributos y control de calidad*. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid. ISBN: 9788479783150.

Hadfield LC, Beard LP, Leonard-Green TK (1989). Calcium content of soup stocks with added vinegar. *Journal of the American Dietetic Association*, **89(12)**: 1810-1811.

Harborne JB (1989). *General procedures and measurement of total phenolics*. In: Harborne JB. *Methods in plant biochemistry: volume 1 Plant phenolics*. London: Academic Press, 1-28.

Harborne JB (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (2^a Edição). Chapman e Hall, New York, pp. 66-74. ISBN 0412572605.

Harborne JB, Baxter H, Moss GP (1998). *Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants* (2^a Edição). London, CRC Press. ISBN 0-7484-0620-4.

Harnly JM, Doherty R, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Bhagwat S (2006). Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(26)**: 9966-9977.

Haslam E. (1998). Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. *Cambridge University Press*.

Hollowood T, Hort J, Kemp SE (2009). *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*. United Kingdom. Wiley-Blackwell, 66-118. ISBN 978-1-4051-6210-4.

Hurst WJ, Glinski JA, Miller KB, Apgar J, Davey MH, Stuart DA (2008). Survey of the trans-Resveratrol and trans-Piceid Content of Cocoa-Containing and Chocolate Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56(18)**: 8374–8378.

ISO 3591-1977. Sensory analysis - Apparatus - Wine-tasting glass.

ISO 4121-1987. Sensory analysis - Methodology - Evaluation of food products by methods using scales.

ISO 5492-1992. Sensory analysis — Vocabulary.

ISO 8586.1-1993. Sensory analysis - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors - Part 1: Selected assessors.

ISO 8587-1988. Sensory analysis - Methodology — Ranking.

ISO 8589-1988. Sensory analysis - General guidance for the design of test rooms.

Iversen CK (1999). Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *Journal of Food Science*, **64(1)**: 37-41.

IVV, IP (2011). *Vinhos e aguardentes de Portugal – Anuario 2010/11*. Instituto da Vinha e do Vinho, IP.

Johnston CS, Buller AJ (2005). Vinegar and peanut products as complementary foods to reduce postprandial glycemia. *Journal of the American Dietetic Association*, **105(12)**: 1939-1942.

Jordão, A. M. (1999). Estrutura e composição das proantocinidinas da uva. Evolução ao longo da maturação. *Revista Millenium* **19**. ISSN (edição electrónica) 1647-662X.

Jordão, A.M., Ricardo-Da-Silva, J.M., Laureano, O., Mullen, W., Crozier, A. (2008). Effect of ellagitannins, ellagic acid and volatile compounds from oak wood on the (+)-catechin, procyanidin B1 and malvidin-3-glucoside content of model wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **14 (3)**: 260-270.

Kaack K, Austed T (1998). Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52(3)**: 187-19.

Kähkönen MP, Heinamaki J, Ollilainen V, Heinonen M (2003). Berry anthocyanins: isolation, identification, and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 1403-1411.

Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47(10)**: 3954-3962.

King A, Young G (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, **50(2)**: 213-8.

Kondo S, Tayama K, Tsukamoto Y, Ikeda K, Yamori Y (2001). Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **65**: 2690-2694.

Kong J-M, Chia L-S., Goh N-K, Chia TF, Brouillard R (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, **64(5)**: 923-933.

Kubow S (1993). Lipid oxidation products in food and atherogenesis. *Nutrition Reviews*, **51(2)**: 33-40.

Kuskoski EM, Asuero AG, Morales MT, Feet R (2006). Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: actividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, **36(4)**: 1283-1287.

Lachance PA, Nakat Z, Jeong WS (2001). Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition*, **17**:8358.

Lamuela-Raventos RM, Waterhouse AL (1999). Resveratrol and piceid in wine. *Oxidants and Antioxidants*, **299**:184-190.

Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES (2002). Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. *Scientia Agricola*, **59(3)**: 447-450.

Llaguno C, Polo M.C (1991). El Vinagre de Vino. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, 238 p.

Määttä KR, Kamal-Eldin A, Törrönen AR (2003). High-Performance liquid chromatography (HPLC) analysis of phenolic compounds in berries with diode array and electrospray ionization mass spectrometric (MS) detection: Ribes species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51(23)**: 6736-6744.

Machlin LJ, Bendich A (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidants nutrients. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **1(6)**:441-445.

Maldonado O, Rolz C, Cabrera SS (1975). Wine and vinegar production from tropical fruits. *Journal of Food Science*, **40(2)**: 262-265.

Marinova D, Ribarova F, Atanassova M (2005). Total phenolics and total flavonoids In bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, **40(3)**: 255-260.

Mecca F, Andreotti R, Veronelli L (1979). *L'Aceto*. Brescia: Edizione AEB, 433 p.

Meda A, Lamien, CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, **91**: 571–577.

Michael NC (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79(3)**: 362-372.

Michalak A (2006). Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, **15(4)**: 523-530

Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL, Amorim ELC (2005). Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quimica Nova*, **28(5)**: 892-6.

Moreno-Labanda JF, Mallavia R, Perez-Fons L, Lizama V, Saura D, Micol V (2004). Determination of piceid and resveratrol in Spanish wines deriving from Monastrell (*Vitis vinifera* L.) grape variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(17)**:5396-5403.

Mullen W, Stewart AJ, Lean MEJ, Gardner P, Duthie GG, Crozier A (2002). Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(18)**: 5197-5201.

Nakatani N (1996). Antioxidants from spices and herbs. In: Shahidi F (Ed.). *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. Newfoundland: AOCS Press, **4**: 64-75.

NP 4258-1993. Análise sensorial – Directivas gerais para a concepção dos locais apropriados para análise.

NP ISO 8586-1-2001. Análise sensorial – Guia geral para a selecção, treino e controlo dos provadores – Parte 1: Provadores qualificados.

OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin) (2006). *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et moûts*. Edition Officielle, Organisation International de la Vigne et du Vin, Paris.

Oliveira JAP, Costa FJL, Maia MJC, Santos MAS, Vasconcelos PM (1987). Produção de vinagre e álcool a partir de frutos tropicais excedentes da safra. *Boletim do CEPPA*, **5 (1)**: 33-40.

Pérez-Magariño S, González-Sanjós ML (2003). Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chemistry*, **8**: 301-306.

Petrovski G, Gurusamy N, Das DK (2011). Resveratrol in cardiovascular health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1215**:22-33.

Pinsirodom P, Rungcharoen J, Liumminful A (2008). Quality of commercial wine vinegars evaluated on the basis of total polyphenol content and antioxidant properties. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, **1(04)**, 232-241.

Plessi M, Bertelli D, Miglietta F (2006). Extraction and identification by GC-MS of phenolic acids in traditional balsamic vinegar from Modena. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: 49-54.

Porter LG (1989). Tannins. In: Harborne JB, editor. *Methods in plant biochemistry*. volume 1 Plant phenolics. London: Academic Press, 389-419.

Prior RL (2004). *Absorption and metabolism of anthocyanins: potential health effects in phytochemicals - mechanisms of action*. In “*Phytochemicals: mechanism of action*”. (Meskin MS, Bidlack WR, Davies AJ, Lewis DS, Randolph RK Eds.) CRC Press, Boca Raton, pp. 1-19.

Proteggente AR, Saija A, De Pasquale A, Rice-Evans CA (2003). The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from Sicilian sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties. *Free Radical Research*, **37(6)**, 681-687.

PT - Portaria n.º 922/2004. 26 de Julho. I Série-B, **174**: 4717.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26(9-10)**: 1231–1237.

Revilla E, Ryan J-M, Martin-Ortega G (1998). Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46(11)**: 4592-4597.

Reynertson KA, Wallace AM, Adachi S, Gil RR, Yang H, Brasile MJ, D’Armiento J, Weinstein IB, Kennelly EI (2006). Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Journal of Natural Products*, **69(8)**: 1228-1230.

Ribéreau-Gayon J. (1970). Les dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Analytica*, **52**, 627-631.

Ribereau-Gayon P. (2001). *Handbook of Enology* (2ª Edição). Chicester. John Wiley & Sons. Volume 1: 141-205. ISBN 0-471-97362-9.

Rice-evans C, Burdon R (1993). Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Progress in Lipid Research*, **32(1)**: 71-110.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Struture-antioxidante activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medecine*, **20(7)**: 933-956.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, **2(4)**: 152-159.

Rizzon LA, Miele A (1998). Características analíticas de vinagres comerciais de vinhos brasileiros. *Brazilian Journal of Food Technology*, **1(1-2)**: 25-31.

Romani A, Vignolini P, Galardi C, Mulinacci N, Benedettelli S, Heimler D (2004). Germplasm characterization of zolfino landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by flavonoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(12)**: 3838-3842.

Romero-Perez AI, Ibern-Gomez M, Lamuela-Raventos RM, de La Torre-Boronat MC (1999). Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47(4)**:1533-1536.

Romero-Perez AI, Lamuela-Raventos RM, Waterhouse AL, de la Torre-Boronat MC (1996). Levels of cis- and trans-resveratrol and their glucosides in white and rosé *Vitis vinifera* wines from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44(8)**:2124-2128.

Saiko P, Szakmary A, Jaeger W, Szekeres T (2008). Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad?. *Mutation Research*, **658(1-2)**: 68-94.

Shankar S, Singh G, Srivastava RK (2007). Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Frontiers in Bioscience*, **12**:4839-4854.

Sanchez-Moreno C, Cao G, Ou B, Prior RL (2003). Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51(17)**: 4889-486.

Sanders TH, McMichael RW Jr, Hendrix KW (2000). Occurrence of resveratrol in edible peanuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48(4)**:1243-1246.

Segun IY, Karapinar M (2004). Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota L.*). *International Journal of Foods Microbiology*, **96**: 301-305.

Shahidi F, Naczk M (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*. Boca Raton: CRC Press. ISBN 1-58716-138-9.

Shahidi F, Naczk M (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*. Boca Raton, CRC Press. ISBN 1-58716-138-9.

Shahidi, F (1997). *Natural antioxidants: Chemistry, health effects, and applications*. Newfoundland. Amer Oil Chemists Society (AOCS) press, Cap. 1, p. 1-11. ISBN: 0935315772.

Sies H, Stahl W (1995). Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **62(6)**:1315-1321.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela RM (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, **299**:152-178.

Singleton VL, Rossi JA (1965). Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16(3)**: 144-6.

Slimestad R, Toskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH (2005). Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18(1)**: 61-68.

Soares SE (2002). Ácidos fenólicos como antioxidants. *Revista de Nutrição*, **15(1)**: 71-81.

Sobolev VS, Cole RJ (1999). Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,**47(4)**:1435-1439.

Suares-Lepe JÁ, Inigo-Leal B (2004). *Microbiología enológica: fundamentos de vinificación* (3ª Edição). Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. ISBN 84-8476-184-3

Sudraud P (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Annals de Technologie Agricole*, **7(2)**: 203–208.

Sun B, Leandro MC, de Freitas V, Spranger MI (2006). Fractionation of red wine polyphenols by solid-phase extraction and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1128(1-2): 27–38.

Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(25)**: 7449-7454.

Tapiero H, Tew KD, Nguyen BG, Mathé G (2002). Polyphenols: do they play a role in prevention of human pathologies?. *Biomed Pharmacother*, **56(4)**:200-207.

Teissedre P-L, Landrault N (2000) Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Research International*, **33(6)**, 461-467.

Tesfaye W, Morales ML, Callejón RM, Cerezo Ana B, González AG, García-Parrilla MC, Troncoso AM (2009). Descriptive sensory analysis of wine vinegar: tasting procedure and reliability of new attributes. *Journal of Sensory Studies*, **25(2)**: 216-230.

Tesfaye W, Morales ML, García-Parrilla MC, Troncoso AM (2002). Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, **13**: 12-21.

Timberlake CF, Henry BS (1988). Anthocyanins as natural food colorants. *Progress in Clinical Biological Research*, **280**: 107-121.

Troncoso AM (2005). El vinagre: Definición, Tipos de Vinagres y Evolución Histórica.

- Verzelloni E, Tagliazucchi D, Conte A (2007). Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry*, **105**: 564-571.
- Verzelloni E, Tagliazucchi D, Conte A (2010). Changes in major antioxidant compounds during aging of traditional balsamic vinegar. *Journal of Food Biochemistry*, **34(1)**: 152–171.
- Wanasundara U, Amarowicz R, Shahidi F (1994). Isolation and identification of an antioxidative component in canola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42(6)**: 1285-90.
- Wang H, Nair MG, Iezzoni AF, Strasburg GM, Booren AM, Gray I (1997). Quantification and characterization of anthocyanins in Balaton tart cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(7)**: 2556-2560.
- Wang SY, Lin H-S (2003). Compost as a soil supplement increases the level of antioxidant compounds and oxygen radical absorbance capacity in strawberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, **51(23)**: 6844-6850.
- Wang SY, Zheng W, Galleta G (2002). Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(22)**: 6534-6542.
- White, J (1971). Vinegar quality: legal and commercial standards. *Process Biochemistry*, **6(5)**: 21-25.
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(11)**: 4069-4075.
- Wu X, Gu L, Prior RL, McKay S (2004). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(26)**: 7846-7856.
- Xu Q, Tao W, Ao Z (2007). Antioxidante activity of vinegar melanoidins. *Food Chemistry*, **102(3)**: 841-849.

Xu QP, Ao ZH, Tao WY (2004). Antioxidative activity of Heng-shun aromatic vinegar extracts. *China Brewing*, **7**: 16-18.

Yang CS, Lee Mj, Cheen L, Yang G (1997). Poliphenols as inhibitors of carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives, Research Triangle Park*, 105(4): 971-976.

Zamora-Marin F (2003) - *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos* (1ª Edição). Madrid, AMV Ediciones: 13-68. ISBN 84-89922-88-8. ISBN 84-8476-130-4

8.ANEXOS

ANEXO 1. Standard do Codex-Alimentarius para Vinagres (CODEX STAN 162-1987)

codex alimentarius commission

FOOD AND AGRICULTURE
ORGANIZATION
OF THE UNITED NATIONS

WORLD HEALTH
ORGANIZATION

JOINT OFFICE: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tel.: 57051 Telex: 625825-625853 FAO I E-mail: Codex@fao.org Facsimile: +39(06)5705.4593

CX 3/1

CL 2000/18-EURO
June 2000

TO: Codex Contact Points
Interested International Organizations

FROM: Secretary, Joint FAO/WHO Food Standards Programme
FAO, 00100 Rome, Italy

SUBJECT: **Proposed Draft Revised Regional Standard for Vinegar**

DEADLINE: **30 July 2000**

COMMENTS:

To: Secretary Joint FAO/WHO Food Standards Programme – FAO Viale delle Terme di Caracalla 00100 Rome, Italy Fax: +39 (06) 5705 4593 E-mail: codex@fao.org	Copy to: Dr. Felipe Mittelbrunn Garcia, Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, Ministerio de Sanidad y Consumo, Paseo del Prado 18-20, 287071 Madrid, Spain Fax: +34.1.5961597 E-mail: fmittelbrunn@msc.es
--	--

BACKGROUND

Following the recommendations of the Commission concerning the conversion of regional standards into world-wide standards, the Committee on Processed Fruits and Vegetables considered the conversion of the Regional Standard (Europe) for Vinegar at its 19th Session (1998). The Committee agreed that it would not be appropriate to undertake the conversion of this regional standard as a world-wide one, especially in view of trade patterns and significant regional differences. It recommended that the standard be referred to the Coordinating Committee for Europe for consideration of how to align it with the new format of Codex standards and to update methods of analysis (ALINORM 99/27, para. 72).

The 21st Session of the Coordinating Committee for Europe took note of this recommendation and agreed to undertake the revision of the standard as new work. This proposal was approved by the 23rd Session of the Commission (ALINORM 99/37, para. 210, Appendix VIII).

The Proposed Draft Revised Standard for Vinegar, based on the current Standard is hereby circulated for government comments at Step 3 in the attached Annex. The sections on Hygiene and Food Additives have been updated to take into account the latest revisions of the Procedural Manual (11th Edition, Food Hygiene, p.95) and the adopted sections of the General Standard on Food Additives.

Governments and international organizations wishing to submit comments should do so in writing to the above addresses, preferably by e-mail, **before 30 July 2000**. This deadline should allow the incorporation of the comments received into a revised version of the Proposed Draft, in order to facilitate discussions in the Committee.

PROPOSED DRAFT REVISED REGIONAL STANDARD FOR VINEGAR
(At Step 3 of the Procedure)
CODEX STAN 162-1987

1. SCOPE

This standard applies to products as defined in Section 2 below.

2. DESCRIPTION

2.1 *Vinegar* is a liquid, fit for human consumption, produced exclusively from suitable products containing starch and/or sugars by the process of double fermentation, first alcoholic and then acetous. Vinegar contains acetic acid as specified in Section 3.3. Vinegar may contain optional ingredients in accordance with Section 3.2.

2.1.1 *Wine Vinegar* is a vinegar obtained from wine by acetous fermentation and in which the maximum level for volatile acids in the raw materials may be exceeded.

2.1.2 *Fruit (wine) vinegar, Berry (wine) vinegar, cider vinegar* are vinegars obtained by acetous fermentation from wine of fruit, wine of berries or cider, and in which the maximum level for volatile acids in the raw materials may be exceeded. These vinegars may also be produced from fruit by the process defined in Section 2.1.

2.1.3 *Spirit vinegar* is a vinegar obtained by acetous fermentation from distilled alcohol.

2.1.4 *Grain vinegar* is a vinegar obtained without intermediate distillation by the process defined in Section 2.1 from any cereal grain, the starch of which has been converted to sugars by a process other than solely by the diastase of malted barley.

2.1.5 *Malt vinegar* is a vinegar obtained without intermediate distillation by the process defined in Section 2.1 from malted barley, with or without the addition of cereal grains, the starch of which has been converted to sugars solely by the diastase of the malted barley.

2.1.6 *Distilled malt vinegar* is a vinegar obtained by the distillation of malt vinegar, as defined in Section 2.1.5 above, under reduced pressure. It contains only the volatile constituents of the malt vinegar from which it is derived.

2.1.7 *Whey vinegar* is a vinegar obtained without intermediate distillation by the process defined in Section 2.1 from whey.

2.1.1.8 *Honey vinegar* is a vinegar obtained without intermediate distillation by the process defined in Section 2.1 from honey.

3. ESSENTIAL COMPOSITION AND QUALITY CRITERIA

3.1 RAW MATERIALS

3.1.1 The raw materials for vinegar are:

- (i) products of agricultural origin containing starch and/or sugars including but not limited to: fruit, berries, cereal grains, malted barley, whey, honey;
- (ii) wine of grapes, fruit or berries, cider;
- (iii) distilled alcohol of agricultural origin; or
- (iv) distilled alcohol of silvicultural origin.

3.2 OPTIONAL INGREDIENTS

The following ingredients may be added to vinegar in amounts necessary to impart a distinctive flavour;

- (i) plants, in particular herbs, spices and fruit, or their parts or extracts suitable for flavouring;
- (ii) whey;
- (iii) fruit juices or their equivalent of concentrated fruit juices;
- (iv) sugars as defined in the relevant Codex Standards (*Codex Alimentarius*, Volume 11);
- (v) honey as defined in the Codex Standard for Honey (CODEX STAN 12-1981, *Codex Alimentarius*, Volume 11); and
- (vi) food grade salt as defined in the Codex Standard for Food Grade Salt (CODEX STAN 150-1985, *Codex Alimentarius*, Volume 1A).

3.3 COMPOSITION

3.3.1 Total Acid Content

	Total Acid
Wine vinegar	not less than 60 g/litre (calculated as acetic acid) and not more than the amount detainable through the use of biological fermentation
Vinegars other than wind vinegar	not less than 50 g/litre (calculated as acetic acid) and not more than the amount detainable through the use of biological fermentation

3.3.2 Residual Alcohol Content

	Residual Alcohol (v/v)
Wine vinegar	not more than 0.5%
Vinegars other than wind vinegar	not more than 1%

3.3.3 Soluble Solids

	Soluble Solids (exclusive of added sugars or salt)
Wine vinegar	not less than 1.3 g/litre-1% acetic acid
Fruit (wine) vinegar, berry (wine) vinegar and cider vinegar	not less than 2.0 g/litre-1% acetic acid

3.3.4 OTHER QUALITY CHARACTERISTICS

Sum of Copper (Cu) and Zinc (Zn) ¹	10 mg/kg
Iron (Fe)	10 mg/kg

4. FOOD ADDITIVES

Only those additives listed below may be used and only within the limits specified.

No.	Name of food additive	Maximum Level
-----	-----------------------	---------------

¹ Copper, Zinc and Iron have been transferred from the Contaminants Section in conformity with the recommendations of the Committee on Food Additives and Contaminants.

4.1 ANTIOXIDANT

220	Sulphur dioxide	70 mg/kg
300	L-ascorbic acid	400 mg/kg

4.2 COLOUR

150a	Caramel I - plain	GMP
150d	Caramel IV - ammonium sulphite process	GMP
150c	Caramel III - ammonia process	1 g/kg

4.3 FLAVOUR ENHANCERS (for vinegars other than wine vinegar)

621	Monosodium glutamate	5 g/kg
622	Monopotassium glutamate	5 g/kg
623	Calcium glutamate	5 g/kg

4.4 STABILIZER

1201	Polyninylpyrrolidone	40 mg/kg
------	----------------------	----------

4.5 FLAVOURS

Natural flavours and natural flavouring substances as defined for the purpose of the Codex Alimentarius (General Requirements for Natural Flavourings, Codex Alimentarius, Volume 1).

4.5 PROCESSING AIDS

4.5.1 Nutrients for *Acetobacter* (such as yeast extracts and autolysates and amino-acids) and nutrient salts.

4.5.2 Clarifying and filtering agents as approved by the Codex Alimentarius Commission and used in accordance with Good Manufacturing Practice.

5. CONTAMINANTS**Maximum Levels**

5.1	Arsenic (As)	1 mg/kg
5.2	Lead (Pb)	1 mg/kg

6. HYGIENE

6.1 It is recommended that the products covered by the provisions of this standard be prepared and handled in accordance with the appropriate sections of the Recommended International Code of Practice - General Principles of Food Hygiene (CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 - 1997), and other relevant Codex texts such as Codes of Hygienic Practice and Codes of practice, in particular the Code of Hygienic Practice for Egg Products (CAC/RCP 15- 1976).

6.2 The products should comply with any microbiological criteria established in accordance with the Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods (CAC/GL 21-1997).

7. LABELLING

In addition to the Codex General Standard for the Labelling of Prepackaged Foods (CODEX STAN 1-1985, (Rev. 3-1999), Codex Alimentarius Volume 1), the following provisions apply:

7.1 THE NAME OF THE FOOD

7.1.1 A product manufactured from only one raw material shall be denominated "x vinegar" where "x" is the name of the raw material used.

7.1.2 A product manufactured from more than one raw material shall be denominated "y vinegar" where "y" constitutes a complete list of the raw materials used in descending order of proportion.

7.1.3 The content of total acid shall be declared in close proximity to the name of the food by the term "x%" where "x" is the minimum total acid content in g/100 ml calculated as acetic acid to the nearest whole number.

7.1.4 Where an ingredient has been added in accordance with sub-sections 3.2 and/or 4.4 which imparts to the vinegar the distinctive flavour of the ingredient or ingredients, the name shall be accompanied by an appropriate descriptive term.

7.2 LABELLING OF NON-RETAIL CONTAINERS

Information on Sections 4.1 to 4.8 of the General Standard for the Labelling of Prepackaged Foods shall be given either on the container or in accompanying documents, except that the name of the food, lot identification and the name and address of the manufacturer or packer shall appear on the container. However, lot identification and the name and address of the manufacturer or packer may be replaced by an identification mark, provided that such a mark is clearly identifiable with the accompanying documents.

8. METHODS OF ANALYSIS AND SAMPLING

Acids, total (expressed as CH ₃ COOH)	AOAC 930.35J	Titrimetry	I
Alcohol, residual	AOAC 942.06	Pycnometry	I
Alcohol, residual	OIV Method A 2, 1990	Pycnometry	III
Arsenic	AOAC 952.13 (Codex general method)	Colorimetry (diethyldithiocarbamate)	II
Copper	AOAC 971.20 (Codex general method)	Atomic absorption spectrophotometry	II
Iron	IFJU Method No 15, 1964	Photometry	IV
Lead	AOAC 972.25 (Codex general method)	Atomic absorption spectrophotometry	II
Soluble solids	AOAC 930.35C	Gravimetry	I
Sulphur dioxide	AOAC 990.28 (Codex general method)	Optimized Monier-Williams method	II
Sulphur dioxide	OIV Method A 17, 1990	Titrimetry	III
Sulphur dioxide	AOAC 990.29 (Codex general method)	Flow injection analysis	III
Sulphur dioxide	AOAC 990.31 (Codex general method)	Ion exclusion chromatography	III
Zinc	AOAC 969.32 (Codex general method)	Atomic absorption spectrophotometry	II

ANEXO 2. Representação gráfica das coordenadas cromáticas de acordo com a CIE - International Commission on Illumination.

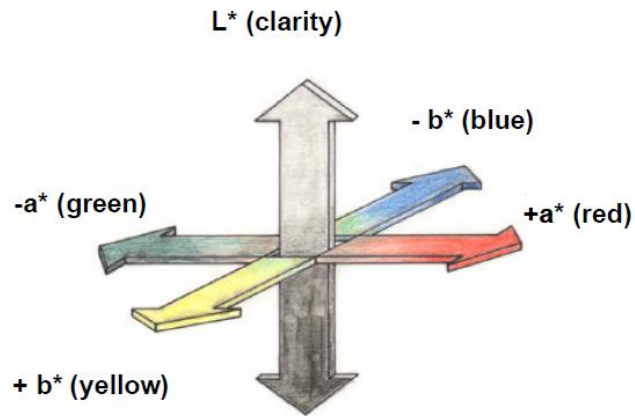
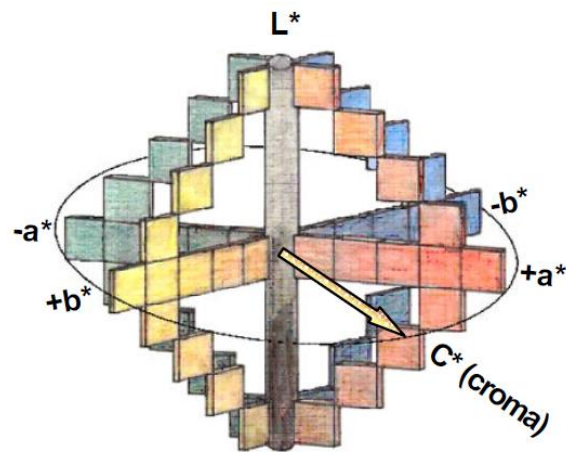


Diagrama de coordenadas colorimétricas de acordo com a CIE - International Commission on Illumination. (Adaptado de [CIE, 1986](#)).



Espaço de cor, baseado numa representação cartesiana contínua L^* , a^* , b^* sequencial ou três eixos ortogonais (Adaptado de [CIE, 1986](#)).

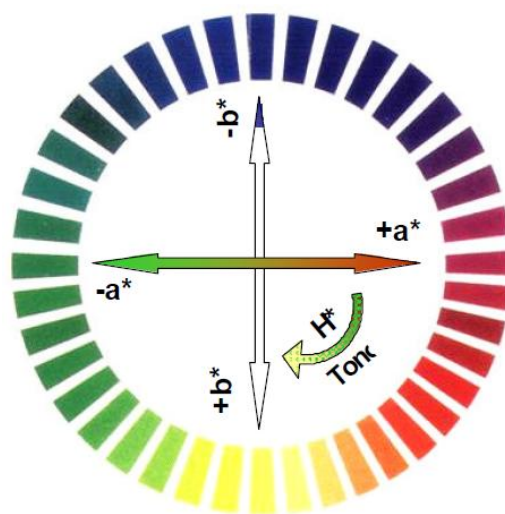


Diagrama sequencial e / ou contínuo das coordenadas colorimétricas a^* e b^* e magnitude derivados, tais como o tom (H^*) (Adaptado de [CIE, 1986](#)).

ANEXO 3. Procedimento e fichas de análise sensorial dos vinagres.

Análise sensorial dos vinagres

Avaliação ao nível sensorial de vinagres existentes no mercado português.

I. Vinagres analisados:

Código do vinagre	Descrição do Vinagres	Tipo	Aspecto visual
VT1	Vinagre de vinho Tinto Estagiado em barricas de Carvalho Americano	Vinho	Escuro
VT2	Vinagre de vinho Tinto Estagiado em barricas de Carvalho Americano	Vinho	Escuro
VT3	Vinagre de vinho Tinto	Vinho	Escuro
VT4	Vinagre de vinho Tinto estagiado em casco de carvalho	Vinho	Escuro
VT5	Vinagre de Vinho Tinto	Vinho	Escuro
VT6	Vinagre de Vinho Tinto	Vinho	Escuro
VT7	Vinagre de Vinho Tinto Envelhecido	Vinho	Escuro
VF1	Vinagre de Sidra Branco Gourmet	Outro	Claro
VF2	Vinagre de Frutas Branco	Outro	Claro
VF3	Vinagre de Sidra Branco de agricultura biológica	Outro	Claro
VF4	Vinagre de Sidra Branco	Outro	Claro
VF5	Vinagre de Figo	Outro	Claro
VF6	Vinagre de Maracujá	Outro	Claro
VF7	Vinagre de Goiaba	Outro	Claro
VF8	Vinagre de Tangerina	Outro	Claro

II. Tipo de análises sensoriais efectuadas:

1. **Análise discriminativa** – provas de ordenação simples de preferência: (i) cor; (ii) aroma; (iii) sabor

2. **Análise descritiva** – perfil sensorial ao nível:

- Visual: cor e limpidez;
- Aroma: ácido acético; floral; frutos; vinho; outros e à intensidade olfactiva
- Sabor: acidez; adstringente, intensidade e persistência do gosto
- Apreciação final

Procedimento experimental

I. Codificação das amostras

1. Agrupar as amostras de acordo com o que se pretende analisar

Parâmetro	Nº amostras/características
Cor	7 vinho; 8 outros
Aroma	7 vinho; 8 outros
Gosto	7 vinho; 8 outros

2. Atribuir códigos para cada amostra. Os códigos podem ser 5 números ou 2 letra e 2 números, mas não podem ser sequenciais.

VINAGRES UTILIZADOS NA ANÁLISE DISCRIMINATIVA RELATIVAMENTE A COR, SABOR, AROMA

GRUPO	DESCRICÇÃO DO VINAGRE	CODIGOS		
		VINAGRE	AMOSTRA	PROVA
A - Vinho	Vinagre de vinho Tinto Estagiado em barricas de Carvalho Americano	VT1	A	AO145
	Vinagre de vinho Tinto Estagiado em barricas de Carvalho Americano	VT2	B	CN220
	Vinagre de vinho Tinto	VT3	C	EM340
	Vinagre de vinho Tinto estagiado em casco de carvalho	VT4	D	GL480
	Vinagre de Vinho Tinto	VT5	E	IK560
	Vinagre de Vinho Tinto	VT6	F	KJ687
	Vinagre de Vinho Tinto Envelhecido	VT7	G	MI749
B - Outros	Vinagre de Sidra Branco Gourmet	VF1	H	OH820
	Vinagre de Frutas Branco	VF2	I	QG963
	Vinagre de Sidra Branco de agricultura biológica	VF3	J	SF125
	Vinagre de Sidra Branco	VF4	K	UE148
	Vinagre de Figo	VF5	L	XD298
	Vinagre de Maracujá	VF6	M	ZC374
	Vinagre de Goiaba	VF7	N	BB463
	Vinagre de Tangerina	VF8	O	DA587

VINAGRES UTILIZADOS NA ANÁLISE DESCRITIVA-PERFIL SENSORIAL

GRUPO	DESCRIÇÃO DO VINAGRE	CODIGOS		
		VINAGRE	AMOSTRA	PROVA
A - Vinho	Vinagre de Vinho Tinto	VT5	E	IK560
	Vinagre de Vinho Tinto	VT6	F	KJ687
B - Outros	Vinagre de Sidra Branco de agricultura biológica	VF3	J	SF125
	Vinagre de Maracujá	VF6	M	ZC374

I. Análise discriminativa - ordenação

1. Para cada provador apresentar as 7+8 amostras codificadas para cada um dos parâmetros a analisar, um copo com água, bolacha, a respectiva ficha de prova.

III. Análise descritiva – perfil sensorial

1. Para cada provador apresentar somente uma amostra, um copo com água, bolacha, a respectiva ficha de prova.

ANÁLISE SENSORIAL A VINAGRES

A

Análise Discriminativa**FICHA DE PROVA****Prova de ordenação**

Nome: _____ Data ___/___/___

Observe as 7 amostras de vinagres que tem à sua frente e, de acordo com a **sua preferência**, ordene-as de uma forma crescente (1-da menos preferida para a 7-mais preferida) assinalando com X no local desejado da seguinte tabela.

AMOSTRA	<input type="checkbox"/> COR / <input type="checkbox"/> SABOR / <input type="checkbox"/> AROMA						
	1 (-)	2	3	4	5	6	7 (+)
AO145							
CN220							
EM340							
GL480							
IK560							
KJ687							
MI749							

Observações:

Muito obrigado.

ANÁLISE SENSORIAL A VINAGRES**Análise Discriminativa**

B

FICHA DE PROVA**Prova de ordenação**

Nome: _____ Data ___/___/___

Observe as 8 amostras de vinagres que tem à sua frente e, de acordo com a **sua preferência**, ordene-as de uma forma crescente (1-da menos preferida para a 8-mais preferida) assinalando com X no local desejado da seguinte tabela.

AMOSTRA	<input type="checkbox"/> COR / <input type="checkbox"/> SABOR / <input type="checkbox"/> AROMA							
	1 (-)	2	3	4	5	6	7	8 (+)
OH820								
QG963								
SF125								
UE148								
XD298								
ZC374								
BB463								
DA587								

Observações:

Muito obrigado.

ANÁLISE SENSORIAL A VINAGRES

Análise Descritiva

FICHA DE PROVA

Nome: _____ Data ___/___/___

À sua frente tem uma **amostra de vinagre**. Avalie-a sensorialmente, e sequencialmente, nos parâmetros abaixo indicados, assinalando com uma cruz (X) na respectiva escala o valor mais adequado para cada um deles, tendo em atenção os limites considerados.

CÓDIGO:

VISUAL

-

+

Cor | _____ |

Limpidez | _____ |

AROMA

Ácido acético | _____ |

Floral | _____ |

Frutado | _____ |

Identifique o Fruto : _____

Vinho | _____ |

Outro : _____

| _____ |

Intensidade do aroma | _____ |

SABOR

Acidez | _____ |

Adstringente | _____ |

Intensidade do gosto | _____ |

Persistência do gosto | _____ |

APRECIÇÃO FINAL | _____ |

Observações:

Muito obrigado

ANEXO 4. Valores críticos de qui - quadrado (χ^2).

	α				
	10%	5%	2,50%	1%	0,50%
GL (K-1)	0,1	0,05	0,025	0,001	0,005
1	2,706	3,841	5,024	10,828	7,879
2	4,605	5,991	7,378	13,816	10,597
3	6,251	7,815	9,348	16,266	12,838
4	7,779	9,488	11,143	18,467	14,860
5	9,236	11,070	12,833	20,515	16,750
6	10,645	12,592	14,449	22,458	18,548
7	12,017	14,067	16,013	24,322	20,278
8	13,362	15,507	17,535	26,124	21,955
9	14,684	16,919	19,023	27,877	23,589
10	15,987	18,307	20,483	29,588	25,188
11	17,275	19,675	21,920	31,264	26,757
12	18,549	21,026	23,337	32,909	28,300
13	19,812	22,362	24,736	34,528	29,819
14	21,064	23,685	26,119	36,123	31,319
15	22,307	24,996	27,488	37,697	32,801
16	23,542	26,296	28,845	39,252	34,267
17	24,769	27,587	30,191	40,790	35,718
18	25,989	28,869	31,526	42,312	37,156
19	27,204	30,144	32,852	43,820	38,582
20	28,412	31,410	34,170	45,315	39,997

Tabela gerada utilizando a função INV.CHI do Microsoft© EXCEL 2007.

ANEXO 5. Resumo das respostas obtidas pelos provadores, na análise sensorial discriminativa dos vinagres de vinho tinto, representadas segundo a Norma ISO 8587:1988, relativamente aos atributos cor sabor e aroma.

Resumo das respostas dos provadores na prova de ordenação dos vinagres de vinho tinto, relativamente a atributo: cor,sabor e aroma.

Provador	COR						
	1	2	3	4	5	6	7
1	C	A =	B	D =	G	E =	F
2	B	C	G	A	G	F	D
3	C	G	E	F	A	B	D
4	F	A	G	E	D	D	C
5	B	C =	G	E	A	D	F
6	B =	C	A =	D	G	E	F
7	A =	B	G	C =	D	E =	F
8	C	A =	B =	D	G	E	F
9	B	A	E	C	D	F =	G
10	A	B =	D	C =	E	G	F
11	C	A	D	B	G	E	F
12	F	E	G	A	B	D	C
13	A	B =	C =	G	D	E	F
14	B	A =	G	C	D	E =	F

A, VT 1; B, VT 2; C, VT 3; D, VT 4; E, VT 5; F, VT 6; G, VT 7; (=), amostras semelhantes.

Provador	SABOR						
	1	2	3	4	5	6	7
1	C =	E	D	B	A =	F	G
2	F	D	E	B =	G	A	C
3	E	B	A	D	F	C	G
4	C =	D =	E =	F =	G	A	B
5	B	E	D	A	C =	F =	G
6	E	C	F =	G	A =	B	D
7	A =	G	D =	F	B =	C =	E
8	C	B	A =	D =	F	E	G
9	C	D	A =	E	F =	G	B
10	B =	D	A =	G	C =	E =	F
11	A	B	E	C	D =	F	G
12	B	E	F	D	C	A	G
13	F	E	D	C	A	G	B
14	E	B =	F	A	G	C	D

A, VT 1; B, VT 2; C, VT 3; D, VT 4; E, VT 5; F, VT 6; G, VT 7; (=), amostras semelhantes.

Provador	AROMA						
	1	2	3	4	5	6	7
1	C	F =	G	E	A	D	B
2	C	F	B =	E	A =	G	D
3	G	F	B	C	E	D	A
4	F	B	A =	G	C =	D	E
5	C	D =	F	B =	E	A =	G
6	C	B	E =	G	D =	F	A
7	F	D =	E	A =	G	B =	C
8	D =	F =	G	B =	C	A	E
9	B =	C =	E	D =	F	A =	G
10	C =	E =	G	B =	D	A =	F
11	A =	B =	C	D	E	F =	G
12	B	G	F	A	D	C	E
13	A	E	C	B	D	G	F
14	A =	F =	G	D	B =	C	E

A, VT 1; B, VT 2; C, VT 3; D, VT 4; E, VT 5; F, VT 6; G, VT 7; (=), amostras semelhantes.

ANEXO 6 Resumo das respostas obtidas pelos provadores, na análise sensorial discriminativa dos vinagres de frutas, representadas segundo a Norma ISO 8587:1988, relativamente ao atributo cor.

Resumo das respostas dos provadores na prova de ordenação dos vinagres de frutas, relativamente a atributo: cor, sabor e aroma.

Provador	COR													
	1	2	3	4	5	6	7	8						
1	N	H	=	L	M	I	J	=	K	=	O			
2	M	=	N	=	O	I	=	K	H	=	L	=	J	
3	N	N	O	=	M	H	=	J	I	=	L	=	K	
4	M	=	N	=	O	H	=	I	=	K	L	=	J	
5	N	N	O	=	M	H	=	I	=	K	L	=	J	
6	L	H	=	J	K	=	M	=	N	=	O	=	I	
7	I	=	K	=	H	L	=	J	=	N	=	M	=	O
8	I	=	M	=	N	=	O	H	K	=	J	=	L	
9	M	=	N	=	O	J	=	L	H	=	K	=	I	
10	M	=	N	=	O	J	=	L	H	=	K	=	I	
11	M	=	O	=	N	H	=	I	=	K	L	=	J	
12	M	=	N	=	O	J	=	I	=	H	=	K	=	L
13	M	=	N	=	O	J	=	I	=	H	=	K	=	L
14	N	=	I	=	M	=	O	H	=	K	J	=	L	
15	N	M	=	I	J	=	O	H	K	=	L	=	I	
16	N	M	=	O	J	=	L	I	=	K	H	=	I	
17	M	=	N	=	L	=	O	J	H	=	K	=	I	
18	N	=	O	=	M	=	I	K	H	=	J	=	L	

H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8;(=), amostras semelhantes.

Provador	SABOR													
	1	2	3	4	5	6	7	8						
1	N	O	H	K	M	L	J	I						
2	H	O	K	I	=	J	L	N	M					
3	H	O	K	J	I	L	M	N						
4	I	L	N	O	H	K	M	J						
5	K	H	L	I	J	=	O	N	M					
6	I	=	M	=	N	J	=	K	=	L	O	M	H	
7	N	K	H	=	I	=	J	=	L	O	M	=	O	N
8	H	J	I	=	K	=	L	O	M	=	N	=	M	
9	H	=	N	=	O	K	=	J	I	=	L	=	M	
10	H	=	I	=	J	K	=	L	N	=	O	=	M	
11	N	K	I	=	M	H	=	L	O	=	J	=	L	
12	N	M	O	=	J	H	=	I	K	=	L	=	I	
13	H	I	=	J	=	M	N	=	O	K	=	L	=	M
14	H	=	J	=	K	I	L	=	N	=	O	=	M	
15	O	N	M	H	K	J	=	L	M	=	N	=	O	
16	L	H	=	I	J	=	K	M	=	N	=	O	=	M
17	N	=	O	K	I	=	L	H	=	J	=	M		

H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8;(=), amostras semelhantes.

Provador	AROMA											
	1	2	3	4	5	6	7	8				
1	L	H	J	K	I	O	N	M				
2	K	=	M	=	N	=	O	H	=	J	I	L
3	I	J	K	O	L	H	N	M				
4	I	N	=	O	H	=	L	K	J	M		
5	H	K	I	=	O	L	J	=	N	M		
6	K	I	=	J	=	M	N	L	=	O	H	
7	N	J	=	K	L	I	=	M	=	O	H	
8	H	=	I	=	J	=	K	L	O	M	=	N
9	H	=	K	=	N	=	O	J	M	L	=	I
10	H	=	I	=	J	=	K	L	O	N	=	M
11	K	=	M	=	N	=	O	J	H	I	L	
12	M	N	O	H	J	K	=	M	H	L		
13	N	=	O	=	I	=	J	K	=	M	H	L
14	I	=	J	=	L	H	=	K	N	=	O	M
15	N	=	O	=	M	H	=	K	L	J	I	
16	I	=	J	=	L	H	=	K	L	=	N	M
17	N	=	O	=	M	H	=	K	L	=	N	M

H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8;(=), amostras semelhantes.

ANEXO 7. Codificação e cálculo da soma das ordens para os atributos cor, aroma e sabor dos vinagres de frutas e de vinho tinto.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo cor dos vinagres de frutas.

PROVADOR	Amostra de Vinagre								Soma das ordens
	H	I	J	K	L	M	N	O	
1	2,5	5	7	7	2,5	4	1	7	36
2	6	4,5	8	4,5	7	2	2	2	36
3	4	6	5	8	7	3	1	2	36
4	4	5,5	8	5,5	7	2	2	2	36
5	4	5	7	6	8	3	1	2	36
6	2,5	8	2,5	5,5	1	5,5	5,5	5,5	36
7	3	1,5	5	1,5	4	7,5	6	7,5	36
8	5	2,5	7,5	6	7,5	2,5	2,5	2,5	36
9	6	8	4	7	5	2	2	2	36
10	6,5	8	4	6,5	5	2	2	2	36
11	5	5	8	5	7	1,5	3	1,5	36
12	7	5	4	7	7	2	2	2	36
13	5	7	4	8	6	2	2	2	36
14	5,5	3	7,5	5,5	7,5	3	1	3	36
15	6	3	4,5	7	8	2	1	4,5	36
16	8	6,5	4	6,5	5	2,5	1	2,5	36
17	6	8	5	7	3,5	1,5	1,5	3,5	36
18	6,5	4	6,5	5	8	3	1,5	1,5	36
(R)	92,5	95,5	101,5	108,5	106	51	38	55	648
(R ²)	8556,25	9120,25	10302,25	11772,25	11236	2601	1444	3025	58057

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo sabor dos vinagres de frutas.

PROVADOR	Amostra de Vinagre								Soma das ordens
	H	I	J	K	L	M	N	O	
1	3	8	7	4	6	5	1	2	36
2	1	4,5	4,5	3	6	8	7	2	36
3	1	5	4	3	6	7	8	2	36
4	5	1	8	6	2	7	3	4	36
5	2	4	5,5	1	3	8	7	5,5	36
6	8	2	5	5	5	2	2	7	36
7	4,5	4,5	4,5	2	4,5	7,5	1	7,5	36
8	1	4	2	4	4	7,5	7,5	6	36
9	1,5	7	5	4	7	7	1,5	3	36
10	2	2	2	4,5	4,5	8	6,5	6,5	36
11	5,5	3,5	8	2	5,5	3,5	1	7	36
12	5	6	4	7	8	2	1	3	36
13	1	3	3	7,5	7,5	3	5,5	5,5	36
14	2	4	2	2	6	8	6	6	36
15	4	8	6,5	5	6,5	3	2	1	36
16	2,5	2,5	4,5	4,5	1	7	7	7	36
17	6,5	4,5	6,5	3	4,5	8	1,5	1,5	36
(R)	55,5	73,5	82	67,5	87	101,5	68,5	76,5	612
(R ²)	3080,25	5402,25	6724	4556,25	7569	10302,25	4692,25	5852,25	48178,5

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo aroma dos vinagres de frutas.

PROVADOR	Amostra de Vinagre								Soma das ordens
	H	I	J	K	L	M	N	O	
1	2	5	3	4	1	8	7	6	36
2	5,5	7	5,5	2,5	8	2,5	2,5	2,5	36
3	6	1	2	3	5	8	7	4	36
4	4,5	1	7	6	4,5	8	2,5	2,5	36
5	1	3,5	6,5	2	5	8	6,5	3,5	36
6	8	3	3	1	6,5	3	5	6,5	36
7	8	6	2,5	2,5	4	6	1	6	36
8	1,5	1,5	3,5	3,5	5	7,5	7,5	6	36
9	2,5	8	5	2,5	7	6	2,5	2,5	36
10	2	2	2	4,5	4,5	8	7	6	36
11	6	7	5	2,5	8	2,5	2,5	2,5	36
12	4	7	5	6	8	1	2	3	36
13	7	3,5	3,5	5,5	8	5,5	1,5	1,5	36
14	4,5	2	2	4,5	2	8	6,5	6,5	36
15	4	8	7	5	6	3	1,5	1,5	36
16	3,5	1,5	1,5	5	6,5	8	6,5	3,5	36
17	7,5	7,5	4	5	3	6	1,5	1,5	36
(R)	77,5	74,5	68	65	92	99	70,5	65,5	612
(R ²)	6006,25	5550,25	4624	4225	8464	9801	4970,25	4290,25	47931

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo cor dos vinagres de vinho tinto.

