

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE VINHOS COMERCIAIS POR RMN DE ^1H

Luiz Filipe Neves Gonçalves¹ ; Fernando Hallwass²

¹Estudante do Curso de Engenharia Química - CTG – UFPE; E-mail: luizfilipe99@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto. de Química Fundamental – CCEN – UFPE. E-mail: hallwass@ufpe.br.

Sumário: O objetivo principal desta proposta é a realização de análises dos vinhos elaborados na região do Submédio São Francisco. Caracterizou-se a composição e o perfil metabólico dos vinhos através da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H . Este trabalho também visa expandir as atividades de pesquisa em química analítica que vêm sendo desenvolvidas no Departamento de Química Fundamental (DQF/UFPE).

Palavras-chave: quimiometria; RMN; submédio São Francisco; vinho.

INTRODUÇÃO

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica que permite analisar a composição química das amostras em estudo. A técnica baseia-se na orientação dos spins do núcleo atômico, quando estes estão na presença de um campo magnético externo. Através da incidência de uma onda de radiofrequência (RF) é provocada uma perturbação do sistema. Cessada essa excitação, o sistema retorna ao equilíbrio, emitindo as RFs absorvidas. Como cada núcleo de ^1H possui uma frequência de ressonância diferente, dependendo do ambiente químico em que se encontra, é possível determinar, através do deslocamento químico, os tipos de ^1H presentes na mesma e, por fim, a estrutura molecular do composto. Apesar de ser mais conhecida em aplicações médicas, a RMN desempenha um papel importante em áreas da física, biologia, química, agricultura, etc. No caso específico da utilização de espectroscopia de RMN para análise de vinhos comerciais, procura-se determinar a aplicabilidade de determinadas variedades de uvas, solos e porta-enxertos para plantios em novas áreas. Como a RMN pode identificar e quantificar as moléculas presentes nos materiais, é possível determinar as quantidades de ácidos, álcoois, açúcares e outros compostos presentes nos vinhos feitos a partir de cada uva daquele novo plantio, gerando assim informações como a adaptabilidade da uva ou restrições de manuseio e colheita para determinada região.

MATERIAIS E MÉTODOS

O método empregado está sendo baseado no trabalho de Pereira *et al.* [1] e as amostras de vinhos foram fornecidas pelo laboratório de Enologia da EMBRAPA Uva e Vinho (Petrolina-PE). Para a realização dos espectros de RMN ^1H , 20 mg da amostra de vinho, previamente liofilizada, foram dissolvidas em uma solução contendo 10 mL de água deuterada (D_2O) e 0,003 g de TSP (3-trimetilsilil-2,2,3,3-propionato- d_4 de sódio).

Os espectros de RMN foram obtidos no espectrômetro de RMN de 300 MHz do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizando a sequência de pulsos simples, com pulsos de 90° , tempo de aquisição 3,74 s e janela espectral de 4000 Hz. O sinal das metilas do TSP foi utilizado como referência (0 ppm) para calibração dos espectros.

A liofilização foi necessária nesse estudo para eliminar a interferência do sinal da água (H_2O) nos espectros de RMN ^1H , o que impossibilitaria a detecção dos sinais dos açúcares,

aminoácidos e ácidos orgânicos, uma vez que os sinais da água e do etanol são muito intensos, devido à sua alta concentração em relação aos outros componentes na amostra de vinho puro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de RMN baseia-se no princípio de que os núcleos atômicos possuem spin nuclear, assim como o spin dos elétrons. Na presença de um campo magnético externo, núcleos com spin $I=1/2$, se orientam paralelamente ou antiparalelamente a este campo, originando dois níveis de energias: o α (representado por \uparrow) e o β (representado por \downarrow). A emissão de um fóton com mesma energia que a separação entre estes níveis causará a absorção e excitação dos spins. Os fótons são oriundos de pulsos de radiofrequência incidente que deve coincidir com a diferença entre os níveis de energia entre os spins. A coincidência da radiofrequência com a separação das energias das duas orientações de spin é chamada de condição de “ressonância”.

A energia absorvida serve como uma “impressão digital” para cada molécula porque ela depende do ambiente químico de cada núcleo na molécula, permitindo a identificação de milhares de moléculas já catalogadas, assim como, elucidar a estrutura de novas moléculas por comparação com as estruturas já conhecidas.

A análise em RMN possui parâmetros específicos que permitem a análise e identificação do composto a partir das características espectrais, tais parâmetros são:

1.1) *Deslocamento químico (δ)* - a presença de prótons em diferentes ambientes químicos leva à obtenção de sinais em diferentes regiões do espectro. Essa diferença de ambiente se dá pela maior ou menor blindagem do próton pela carga dos elétrons na região ao qual se encontra o próton. Quanto mais blindado estiver o núcleo menor será o deslocamento químico e quanto menos blindado maior será o valor do sinal na escala.

1.2) *Integração do sinal* - a integração é a operação de cálculo que fornece a área do sinal. Essa área equivale à quantidade relativa de prótons representados pelo sinal em determinado deslocamento químico.

1.3) *Constante de acoplamento escalar (J)* – a constante de acoplamento é a grandeza que mede o grau da interação entre núcleos vizinhos. Existem vários fatores que influenciam nesse parâmetro: a distância de ligações entre os prótons da molécula; o ângulo de ligação; o ângulo diedro e a eletronegatividade dos elementos.