PROVADOR	Amostra de Vinagre							Soma das ordens
	A	B	C	D	E	F	G	
1	2,5	2,5	1	4,5	6,5	6,5	4,5	28
2	4	1	2	7	5	6	3	28
3	5	6	1	7	3	4	2	28
4	2	6	7	5	4	1	3	28
5	5	1	2,5	6	4	7	2,5	28
6	3,5	1,5	1,5	3,5	6	7	5	28
7	1,5	1,5	4,5	4,5	6,5	6,5	3	28
8	3	3	1	3	6	7	5	28
9	2	1	4	5	3	6,5	6,5	28
10	1	2,5	4,5	2,5	4,5	7	6	28
11	2	4	1	3	6	7	5	28
12	4	5	7	6	2	1	3	28
13	1	3	3	5	6	7	3	28
14	2,5	1	4	5	6,5	6,5	2,5	28
(R)	39	39	44	67	69	80	54	392
(R ²)	1521	1521	1936	4489	4761	6400	2916	23544

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; A, VT 1; B, VT 2; C, VT 3; D, VT 4; E, VT 5; F, VT 6; G, VT 7.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo sabor dos vinagres de vinho tinto.

PROVADOR	Amostra de Vinagre							Soma das ordens
	A	B	C	D	E	F	G	
1	5,5	4	1,5	3	1,5	5,5	7	28
2	6	4,5	7	2	3	1	4,5	28
3	3	2	6	4	1	5	7	28
4	6	7	3	3	3	3	3	28
5	4	1	6	3	2	6	6	28
6	5,5	5,5	2	7	1	3,5	3,5	28
7	1,5	6	6	3,5	6	3,5	1,5	28
8	4	2	1	4	6	4	7	28
9	3,5	7	1	2	3,5	5,5	5,5	28
10	3,5	1,5	6	1,5	6	6	3,5	28
11	1	2	4	5,5	3	5,5	7	28
12	6	1	5	4	2	3	7	28
13	5	7	4	3	2	1	6	28
14	4	2,5	6	7	1	2,5	5	28
(R)	58,5	53	58,5	52,5	41	55	73,5	392
(R ²)	3422,25	2809	3422,25	2756,25	1681	3025	5402,25	22518

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; **A**, VT 1; **B**, VT 2; **C**, VT 3; **D**, VT 4; **E**, VT 5; **F**, VT6; **G**, VT7.

Codificação e cálculo da soma das ordens para o atributo aroma dos vinagres de vinho tinto.

PROVADOR	Amostra de Vinagre							Soma das ordens
	A	B	C	D	E	F	G	
1	5	7	1	6	4	2,5	2,5	28
2	5,5	3,5	1	7	3,5	2	5,5	28
3	7	3	4	6	5	2	1	28
4	3,5	2	5,5	5,5	7	1	3,5	28
5	6,5	4,5	1	2,5	4,5	2,5	6,5	28
6	7	2	1	5,5	3,5	5,5	3,5	28
7	4,5	6,5	6,5	2,5	2,5	1	4,5	28
8	6	4,5	4,5	2	7	2	2	28
9	6,5	2	2	4,5	2	4,5	6,5	28
10	6,5	4,5	2	4,5	2	6,5	2	28
11	2	2	2	4	5	6,5	6,5	28
12	4	1	6	5	7	3	2	28
13	1	4	3	5	2	7	6	28
14	2	5,5	5,5	4	7	2	2	28
(R)	67	52	45	64	62	48	54	392
(R ²)	4489	2704	2025	4096	3844	2304	2916	22378

(R) Soma das ordens para as amostras; (R²) Quadrado da Soma das ordens para as amostras; **A**, VT 1; **B**, VT 2; **C**, VT 3; **D**, VT 4; **E**, VT 5; **F**, VT6; **G**, VT7.

ANEXO 8. Comparação de duas amostras individuais após o método de *Friedman* para os vinagres tintos e de frutas.

Comparação de duas amostras individuais após o método de *Friedman* para os vinagres tintos.

Amostras		DIFERENÇA		CONCLUSÃO
(R _i)	(J _i)	R _i -J _i	DMS	HÁ DIFERENÇA ENTRE AS AMOSTRAS?
A	B	0,0	22,40	FALSO
A	C	5,0	22,40	FALSO
A	D	28,0	22,40	VERDADEIRO
A	E	30,0	22,40	VERDADEIRO
A	F	41,0	22,40	VERDADEIRO
A	G	15,0	22,40	FALSO
B	C	5,0	22,40	FALSO
B	D	28,0	22,40	VERDADEIRO
B	E	30,0	22,40	VERDADEIRO
B	F	41,0	22,40	VERDADEIRO
B	G	15,0	22,40	FALSO
C	D	23,0	22,40	VERDADEIRO
C	E	25,0	22,40	VERDADEIRO
C	F	36,0	22,40	VERDADEIRO
C	G	10,0	22,40	FALSO
D	E	2,0	22,40	FALSO
D	F	13,0	22,40	FALSO
D	G	13,0	22,40	FALSO
E	F	11,0	22,40	FALSO
E	G	15,0	22,40	FALSO
F	G	26,0	22,40	VERDADEIRO

A, VT 1; B, VT 2; C, VT 3; D, VT 4; E, VT 5; F, VT6; G, VT7; DMS, Diferença mínima de significância; |R_i-J_i|, valor absoluto da amplitude do intervalo; R_i e j_i, amostras.

Comparação de duas amostras individuais após o método de *Friedman* para os vinagres de frutas.

Amostras		DIFERENÇA		CONCLUSÃO
(R _i)	(J _i)	R _i -J _i	DMS	HÁ DIFERENÇA ENTRE AS AMOSTRAS?
H	I	3,0	27,99	FALSO
H	J	9,0	27,99	FALSO
H	K	16,0	27,99	FALSO
H	L	13,5	27,99	FALSO
H	M	41,5	27,99	VERDADEIRO
H	N	54,5	27,99	VERDADEIRO
H	O	37,5	27,99	VERDADEIRO
I	J	6,0	27,99	FALSO
I	K	13,0	27,99	FALSO
I	L	10,5	27,99	FALSO
I	M	44,5	27,99	VERDADEIRO
I	N	57,5	27,99	VERDADEIRO
I	O	40,5	27,99	VERDADEIRO
J	K	7,0	27,99	FALSO
J	L	4,5	27,99	FALSO
J	M	50,5	27,99	VERDADEIRO
J	N	63,5	27,99	VERDADEIRO
J	O	46,5	27,99	VERDADEIRO
K	L	2,5	27,99	FALSO
K	M	57,5	27,99	VERDADEIRO
K	N	70,5	27,99	VERDADEIRO
K	O	53,5	27,99	VERDADEIRO
L	M	55,0	27,99	VERDADEIRO
L	N	68,0	27,99	VERDADEIRO
L	O	51,0	27,99	VERDADEIRO
M	N	13,0	27,99	FALSO
M	O	4,0	27,99	FALSO
N	O	17,0	27,99	FALSO

H, VF 1; I, VF 2; J, VF 3; K, VF 4; L, VF 5; M, VF 6; N, VF 7; O, VF 8; DMS, Diferença mínima de significância; |R_i-J_i|, valor absoluto da amplitude do intervalo; R_i e j_i, amostras.