1.4) *Multiplicidade do sinal* – em ressonância os sinais aparecem na maioria das vezes como sinais desdobrados e com diferentes intensidades, este parâmetro é chamado de multiplicidade do sinal e informa quantos núcleos vizinhos estão próximos ao sinal analisado. A multiplicidade do sinal é dada pela equação $M = 2NI + 1$, onde N é o número de núcleos vizinhos, que acoplam, do grupo analisado e I é o valor do spin deste núcleo. A proporção das intensidades relativas dos sinais para spin igual a $1/2$ é dado pelo triângulo de Pascal.

1.5) *Núcleo de 1H*

O hidrogênio-1 é o principal núcleo analisado em RMN, pois possui spin $1/2$ e uma abundância natural de 99,985%, fazendo com que seja um núcleo propício para a RMN, principalmente, de compostos orgânicos onde possui forte presença.

De acordo com a literatura, os componentes comumente encontrados no vinho são: etanol, arginina, lisina, prolina, isoleucina, leucina, alanina, valina, glicerol, 1,3- butanediol, açúcares (frutose, glicose e sacarose), ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido chiquímico, ácido cítrico, ácido γ - amino-n-butírico, GABA, glutamina, compostos aromáticos (compostos fenólicos) e água residual. Os espectros destes compostos foram

analisados individualmente através da biblioteca de espectros da *Spectral Database for Organic Compounds* (SDBS) [4].

Nesse período, foram realizadas as análises de 132 amostras de vinhos por espectroscopia de RMN oriundas da região do Submédio São Francisco. Após a obtenção dos espectros, foi feito o tratamento quimiométrico dos dados, para estimar a diferenciação entre os espectros obtidos. O tratamento escolhido foi o PCA (*Principal Component Analysis*). Um exemplo de gráfico gerado está apresentado na Figura 1. Nesta análise foi observado que a diferenciação das uvas do tipo Petit Verdot e Syrah, bem como a variação das características das uvas Petit Verdot das safras de 2011 e 2013. No exemplo, é possível notar que houve uma diferenciação mais expressiva no eixo PC2, com uma variância de 20,9%, principalmente entre as uvas Petit Verdot de 2011 e 2013. Isso significa que 20,9% das variáveis disponíveis contribuíram para a obtenção dessa diferenciação. Posteriormente, também serão analisados os gráficos de *loadings* de PCA, que identifica quais deslocamentos químicos (e, conseqüentemente, quais compostos) foram mais influentes para determinadas distinções. Isso ajudará a entender quais componentes do vinho foram mais importantes durante os processos de plantio da uva e vinificação.

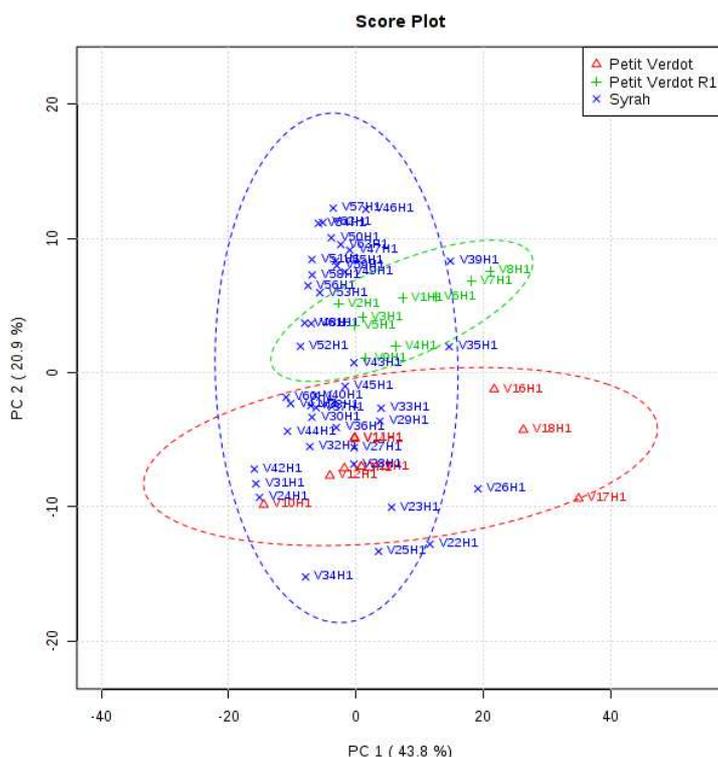


Figura 1. Gráfico de PCA com diferenciação por tipo de uva e safra.

CONCLUSÕES

O trabalho realizado tem grande utilidade na expansão do mercado e produção de vinhos no Brasil, além de mostrar a vantagem do uso de RMN para vários tipos de análise, sendo assim um método universal de grande confiabilidade. Por isso, a RMN é utilizada para a análise de diferentes compostos

AGRADECIMENTOS

PIBIC/CNPq, EMBRAPA Uva e Vinho

REFERÊNCIAS

1. Pereira, G. E.; Gaudillere, J. P.; Van Leeuwen, C.; Hilbert G.; Maucourt M.; Deborde, C.; Moing, A. Rolin, D. *¹H NMR Metabolite Fingerprints of grape berry: Comparison of vintage and soil effects in Bordeaux grapevine growing áreas*. *Analytica Chimica Acta*, v. 563, **2006**. p. 346-352.
2. Gil, V.M.S. e Geraldles, C.F.G.C. “Ressonância Magnética Nuclear: Fundamentos, Métodos e Aplicações” Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1987
3. Hesse, M.; Méier, H. e Zeeh, B. “Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie” 5^oed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995, p.77
4. http://sdbs.riondb.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi