



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LILIAN YUKARI YAMAMOTO

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS BAGAS E DO SUCO
INTEGRAL DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM ÁCIDO
ABSCÍSICO EM DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO**

LILIAN YUKARI YAMAMOTO

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS BAGAS E DO SUCO
INTEGRAL DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM ÁCIDO
ABSCÍSICO EM DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Ruffo Roberto
Co-Orientadora: Prof^a. Dra. Adriane Marinho de Assis
Co-Orientador: Prof. Dr. Isidro Hermosín-Gutiérrez

Londrina
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Y19c Yamamoto, Lilian Yukari.
Composição fenólica das bagas e do suco integral de uva 'Isabel' tratada com ácido abscísico em diferentes fases de maturação / Lilian Yukari Yamamoto. – Londrina, 2014.
125 f.: il.

Orientador: Sérgio Ruffo Roberto.
Coorientador: Adriane Marinho de Assis.
Coorientador: Isidro Herмосín-Gutiérrez.
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2014.
Inclui bibliografia.

1. Uva – Cultivo – Teses. 2. Videira – Cultivo – Teses. 3. Ácido abscísico – Teses. 4. Antocianina – Teses. 5. Vitis labrusca – Teses. I. Roberto, Sérgio Ruffo. II. Assis, Adriane Marinho de. III. Herмосín-Gutiérrez, Isidro. IV. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDU 634.8

LILIAN YUKARI YAMAMOTO

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA DAS BAGAS E DO SUCO INTEGRAL DE
UVA 'ISABEL' TRATADA COM ÁCIDO ABSCÍSIKO EM DIFERENTES
FASES DE MATURAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Adriane Marinho de Assis
Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Prof^a. Dra. Carmen Silvia Vieira Janeiro Neves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Suzana Lucy Nixdorf
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Alessandro Jefferson Sato
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Prof^a. Dra. Cassia Inês Lourenzi Franco Rosa
Universidade Estadual do Centro - Oeste -
UNICENTRO

Londrina, 22 de dezembro de 2014

DEDICO

Aos meus pais, Koji e Luiza Sueko Yamamoto

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto, pela oportunidade, paciência, confiança e orientação durante a minha formação.

À Prof^a. Dra. Adriane Marinho de Assis, que além da co-orientação como profissional, esteve presente em todos os momentos, como mãe e amiga, me dando apoio e carinho. A ela devo respeito e a profissional que sou hoje.

Ao professor Prof. Dr. Isidro Herмосín-Gutiérrez, pela co-orientação. Ao Dr. Sergio Gómez-Alonso e Dr. Esteban Garcia-Romero, pelo auxílio nas análises, que foram imprescindíveis para a conclusão desse trabalho.

À Prof^a Dra. Suzana Lucy Nixdorf e sua equipe, em especial ao Yuri Renan Bovolenta e a Letícia Marques, pelo auxílio com as análises realizadas.

Ao Prof. Dr. Fábio Yamashita, pelas orientações e sugestões, que em muito contribuíram na melhora do presente trabalho.

À Dr^a. Prof^a. Sandra Helena Prudêncio pelo auxílio na análise sensorial dos sucos.

À Intervin[®] por disponibilizar a área experimental.

Aos colegas do Laboratório de Análise de Frutas da Universidade Estadual de Londrina, Renata Koyama, Wellington Fernando Silva Borges, Izadora Rodrigues de Oliveira, Rogério de Sá Borges, Ibrar Hussain, Francelize Chiarotti, Marina Bonini Pascholati, Giovanna Bernardo, Wendell Henrique Moretti, Luciane Gomes, Maria Amélia Rossi Gholmie e Juliana Almeida, por dividirem momentos de alegria de implantar novas áreas de experimentos, provarem a tristeza dos experimentos perdidos, tomarem banho de S-ABA e de chuva, dormirem no laboratório, respirarem etanol, e por fim, pela amizade, pelas horas gastas em conversas no corredor da fitotecnia e durante os extensos almoços no RU e nos jantares, que em muito colaboraram nos momentos sérios e descontraídos deste trabalho.

Aos membros da comissão examinadora, pela disponibilidade e contribuição desprendida ao trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, em especial, à

secretária Weda Aparecida Westin, por todo suporte durante o Curso.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Doutorado.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de Doutorado Sanduíche no Exterior PDSE.

Aos meus pais, Koji e Luiza Sueko Yamamoto, pelo amor, carinho, apoio, compreensão e por terem batalhado pela minha formação.

Aos meus irmãos, Marcelo e Letícia Yamamoto, que estiveram comigo desde o meu nascimento, compartilhando os momentos de alegria e tristeza.

À Thais Tutida, Nátali Madail de Souza, Alessandra Terumi Imoto, Sara Regina Silvestrin Rovaris e Ronan Colombo, pela grande amizade e apoio nos momentos difíceis.

À Prof^ª. Dra. Lúcia Sadayo Assari Takahashi, ao Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria e à Prof^ª. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca, por todos os ensinamentos que contribuíram para a minha formação.

Aos demais professores do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, pelos ensinamentos.

Ao Sr. José Vicentini Neto (Sr. Bié), pela amizade e paciência.

YAMAMOTO, Lilian Yukari. **Composição fenólica das bagas e do suco integral de uva 'Isabel' tratada com ácido abscísico em diferentes fases de maturação.** 2014. 125 f. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

A uva 'Isabel' é umas das principais cultivares utilizadas para a elaboração de suco, em função da sua rusticidade e produtividade, porém apresenta carência em antocianinas, pigmentos responsáveis pela cor. Dessa forma, uma alternativa para o incremento da cor é a promoção da síntese desse composto, o qual pode ser realizado com o uso de reguladores de crescimento, como o ácido abscísico (ABA). O objetivo do trabalho foi avaliar a concentração de antocianinas e de compostos fenólicos, bem como a cor da baga e do suco integral da uva 'Isabel' tratada com o isômero (S)-cis-ácido abscísico (S-ABA) em diferentes fases da maturação. Os experimentos foram realizados em área comercial localizada em Maringá, PR, sendo as videiras conduzidas em latada no espaçamento de 4,0 x 1,0 m. O primeiro experimento foi realizado durante duas safras consecutivas, safra regular de 2011 e safra fora de época de 2012, em que foram avaliados os tratamentos: Testemunha; S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado 7 dias antes do *véraison* (DAV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 dias antes da colheita (DAC); S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no *véraison* (V) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DAC; e S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 dias depois do *véraison* (DDV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DAC. No segundo experimento foram avaliados em duas safras consecutivas, safra regular de 2012 e safra fora de época de 2013, os tratamentos: Testemunha; S-ABA 400 mg L⁻¹, 7DAV; S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no V; S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 DDV ; 7 DAV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DAC; S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no V + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DAC; e S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 DDV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DAC. Em ambos os experimentos foram realizadas análises físico-químicas das bagas e do suco de uva integral, bem como a análise sensorial dos sucos. Foram posteriormente identificados e quantificados os compostos fenólicos dos sucos de uva por HPLC-DAD-ESI-MS/MS. A aplicação de S-ABA não alterou as características físicas, como a massa e o comprimento, das bagas e dos cachos, bem como a concentração de polifenóis totais da baga e do suco. Porém, proporcionou incremento das antocianinas totais da baga e do suco, além de favorecer também as variáveis colorimétricas das bagas e do suco, assim como os resultados da análise sensorial dos sucos. Os melhores resultados quanto ao incremento de antocianinas e cor das bagas e dos sucos foram verificados nos tratamentos em que o S-ABA foi aplicado uma vez aos 7DAV, ou duas vezes (7DAV + 10DAC; V + 10DAC ou 7DDV + 10DAC), o que também foi constatado nas análises por HPLC. Considerando-se os custos envolvidos na aplicação do regulador de crescimento, sugere-se uma única aplicação de S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7DAV em uva 'Isabel', podendo ser realizada uma segunda aplicação aos 10 DAC, caso constate-se desuniformidade de cor das bagas nessa fase.

Palavras-chave: *Vitis labrusca*. Antocianinas. Regulador vegetal. Cor.

YAMAMOTO, Lilian Yukari. **Polyphenols of berries and juice of 'Isabel' vine treated with abscisic acid in different maturation stage.** 2014. 125 p. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

ABSTRACT

The 'Isabel' grape is one of the main cultivars used for juice processing, but presents deficiency in anthocyanins, pigments responsible for the color. Thus, an alternative for increasing the color is to promote synthesis of this compound, which can be accomplished using growth regulators, like abscisic acid (ABA). The aim of this work was to evaluate the anthocyanin and polyphenol concentration, as well as the color of the berry and juice of 'Isabel' grapevine treated with (S)-cis- abscisic acid isomer (S-ABA) in different maturation stages. The experiments were conducted in a commercial vineyard located in Maringá, PR, Brazil, and the vines were trained in an overhead trellis system and spaced at 4.0 x 1.0 m. The first experiment was conducted during two consecutive seasons, regular season of 2011 and out of season of 2012, in which was evaluated the treatments: control; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7 days before *véraison* (DBV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 days before harvest (DBH); S-ABA 400 mg L⁻¹, applied at *véraison* (V) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DBH; and S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 days after *véraison* (DAV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DBH. In the second experiment were evaluated two consecutive seasons, in regular season of 2012 and out of season of 2013, the treatments: : control; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7 DBV; S-ABA 400 mg L⁻¹, V; 7DAV; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7DBV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DBH; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied at V + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10DBH; and S-ABA 400 mg L⁻¹, 7DAV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10DBH. In both experiments physico-chemical analysis of grapes and juice, as well as sensory analysis of them was performed. It was identified and quantified the polyphenol content of the grape juices by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. The application of S-ABA did not modify the physical characteristics of berries and bunches, as weight and length, as well as the concentration of polyphenols of berries and juice. However, provided an increase of total anthocyanins of berry and juice, and also propitiate the colorimetric variables of berries and juice, as well as sensory evaluation results of juices. The best results regarding the anthocyanin and color of berries and juices increment were verified in the treatments which S-ABA were applied once at 7DBV, or twice (7DBV + 10 DBH; EV + 10 DBH or 7DAV + 10 DBH), which was also verified in analysis by HPLC. Considering the costs involved in the application of the growth regulator, it is suggested a single application of S-ABA 400 mg L⁻¹ in the 7DAV in 'Isabel' grape, and a second application could be performed 10 DBH, if an disuniformity of color in berries were verified in this stage.

Palavras-chave: *Vitis labrusca*. Anthocyanins. Growth regulator. Color.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.4.1 -	Cachos da videira 'Isabel'.....	23
Figura 2.5.1.1.1 -	Estrutura das principais antocianidinas.....	27
Figura 2.6.1 -	Estruturas químicas (S)-cis-ABA (A), (R)-cis-ABA (B) e (S)-2-trans-ABA (C).	32
Figura 3.1 -	Escala hedônica de nove pontos para os atributos de cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global obtidos no teste de aceitação de suco integral da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com 400 mg L ⁻¹ de S-ABA. Maringá, PR, 2012. Obs. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Obs: Aplicado aos 7DAV = 7 Dias Antes do Véraison; V = Véraison; 7DDV= 7 Dias depois do Véraison; 15DAC = 15 dias antes da colheita.	59
Figura 3.2 -	Resultados da avaliação do perfil dos provadores referentes à faixa etária (A), ocupação (B), escolaridade (C), frequência de consumo (D) e preferência por tipo de suco (E). Maringá, PR, 2012. Obs.: Ocasionalmente: até uma vez por semana. Pouco: uma a duas vezes por semana. Moderadamente: duas a quatro vezes por semana. Frequentemente: mais de quatro vezes por semana.....	62
Figura 4.1 -	Escala hedônica de nove pontos para os atributos de cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global obtidos no teste de aceitação de suco integral da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com 400 mg L ⁻¹ de S-ABA. Maringá, PR. Obs. Médias das safras de 2012 e 2013 seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Obs: Aplicado aos 7DAV = 7 Dias Antes do Véraison; V = Véraison; 7DDV= 7 Dias depois do Véraison; 10DAC = 10 dias antes da colheita.	84

Figura 4.2 -	Resultados da avaliação do perfil dos provadores referentes à faixa etária (A), ocupação (B), escolaridade (C), frequência de consumo (D) e preferência por tipo de suco (E). Maringá, PR. Obs.: Médias das safras de 2012 e 2013. Ocasionalmente: até uma vez por semana. Pouco: uma a duas vezes por semana. Moderadamente: duas a quatro vezes por semana. Frequentemente: mais de quatro vezes por semana.87	87
Figure 5.1 -	Chromatographic anthocyanin profiles (detection at 520 nm) of the juices obtained from Isabel grapes. A) C-D11, control grape juice from the regular season harvest (December, 2011); enlargement of the chromatographic zone where minor compounds elute. B) C-M12, control grape juice from the out of season harvest (May, 2012). C) Comparison among the chromatographic anthocyanin profiles obtained for grape juices elaborated in the harvest D11 and corresponding to control grapes (C-D11) and grapes treated with the growth regulator S-ABA at different berry development steps: 7 days before véraison (BV-D11), at the beginning of véraison (V-D11), and 7 days after véraison (AV-D11). Anthocyanin abbreviations: dp, delphinidin; cy, cyanidin; pt, petunidin; pn, peonidin; mv, malvidin; 3-glc, 3-glucoside; 3-acglc, 3-(6"-O-acetyl)-glucoside; 3-cmglc, 3-(6"-O-p-coumaroyl)-glucoside; 3,5-diglc, 3,5-diglucoside; (E)C, (epi)catechin.....109	109
Figure 5.2 -	Identification of anthocyanin-derived pigments in Isabel grape juice obtained from control grapes in the regular harvest of December, 2011 (C-D11): a) enlargement of the DAD-chromatogram (detection at 520 nm) corresponding to the elution zone of these minor compounds; b) Extracted Ion Chromatogram (EIC) at the m/z value expected for vitisin A; c) EIC at the m/z value expected for the p-coumaroyl derivative of vitisin A; d) EIC at the m/z value expected for vitisin B; e-i) EIC at the m/z value	

expected for the possible isomers of adducts formed between 3-glucosides of anthocyanidins (delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin, respectively) and (epi)catechin, linked by an ethylen bridge; j) EIC at the m/z value expected for the possible isomers of adducts formed between the p-coumaroyl derivative of malvidin 3-glucoside and (epi)catechin, linked by a ethylen bridge.110

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 -	Características físicas das bagas e dos cachos da videira 'Isabel' submetidas a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	52
Tabela 3.2 -	Antocianinas e polifenóis totais das bagas e do suco da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	53
Tabela 3.3 -	Luminosidade, saturação e matiz das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	57
Tabela 3.4 -	Densidade óptica a 420, 520 e 620 nm, intensidade cromática (IC) e tonalidade (T) do suco integral da uva 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	58
Tabela 4.1 -	Massa e diâmetro das bagas, e massa e comprimento dos cachos da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	77
Tabela 4.2 -	Antocianinas e polifenóis totais das bagas e do suco da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	78
Tabela 4.3 -	Taxa de acúmulo diário de antocianinas totais das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA (antocianinas = A + B. Tempo/dia). Maringá, PR.....	79
Tabela 4.4 -	Luminosidade, saturação e matiz das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	82
Tabela 4.5 -	Densidade óptica a 420, 520 e 620 nm, intensidade cromática (IC) e tonalidade (T) dos sucos da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.....	83
Table 5.1 -	Composition of anthocyanins and anthocyanin-derived pigments in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV,	

treatment applied 7 days before vérasion; V, treatment applied at the beginning of vérasion; AV, treatment applied 7 days after vérasion), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of March 2012 (M12).....105

Table 5.2 - Composition of hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and flavonols in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV, treatment applied 7 days before vérasion; V, treatment applied at the beginning of vérasion; AV, treatment applied 7 days after vérasion), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of March 2012 (M12).....113

Table 5.3 - Antioxidant capacity (AOC) and composition of flavan-3-ols and resveratrol derivatives in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV, treatment applied 7 days before vérasion; V, treatment applied at the beginning of vérasion; AV, treatment applied 7 days after vérasion), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of March 2012 (M12).....115

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	A VIDEIRA.....	17
2.2	A VITICULTURA NO MUNDO E NO BRASIL.....	18
2.3	SUCO DE UVA	20
2.4	A VIDEIRA 'ISABEL'	22
2.5	COMPOSTOS FENÓLICOS	24
2.5.1	Flavonoides.....	26
2.5.1.1	Antocianinas	26
2.5.1.2	Flavanóis (flavan-3-óis) e flavonóis.....	28
2.5.2	Não Flavonoides	29
2.5.2.1	Ácidos fenólicos e estilbenos	29
2.6	ÁCIDO ABCSÍCIO.....	31
	REFERÊNCIAS	36
3	ARTIGO A - COMPOSTOS FENÓLICOS E COR DA BAGA E DO SUCO DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM S-ABA EM DIFERENTES ÉPOCAS	44
3.1	RESUMO E ABSTRACT	44
3.2	INTRODUÇÃO.....	46
3.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
3.5	CONCLUSÃO	63
3.6	REFERÊNCIAS	63
4	ARTIGO B - ACÚMULO DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS NA BAGA E NO SUCO INTEGRAL DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM ÁCIDO ABCSÍCIO EM DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO	68
4.1	RESUMO E ABSTRACT	68

4.2	INTRODUÇÃO.....	70
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	71
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.5	CONCLUSÕES.....	88
4.6	REFERÊNCIAS	88
5	ARTIGO C - PHENOLIC COMPOUNDS IN JUICE OF 'ISABEL' GRAPE TREATED WITH ABSCISIC ACID FOR COLOR IMPROVEMENT	94
5.1	ABSTRACT	94
5.2	INTRODUCTION	95
5.3	MATERIAL AND METHODS.....	96
5.3.1	Chemicals	96
5.3.2	Grape Treatments and Preparation of Juices	97
5.3.3	Spectrophotometric Measurements	98
5.3.3.1	Sample preparation for HPLC analysis	98
5.3.3.2	HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ identification and quantitation of anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives in 'Isabel' grape juice	100
5.3.3.3	Identification and quantitation of flavan-3-ols and stilbenes in 'Isabel' grape juice using multiple reaction monitoring HPLC- ESI-MS/MS	101
5.3.4	Determination of Anthocyanins in 'Isabel' Grape Juice by Sodium Bisulphite Discoloration Method.....	102
5.3.5	Determination of Antioxidant Capacity of 'Isabel' Grape Juice by DPPH	103
5.3.6	Statistical analysis.....	103
5.4	RESULTS AND DISCUSSION.....	103
5.4.1	Anthocyanins in Juices of 'Isabel' Grapes Treated with S- ABA.....	103
5.4.2	Non-anthocyanin Phenolic Compounds in Juices of 'Isabel' Grapes Treated with S-ABA.....	111
5.5	CONCLUSIONS.....	116
5.6	REFERENCES	116

CONCLUSÕES GERAIS	1221
ANEXOS	122
ANEXO A – Instruções Gerais	123
ANEXO B – Questionário para Recrutamento de Proveedor.....	124
ANEXO C – Ficha de Avaliação de Amostras de Suco de Uva	125

1 INTRODUÇÃO

A viticultura apresenta importância econômica e social, por meio da geração de emprego e sustentabilidade de pequenas propriedades agrícolas. O Brasil foi o 12º maior produtor mundial de uva em 2012, com 1,5 milhão de toneladas (t) colhidas, sendo 57,1% destinados ao processamento (IBGE, 2014; MELLO, 2013).

No segmento de uvas processadas, a produção de suco tem aumentado, principalmente em função da mudança do hábito de consumo por alimentos saudáveis, uma vez que este produto apresenta propriedades bioativas, como os compostos fenólicos. Assim, no Brasil, a produção de uvas rústicas para processamento encontra-se em ascensão, e no Paraná, iniciativas nas regiões Sul, Sudoeste, Norte, Noroeste e Oeste têm permitido a introdução de diversas fábricas de suco de uva.

No Brasil, dentre as cultivares utilizadas para a elaboração de suco, a Isabel (*Vitis labrusca* L.) é a mais produzida, devido a sua rusticidade, alta produtividade e elevado acúmulo de açúcar. Entretanto, essa cultivar produz pouco material corante e o seu cultivo em regiões com altas temperaturas e com pequena amplitude térmica pode resultar em bagas pouco coloridas. Desta forma, os sucos elaborados a partir de uva 'Isabel' necessitam de cortes com sucos de cultivares tintureiras para melhorar o aspecto visual, uma vez que esse fator influencia o valor comercial do produto (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010).

Neste sentido, o efeito do regulador vegetal ácido abscísico (S-ABA) em uvas tem sido estudado por vários autores, visto que aplicações exógenas desse regulador vegetal propiciam aumento da concentração de antocianinas na casca das uvas (KOYAMA et al., 2014; ROBERTO et al., 2012; ROBERTO et al., 2013; SANDHU et al., 2011; WHEELER et al., 2009), pois estes compostos fenólicos são responsáveis pela cor de flores e frutos.

É importante ressaltar que o efeito do ABA está relacionado ao estágio fenológico da videira, portanto, é fundamental determinar a fase adequada para que a aplicação do regulador vegetal seja realizado em cada cultivar (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2011; PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007b). Embora diversos estudos tenham como referência o *véraison* (início

da maturação) para a aplicação de S-ABA, determinar com exatidão o início desse período é uma tarefa difícil, tendo em vista que esse estágio fenológico é caracterizado por mudanças no metabolismo das bagas e tais mudanças ocorrem de forma individual nas mesmas e de forma diferenciada entre as cultivares de uva (ROBINSON; DAVIES, 2000).

Além disso, as condições climáticas, como a precipitação, e o tamanho da área a ser tratada são fatores que impossibilitam a aplicação somente em uma determinada fase da maturação, em curto espaço de tempo. Em vista disso, torna-se necessário avaliar a eficiência do S-ABA, aplicado em espaço de tempo mais amplo nessa fase de maturação das uvas, ou seja, antes, durante e após o *véraison*, sobretudo em cultivares para processamento como a Isabel, que é a base de suco de uva brasileiro.

Diante desses aspectos, o objetivo do trabalho foi avaliar a composição fenólica das bagas e do suco integral, bem como a aceitação do suco de uva 'Isabel' submetida à aplicação de ácido abscísico (S-ABA) em diferentes fases de maturação da uva, visando o incremento da concentração de antocianinas.

A tese é apresentada na forma de três artigos científicos, a saber:

Artigo A: Compostos fenólicos e cor da baga e do suco de uva 'Isabel' tratada com S-ABA em diferentes fases de maturação;

Artigo B: Acúmulo de antocianinas e compostos fenólicos na baga e no suco integral de uva 'Isabel' tratada com ácido abscísico em diferentes fases de maturação;

Artigo C: Phenolic compounds in juice of 'Isabel' grape treated with abscisic acid for color improvement.

Antecedendo a apresentação dos referidos trabalhos, encontram-se os capítulos Introdução e Revisão de Literatura, de caráter geral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A VIDEIRA

A videira é classificada como planta perene, lenhosa, caducifolia e sarmentosa, provida de órgão de sustentação chamado gavinha. Pertence à família Vitaceae, a qual é constituída por 11 gêneros vivos e dois gêneros fósseis; porém, apenas os gêneros *Vitis* L. e *Muscadinia* (Planch.) Small têm importância econômica e alimentar. Abrangem aproximadamente 600 espécies dispersas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, podendo ser cultivada em quase todas as partes do mundo. Dentre as espécies de maior interesse econômico para cultivo, podem ser citadas as videiras europeias (*Vitis vinífera* L.), americanas (*Vitis labrusca* L. e outras espécies), híbridas e seus mutantes (GIOVANINNI, 2014; KISHINO, 2007; NEVES et al., 2009; PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003; PEREIRA; GUERRA; MANFROI, 2009).

O centro de origem paleontológico da videira é a Groelândia, onde há 300 mil anos, durante a Era Cenozoica, no Período Terciário, surgiu a primeira espécie, que se dispersou em duas direções: américo-asiático e euro-asiático. As espécies ancestrais colonizaram novas áreas e foram diferenciando-se em novas espécies, considerando-se atualmente três centros de dispersão da videira: Euroásia, Ásia e América (GIOVANINNI, 2014).

A Euroásia caracteriza-se por clima temperado árido, com verão quente e seco, e inverno frio e úmido. As uvas europeias ou finas surgiram há aproximadamente 300 mil anos no Cáucaso, difundindo-se pela Ásia Menor, Oriente Médio, costas do Mediterrâneo, Américas e a Oceania. As principais cultivares de uvas de mesa consumidas mundialmente ou utilizadas para elaboração de vinhos finos pertencem a este grupo ou são híbridas entre esta espécie e outras (GIOVANINNI, 2014; PEREIRA; GUERRA; MANFROI, 2009).

A Ásia é uma região de clima temperado úmido, com verão quente e úmido e inverno frio e úmido. Existem cerca de 15 espécies, porém, pouco conhecidas e utilizadas (GIOVANINNI, 2014).

Nas Américas Central e do Norte são verificadas 30 espécies nativas, as quais são distribuídas em três regiões climáticas: clima temperado árido (Califórnia), clima temperado úmido (Canadá, Nova York e centro-leste dos Estados

Unidos) e clima tropical úmido (Flórida, México e América Central). As uvas americanas também conhecidas como comum ou rústica, apresentam aroma e sabor típico e acentuado (foxado) e são utilizadas tanto para produção de sucos e vinhos quanto para consumo como fruta fresca (GIOVANINNI, 2014; PEREIRA; GUERRA; MANFROI, 2009).

Com relação às formas de utilização, além do consumo como fruta fresca, o processamento da uva em vinhos, sucos, geleias e passas podem gerar subprodutos, como o vinagre, a graspa, o óleo de semente (utilizado no setor alimentício, cosmético e farmacêutico), a enocianina e o ácido tartárico, além de fertilizantes (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013; RIZZON; MENEGUZZO; MANFROI, 2004; ROSSI; SANTOS, 2014; SILVA, 2003).

2.2 A VITICULTURA NO MUNDO E NO BRASIL

Considerada uma das principais plantas frutíferas cultivada no mundo, a produção anual de uvas em 2012 foi de 67,0 milhões de t, das quais 9,6 milhões foram produzidas na China, o que representa 14,3% da produção mundial. Outros países, tais como Estados Unidos, Itália, França e Espanha participaram com 9,9; 8,6; 7,9 e 7,8% da produção, respectivamente, e juntamente com a China, produziram 48,7% do total mundial (FAO, 2014).

No Brasil, a viticultura iniciou-se com a chegada dos colonizadores portugueses no século XVI, na Capitania de São Vicente, SP, e permaneceu como cultura doméstica até o fim do século XIX, tornando-se uma atividade comercial no início do século XX, por iniciativa dos imigrantes italianos. Por volta de 1830-1840, a introdução de variedades americanas, principalmente a 'Isabel', provocou o ressurgimento da viticultura do Estado de São Paulo, que praticamente havia desaparecido com o descobrimento do ouro e a expansão do cultivo da cana-de-açúcar e do café. No início do século XX, a 'Isabel' começou a ser substituída pela 'Niagara Branca', utilizada como uva de mesa, e pela uva para vinificação, a 'Seibel 2'. Em 1933, o surgimento da mutação da 'Niagara Branca', a 'Niagara Rosada', tornou o Estado de São Paulo o maior produtor de uva de mesa do Brasil (POMMER; MAIA, 2003; PROTAS; CAMARGO; MELLO, 2006).

Segundo Protas, Camargo e Mello (2006), a viticultura brasileira ficou restrita às regiões Sul e Sudeste, até a década de 60. A partir de então, o

cultivo da videira se difundiu para várias regiões do Brasil. Atualmente, a área plantada situa-se em torno de 82,9 mil hectares (ha), com a produção média de 1,5 milhão de t, representando cerca de 2% da produção mundial, sendo que do total de uvas colhidas em 2012, 57,1% foram referentes à uva para processamento e 42,9%, à uva de mesa (IBGE, 2014; MELLO, 2013).

Dentre os principais Estados brasileiros produtores de uva, o Rio Grande do Sul é o maior produtor, com 840.251 t, seguido de Pernambuco, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, com a produção de 224.758, 214.684, 78.614 e 71.019 t, respectivamente. Além desses, merecem destaque os Estados da Bahia e Minas Gerais, onde são produzidas 62.292 e 10.831 t, respectivamente (IBGE, 2014).

No Paraná, o cultivo da videira abrange uma área de 5.824 ha, destacando-se duas regiões vitivinícolas: a região Metropolitana de Curitiba, que é tradicional e conhecida pela produção de vinhos de mesa, em especial da cultivar Bordô, e a região Norte do Estado, nos municípios de Londrina, Marialva, Maringá, Rolândia e outros adjacentes, onde predomina a produção de uvas finas de mesa (IBGE, 2014; PROTAS; CAMARGO, 2011).

A vitivinicultura na região Metropolitana de Curitiba, concentrada nos municípios de Colombo, São José dos Pinhais e Campo Largo, se originou com a colonização italiana, nas primeiras décadas do século XX. A cultivar Bordô, localmente denominada Terci ou Folha de Figo, foi a base da produção, originando o vinho típico regional, elaborado em pequenas vinícolas familiares (PROTAS; CAMARGO, 2011).

No Norte do Paraná a viticultura foi introduzida na década de 1970 pela colônia japonesa, cujo foco era a produção de uva fina de mesa, com predominância da cultivar Itália. Nesta região, verifica-se o cultivo de uvas finas de mesa, como a 'Itália', 'Rubi', 'Benitaka' e 'Brasil'; e em menor proporção, as uvas rústicas de mesa, como a 'Niágara Rosada'. Além dessas, registrou-se um crescimento significativo na produção de uvas rústicas para processamento, em decorrência do projeto de produção de suco de uva concentrado, implantado por cooperativas. A principal cultivar produzida é a Isabel com uma área de 220 ha, seguida pela Concord com 19 ha, BRS Carmem com 12 ha e BRS Violeta com 8 ha (ASSIS et al., 2011; PROTAS; CAMARGO, 2011; PROTAS; CAMARGO; MELLO, 2006).

2.3 SUCO DE UVA

A elaboração de suco é uma das várias alternativas de aproveitamento da uva, a qual vem aumentando no Brasil, em função principalmente do interesse do consumidor por produtos saudáveis, por estar associado à redução de risco de algumas doenças e à melhoria da qualidade de vida (IBRAVIN, 2011; GURAK et al., 2010; RIZZON; MENEGUZZO, 2007).

De acordo com a legislação brasileira, o suco de uva é a bebida não fermentada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, através do processo tecnológico adequado, submetida ao tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. O suco de uva pode ser classificado conforme o processo de obtenção e constituição em: integral, o qual apresenta concentração natural, sem qualquer adição de açúcar; concentrado, aquele parcialmente desidratado, sendo vedada a adição de açúcar; reconstituído, obtido através da diluição de suco concentrado ou desidratado até a concentração original do suco integral ou até alcançar o teor mínimo de sólidos solúveis estabelecido para suco integral; desidratado, apresenta forma sólida obtido pela desidratação do suco de uva, cujo teor de umidade não deverá ultrapassar 3% (BRASIL, 2014).

De acordo com Marzarotto (2010), a elaboração de derivados não alcoólicos de uva é muito antiga. Gregos e romanos concentravam e conservavam o mosto da uva através do calor, o qual era utilizado como substituto do mel, para adoçar os vinhos e diminuir sua aspereza, na preparação de doces e como bebida, após sua reconstituição com água. Rizzon e Meneguzzo (2007) relataram que, em função da facilidade de elaboração, aliada às características sensoriais (cor, odor e sabor), e ao seu valor nutricional, o suco de uva pode contribuir na dieta alimentar.

Nutricionalmente, o suco é comparado com a própria uva, pois apresenta em sua composição todos os constituintes principais como: açúcares, minerais, ácidos e vitaminas. Além disso, é rico em fontes de compostos bioativos, como os compostos fenólicos que estão diretamente relacionados às características sensoriais como a cor e o sabor. Estudos epidemiológicos, clínico e *in vitro* tem demonstrado os efeitos biológicos associados à dieta com compostos fenólicos, tais como atividade antioxidante, antiinflamatório, antimicrobial e anticancerígeno, além de auxiliar no combate as doenças crônicas e vasculares (DÁVALOS; LASUNCIÓN, 2009; REBELLO et al., 2013; RIZZON; MENEGUZZO, 2007).

O consumo de suco de uva como fonte de compostos fenólicos pode apresentar vantagens em relação ao vinho, devido à ausência de álcool, o que permite que o suco seja consumido pela maioria das pessoas, inclusive as crianças (ROMERO-PÉREZ et al., 1999).

O Brasil não dispõe de estatísticas precisas de produção e de comercialização nacional de vinhos e de suco de uvas. Entretanto, como o Rio Grande do Sul é responsável por mais de 90% da produção do país, essa referência possibilita a análise aproximada do desempenho da agroindústria. Em 2012, a produção de suco de uva integral foi em torno de 31,9 milhões de litros (L), sendo comercializados 53,8 milhões de L (MELLO, 2013). Nesse mesmo ano, a exportação de suco integral foi de 2,5 milhões de quilos (kg), principalmente para o Japão, México, Venezuela e Paraguai e foram importados 640,6 mil kg de suco, sendo a Coréia do Sul responsável por 84,7% desse montante (MELLO; MACHADO, 2014).

Quanto ao consumo brasileiro de bebidas, os sucos ocupam a nona posição, com 4 L *per capita* (IBRAVIN, 2013). Segundo os dados da CONAB (2011), o consumo *per capita* do suco de uva vem crescendo e, no ano de 2006, o consumo que era de 0,56 aumentou para 0,80 L *per capita* em 2011.

Com relação ao processamento, o primeiro suco de uva foi preparado nos Estados Unidos pelo Dr. Thomas Welch, em 1869, que obteve êxito em conservar o suco utilizando a teoria da pasteurização. “Welch” passou então a ser sinônimo de processo de elaboração de suco de uva (MARZAROTTO, 2010).

No Brasil, identificam-se dois processos básicos de produção de suco de uva: Flanzky e Welch. O processo Flanzky prevê a maceração sulfurosa da uva esmagada para extração de cor, a separação do suco sulfitado, conservação em tanques até o momento da comercialização, quando é dessulfitado e engarrafado. É um processo simples e econômico; porém, atualmente tem menor utilização em razão da perda de qualidade do suco e dos problemas ambientais decorrentes da separação dos sulfitos. No processo Welch, a extração da cor ocorre por aquecimento da uva, seguida da separação do suco, estabilização, engarrafamento ou armazenamento em tanques. Este processo tem o potencial de produzir sucos de melhor qualidade organoléptica e sem resíduos de sulfitos (RIZZON; MANFROI; MENEGUZZO, 1998; MARZAROTTO, 2010).

Há também o método de extração por arraste a vapor, que se popularizou entre os pequenos produtores de uva que começaram a transformar sua

produção, com o objetivo de agregar valor à matéria-prima e aumentar a renda da família. Este processo é uma derivação do método Welch, o qual é adotado por cerca de 400 agroindústrias que produzem de 8 milhões de L de suco de uva integral (BRESOLIN; GULARTE; MANFROI, 2013; SUCO DE UVA DO BRASIL, 2014).

Novos processos industriais para a elaboração de suco de uva e vinho vêm sendo adotados, como o flash deténte ou flash release, o qual permite a extração de compostos fenólicos de forma mais eficiente. Esse processo consiste em aquecer as uvas rapidamente a temperaturas elevadas, acima de 95°C, utilizando vapor biológico, ou seja, vapor produzido pela água presente na própria uva. Em seguida o mosto aquecido é submetido ao vácuo sob temperaturas baixas, fazendo com que a parede celular da casca da uva se rompa extraindo os compostos fenólicos (MOREL-SALMI et al., 2006; RODRIGUEZ-MENDEZ et al., 2014).

O suco de uva pode ser elaborado com qualquer cultivar, desde que esta alcance uma maturação adequada e apresente bom estado sanitário. As cultivares destinadas à produção de suco de uva devem apresentar algumas características, como bom rendimento em mosto, adequada relação açúcar/acidez, aroma e sabor (agradável e bem definido), além de bom nível de maturação e sanidade. A escolha da cultivar para a elaboração do suco de uva deve considerar também a preferência do consumidor (RIZZON; MENEGUZZO, 2007). A realização de cortes ou misturas entre as diferentes cultivares é bastante comum para que se tenha um suco de qualidade, com coloração, doçura e sabor adequados, de forma a valorizar as características relevantes de cada cultivar (MAIA et al., 2013).

2.4 A VIDEIRA 'ISABEL'

A 'Isabel' (Figura 2.4.1), juntamente com a 'Concord' e a 'Bordo', faz parte das principais cultivares de uva destinadas ao processamento. Também conhecida como 'Isabella', 'Uva-Manga', 'Americana' e 'Nacional', a 'Isabel' é originária da Carolina do Sul, EUA, e foi introduzida no Brasil em 1840, por John Rudge, na cidade de São Paulo (HERNANDES; MARTINS, 2010; MARZAROTTO, 2010).

Em virtude de sua boa adaptação à região Sul do Brasil, esta cultivar consolidou a viticultura no País, sendo a mais plantada no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010).

Figura 2.4.1 - Cachos da videira 'Isabel'.



A videira 'Isabel' é vigorosa, rústica e produtiva; seus cachos são cônicos e soltos, pesando em torno de 125 g. Sua baga é arredondada, de tamanho médio, preta e revestida de pruína; tem polpa mole, com bastante suco e sabor altamente foxado, característico das labruscas, podendo ser utilizada tanto como uva de mesa quanto para processamento em suco, vinho, doces e geleias (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010; KISHINO, 2007; SATO et al., 2008, 2009).

Esta cultivar apresenta elevado potencial de acúmulo de açúcar, variando entre 15 a 19°Brix, podendo superar estes valores dependendo das condições de safra (MARZAROTTO, 2010; RIZZON; MENEGUZZO, 2007). Devido a sua deficiência em cor, normalmente os produtos elaborados com essa cultivar precisam ser cortados com suco de cultivares tintureiras para a obtenção de produtos com a intensidade de coloração que o mercado exige (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010; SATO et al., 2009).

Conforme Koshita et al. (2011) e Roberto et al. (2013) o desenvolvimento da cor da uva é um evento de importância biológica e econômica,

uma vez que produtos com pouca cor podem acarretar em alterações no preço, em função da aceitabilidade do consumidor.

Maia et al. (2013) e Borges et al. (2011), em estudo com as uvas 'Isabel Precoce' e 'Isabel', respectivamente, recomendaram o corte dos sucos com outras cultivares, como a Concord, a BRS Rúbea, a BRS Cora, a BRS Magna, a BRS Violeta e a BRS Carmem, visando a melhoria na cor e no equilíbrio gustativo. Entretanto, apesar das vantagens, os entraves em relação ao teor de açúcar, à adaptação de algumas cultivares utilizadas nesses cortes em regiões de clima quente, entre outros, precisam ser solucionados, de modo a não limitarem o desenvolvimento de polos vitícolas voltados à produção de suco e de vinhos de mesa em regiões subtropicais e tropicais (CAMARGO; MAIA, 2004). Além disso, para a indústria, a matéria-prima com baixo conteúdo de açúcar onera custos adicionais, como o transporte, quanto custos operacionais, pois uma quantidade maior de uvas deve ser trabalhada para obtenção de 1 kg de suco (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010).

Considerando a predominância da produção da uva 'Isabel' nas principais regiões produtoras de suco e o fato de que o paladar do consumidor brasileiro está habituado ao suco desta cultivar, é pouco provável que, num primeiro momento, as agroindústrias de suco de uva utilizem como matéria-prima grandes volumes dessas cultivares (BORGES et al., 2011).

Desta forma, torna-se necessário buscar por alternativas fitotécnicas que permitam melhorar a qualidade do suco de uva 'Isabel', principalmente no quesito matéria corante.

2.5 COMPOSTOS FENÓLICOS

Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo de frutas e hortaliças está associado ao baixo risco de desenvolver doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, hipertensão, entre outras. Este fato pode ser atribuído ao alto teor de compostos com propriedades biotivas, conhecidas como fitoquímicos, tais como compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas e metabólitos endógenos, os quais estão presentes nos vegetais (GIUSTI; JING, 2007; HOWARD; HAGER, 2007; WANG, 2007).

Dentre as frutas consideradas como alimentos funcionais, a uva e seus derivados aparecem sempre em posição de destaque e o papel benéfico do seu consumo tem sido associado à atividade antioxidante dos seus constituintes fenólicos (PINTO et al., 2011).

Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas hidroxiladas, com grande diversidade estrutural, variando de uma molécula a polímeros, encontrada naturalmente em cereais, hortaliças, frutas, chá, ervas, chocolate, café e vinho. Aproximadamente 8 mil tipos de compostos fenólicos são conhecidos, sendo genericamente classificados em fenóis simples e polifenóis, com base no número de subunidades de fenóis presentes (ARAÚJO, 2011).

Esses compostos são produtos secundários produzidos pelas plantas, os quais apresentam funções diversas nos vegetais, podendo agir como compostos de defesa contra herbívoros e patógenos. Outros têm função no suporte mecânico, como atrativo de polinizadores ou dispersores de frutos, na proteção contra a radiação ultravioleta ou reduzindo o crescimento de plantas competidoras adjacentes. Além disso, em alimentos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; PINTO et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Na natureza, os compostos fenólicos são geralmente encontrados conjugados com açúcares e ácidos orgânicos, sendo classificados em flavonoides e não flavonoides. Todos os flavonoides possuem estrutura básica contendo dois anéis benzeno ligados ao anel heterocíclico pirano. Por outro lado, os não flavonoides incluem grupos de compostos mais heterogêneos, encontrados em grande quantidade e em diversas formas químicas, incluindo os fenóis simples, fenóis ácidos (ácido benzoico e ácido hidrocínâmico), cumarinas, estilbenos, lignanas e taninos (ARAÚJO, 2011; GUERRA, 2012).

As uvas acumulam uma vasta gama de compostos fenólicos, principalmente polifenóis, havendo diferença na composição fenólica entre variedades e as condições ambientais as quais são submetidas. Em videiras a biossíntese destes compostos é diretamente influenciada pelas cultivares e suas características genéticas, pela temperatura, umidade, exposição solar, tipo de solo e adubação, dentre outros fatores (CASTELLARIN et al., 2012; PINTO et al., 2011).

Em estudo realizado em Maringá, PR, Sato et al. (2012) verificaram valores de compostos fenólicos totais de 474 e 487 mg 100g⁻¹, para as cultivares

Alicante e Syrah, respectivamente. Para a 'Isabel' cultivada na mesma região, Koyama et al. (2014) registraram 27 mg 100g⁻¹ de polifenóis totais. Abe et al. (2007), ao avaliarem os compostos fenólicos de cultivares de uva, em Minas Gerais, registraram valores que variaram de 65 mg 100g⁻¹ para 'Moscato Embrapa' a 391 mg 100g⁻¹ para a 'Folha de Figo'.

2.5.1 Flavonoides

Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides (C6 – C3 – C6) constituem a maior classe nos vegetais e possuem duas subunidades de fenóis, incluindo seis subclasses, diferindo no estado de oxidação do anel piril heterocíclico e dos dois anéis aromáticos. São glicosídeos de polihidroxi e polimetoxi derivados do 2-fenilbenzopirillium ou íon flavilium. A variação no anel heterocíclico é a base de classificação dos flavonoides em várias subclasses: flavonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas. Acima de 4.000 tipos são conhecidos e estão presentes na forma glicosilada com diferentes tipos de açúcares. Os flavonoides desempenham funções diversas nos vegetais, incluindo pigmentação e defesa (ARAÚJO, 2011; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2009).

2.5.1.1 Antocianinas

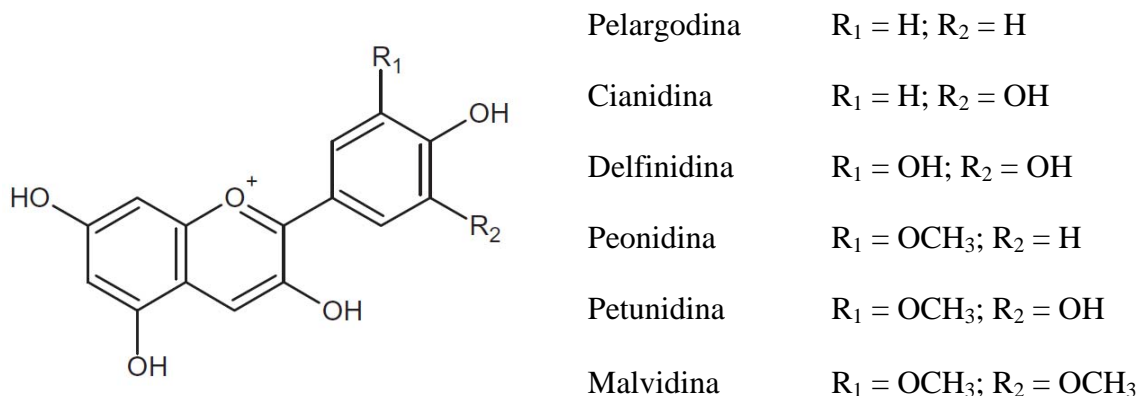
O grupo mais comum dos flavonoides pigmentados consiste nas antocianinas, as quais são responsáveis pela maioria das cores vermelho, rosa, roxo e azul observada nos vegetais. Por colorir flores e frutos, as antocianinas são de importância vital como atrativo para polinizadores e dispersores de sementes. As antocianinas são consideradas substitutas potenciais para corantes sintéticos, devido ao seu brilho, cor atrativa e solubilidade em água, o que permite sua incorporação em alimentos. Pesquisas realizadas têm demonstrado que os pigmentos das plantas, além de promoverem a cor, são potentes antioxidantes e parecem trazer inúmeros benefícios à saúde (BORDIGNON-LUIZ et al., 2007; GIUSTI; JING, 2007; LOPES et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Nas uvas, as antocianinas estão localizadas principalmente na casca, podendo ser encontradas também nas polpas de algumas variedades tintureiras ricas em cor. O aumento do conteúdo de compostos fenólicos na casca

ocorre desde a mudança da cor até a completa maturação. As antocianinas aparecem com a mudança de cor e se acumulam durante o processo de maturação, atingindo o máximo na maturação, podendo reduzir quando ocorre a sobrematuração. Dependendo da condição ambiental, o conteúdo máximo pode coincidir com o máximo da relação de sólidos solúveis totais e acidez, mas também pode ocorrer antes ou depois, bem como variar entre as safras, dependendo das condições climáticas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

As antocianinas possuem estrutura planar, contendo dois anéis benzênicos separados pelo anel heterocíclico (Figura 2.5.1.1.1). Aproximadamente 600 antocianinas são conhecidas, sendo encontradas na forma heterosídica. Os açúcares mais comuns são glicose, galactose, arabinose, ramanose e xilose. A forma aglicona é denominada de antocianidina, sendo a sua estrutura fundamental o núcleo flavilium. Entre as 20 antocianidinas conhecidas, que ocorrem naturalmente, apenas seis são mais frequentes: cianidina, delphinidina, pelargonidina, malvidina, petunidina e peonidina. Dentre essas, a pelargonidina não é encontrada em uvas. A diferença na estrutura química entre elas se verifica nas posições 3' e 5' do anel B, podendo ser acilado com os ácidos ferúlico, caféico e *p*-cumarico (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Figura 2.5.1.1.1 - Estrutura das principais antocianidinas.



A diferença entre as antocianinas ocorre em função de vários fatores, como: número de grupos hidroxilas esterificados na molécula, grau de metoxilação desses grupos, natureza, número de posição da glicosilação, natureza e número de ácidos alifáticos e aromáticos ligados aos resíduos glicosídeos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

De acordo com Belitz; Grosch e Schieberle (2009), a estrutura da molécula da antocianina apresenta um efeito pronunciado na intensidade e estabilidade da cor. O aumento da hidroxilação resulta na mudança da cor vermelha para azul (pelargodina - cianidina - delphinidina), enquanto a formação de glicosídeos e a metoxilação são responsáveis pela cor vermelha (pelargodina - pelargodina – pelargodina-3-glucosideo/cianidina - peonidina).

O padrão de acilação e glicosilação varia de acordo com a espécie. A *Vitis vinifera* apresenta antocianidinas glicosiladas apenas na posição 3', ou seja, monoglicosilada; enquanto, nas espécies como *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. labrusca* e seus híbridos com *V. vinifera* são encontradas também os 3,5-diglicosídeos. Os diglicosídeos podem ser detectados por testes químicos e também separados dos monoglicosídeos por cromatografia (COULTATE, 2004; GUERRA, 2012).

As antocianinas são muito instáveis, sendo degradadas durante o processamento e armazenamento, devido à sensibilidade a luz, temperatura, pH, oxigênio, entre outros. Esses pigmentos apresentam maior estabilidade em condições ácidas. Tanto a cor quanto a sua estabilidade são fortemente influenciadas pelos substituintes da aglicona (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004).

A composição das antocianinas, bem como as suas concentrações são importantes para a qualidade do vinho em função de cada antocianina apresentar características diferentes com relação à cor e a estabilidade (MORI et al., 2005). Desta forma, supõe-se que para outros derivados de uva, como o suco, esse fator também seja importante para a qualidade do produto obtido.

2.5.1.2 Flavanóis (flavan-3-óis) e flavonóis

Os flavanóis e flavonóis, assim como as antocianinas, fazem parte do grupo dos flavonoides. Os flavanóis contribuem para o sabor, especialmente a adstringência e o amargor, e também estão envolvidos no desenvolvimento de escurecimento oxidativo e precipitados. Os flavanóis, também conhecidos como flavan-3-óis, por serem hidroxilados na posição 3, são encontrados como monômeros, porém também como oligômeros e polímeros (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009).

Os flavanóis mais comuns em uvas são as (+)-catequinas, (-)-epicatequinas, (-)-galato de epicatequina e, menos comumente, a (-)-

epigallocatequina. As catequinas e epicatequinas são particularmente abundantes em sementes e na casca da uva (ABE et al., 2007; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009).

Os oligômeros e polímeros possuem três ou mais subunidades de fenóis $(C_6 - C_3 - C_6)_n$. Também são chamados de taninos condensados ou proantocianidinas e podem se combinar com proteínas e outros polímeros, tais como polissacarídeos. A cor dos taninos varia de amarelo a marrom-escuro, sendo incolores até se oxidarem, e contribuem para a adstringência de alimentos (ABE et al., 2007; JACKSON, 2008; PINTO et al., 2011; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

As proantocianidinas caracterizam-se por se transformarem em antocianidinas quando aquecidas em meio fortemente ácido, mediante ruptura das suas ligações interflâvanicas C-C, ou seja, as ligações entre as unidades monoméricas. Como exemplo de antocianidinas formadas, há a cianidina, que deriva de procianidinas, e a delphinidina, que deriva de prodelfinidinas (GUERRA, 2012).

Quanto aos flavonóis, são compostos amarelos presentes nas cascas, tanto de uvas brancas quanto de vermelhas, e se acumulam no vacúolo celular da epiderme e na hipoderme exterior, onde absorvem os raios ultravioletas, protegendo os tecidos internos dos danos causados pela radiação UV. Nas uvas, os flavonóis são mais abundantes em relação aos flavanóis e são encontradas na forma de glicosídeo, sendo diferenciados pela substituição do núcleo lateral produzindo kaempferol, quercetina, isoramnetina, miricetina, laricetrina e siringetina, sendo que somente os três primeiros são produzidos em uvas brancas (ABE et al., 2007; CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009; MAVITTI et al., 2006; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Embora presentes em menor quantidade, os flavonóis, possuem importante papel no desenvolvimento da cor, contribuindo diretamente para a coloração de vinhos brancos e atuam como co-pigmentos juntamente com as antocianinas (ABE et al., 2007; CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009).

2.5.2 Não Flavonoides

2.5.2.1 Ácidos fenólicos e estilbenos

Os principais compostos não flavonóides da uva são os ácidos fenólicos e os estilbenos. Os ácidos fenólicos contêm um grupo carboxílico, sendo

subdivididos em dois tipos: derivados do ácido benzóico (C6-C1) e ácido cinâmico (C6-C3) (GUERRA, 2012).

Os ácidos benzoicos em uvas incluem os ácidos galílico, salicílico e gálico. O ácido galílico se acumula em baixos níveis. O ácido salicílico apresenta propriedades antiinflamatórias, sendo responsável pela resposta a infecção por patógenos, mas sua quantidade nas uvas é baixa. O ácido gálico está presente principalmente nas sementes das uvas, onde frequentemente forma ésteres com catequinas (CASTELLARIN et al., 2012).

Os ácidos hidroxicinâmicos são os principais ácidos fenólicos em uvas e foram identificados em pequenas quantidades na forma livre, mas geralmente são esterificados, principalmente com o ácido tartárico, e podem se associar também com açúcares, álcoois e outros ácidos orgânicos. Os mais comuns são *p*-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico e suas formas esterificadas com ácido tartárico ácido cutárico, ácido caftárico e ácido fertárico. Estes compostos estão presentes principalmente como isômeros *trans*, mas a forma *cis* também tem sido detectada (ARAÚJO, 2011; CASTELLARIN et al., 2012; JACKSON, 2008; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Estas moléculas estão presentes nos vacúolos das células da casca e da polpa e nas sementes da uva (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; GIL; PSZCZÓLKOWSKI, 2007). Os ácidos fenólicos são incolores em solução diluída de álcool, mas podem se tornar amarela devido à oxidação. Em vinhos brancos este composto é importante para a cor (KENNEDY; SAUCIER; GLORIES, 2006; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Os estilbenos (C6 – C2 – C6) são considerados como fitoalexinas, ou seja, são compostos químicos de baixo peso molecular com propriedades antimicrobianas produzidas pelas plantas, os quais são produzidos após a interação da planta com os microrganismos. Estes compostos estão presentes tanto em tecidos comestíveis e não comestíveis das plantas, sendo a uva uma das maiores fontes. Seu conteúdo nas uvas aumenta do *véraison* até a maturação (CASTELLARIN et al., 2012; SUN et al., 2006).

A principal fitoalexina nas uvas é o resveratrol e seu glicosídeo piceid, produzido na casca da uva como resposta ao estresse causado por ataque fúngico (*Botrytis cinerea* e *Plasmopora viticola*), dano mecânico ou por irradiação de luz ultravioleta. Quantidades menores de vários compostos relacionados, derivados

do resveratrol como pterossilbeno e viniferins, também podem ocorrer (JACKSON, 2008; SAUTTER et al., 2005).

O resveratrol é sintetizado naturalmente na planta sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) e *cis*-resveratrol (*cis*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno). O isômero *trans*-resveratrol é convertido para *cis*-resveratrol em presença da luz visível, a qual é mais estável (PINTO et al., 2011; SAUTTER et al., 2005).

Em uvas, a grande diversidade entre as cultivares resulta em diferentes características, tanto de sabor quanto de cor, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil dos polifenóis. Por ser a matéria-prima para a produção de vinhos e sucos, é importante conhecer os teores de compostos fenólicos das uvas, pois estes podem influenciar a qualidade dos produtos finais (ABE et al., 2007).

2.6 ÁCIDO ABCÍSIKO

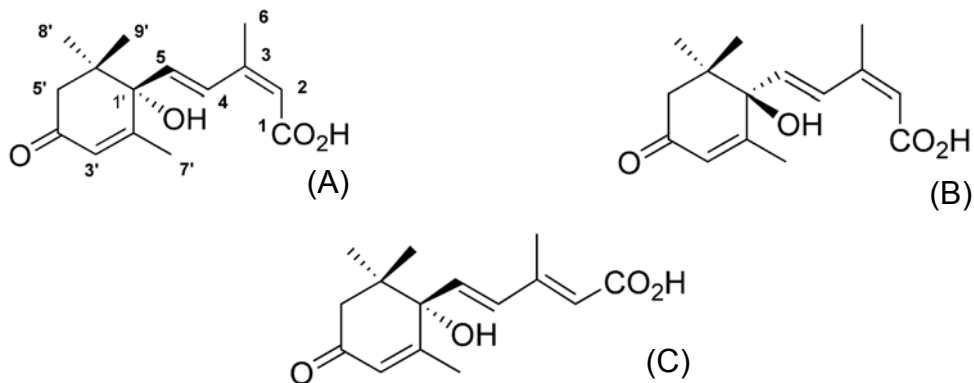
A concentração de compostos fenólicos em frutas e hortaliças é regulada pelos fatores genéticos, ambientais, fisiológicos e químicos, como temperatura, luz, precipitação, solo e reguladores de crescimento vegetal (HIRATSUKA et al., 2001; SANDHU et al., 2011).

Os reguladores de crescimento são compostos orgânicos ou sintéticos, não nutrientes, que sob baixas concentrações promovem, inibem ou modificam processos morfológicos e fisiológicos do vegetal. Esse grupo de substâncias inclui as auxinas (AUX), citocininas (CK), giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), etileno (ET) brassinoesteroides (BR) e ácido jasmônico (JA) (CASTRO, 2006). Quase todos os aspectos do crescimento e do desenvolvimento vegetal sofrem controle hormonal em maior ou menor grau, sendo que um único hormônio pode controlar vários processos celulares, enquanto um único processo pode ser controlado por vários hormônios (LIMA FILHO et al., 2009).

O ABA é um composto de 15 carbonos, sendo os isômeros *cis* e *trans* determinados pela orientação do grupo carboxila no carbono 2. Além disso, possui um átomo de carbono assimétrico na posição 1' do anel, resultando nos enantiômeros *S* e *R* (Figura 2.6.1). O ABA sintético disponível comercialmente para uso laboratorial é a mistura de quantidades aproximadamente iguais desses

enantiômeros (TAIZ; ZEIGER, 2009; VALENT BIOSCIENCES CORPORATION, 2010, ZAHARIA et al., 2005). Os estudos pioneiros realizados com aplicação de ABA em híbridos de uva como a 'Kyoho' e a 'Olimpia' (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) evidenciaram o aumento da concentração de antocianinas nas cascas (HAN et al., 1996; KATAOKA; SUGIURA; UTSUNOMIYA, 1982; LEE; TOMANA, 1980; MATSUSHIMA et al., 1989). Historicamente, o custo de produção do ABA era muito alto e não justificava o seu uso na agricultura; no entanto, a melhoria recente nos métodos de produção, por meio do fungo *Botrytis* sp., o tornou eficiente a ponto de ser reconsiderado o seu potencial na viticultura (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOTO, 2007; REDAGRICOLA, 2011; PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIN, 2006, 2007a). Dessa forma, a obtenção desse regulador por processo biológico e que apresenta somente a forma S, a qual é a mais ativa, permitiu o seu registro para a cultura das videiras em diversos países (VALENT BIOSCIENCES CORPORATION, 2010, ZAHARIA et al., 2005).

Figura 2.6.1 - Estruturas químicas (*S*)-*cis*-ABA (A), (*R*)-*cis*-ABA (B) e (*S*)-2-*trans*-ABA (C).



O ABA desempenha um papel importante na maturação e dormência de sementes e gemas, bem como nas respostas ao estresse, em particular ao estresse hídrico, inibindo o crescimento e a abertura estomática (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O processo de maturação das bagas está relacionado à redução dos níveis de alguns reguladores vegetais e o aparecimento do ABA. Durante o desenvolvimento do ovário até a maturação, a uva segue uma evolução comum dividida em três fases. Na antese há uma concentração elevada de ABA; porém, a

partir da primeira fase de desenvolvimento das bagas ocorre declínio de sua concentração, atingindo nível mais baixo aos sete a dez dias antes do *véraison*; e, nesta fase também é verificado o crescimento da baga e o incremento no conteúdo de auxinas, citocininas e giberelinas, que estimulam a divisão e o crescimento celular. Na segunda fase, correspondente ao *véraison*, os níveis desses reguladores vegetais reduzem, ocorrendo um crescimento lento da baga. Por outro lado, os níveis de ABA aumentam novamente, se estendendo até o estabelecimento da maturação, quando ocorre novamente sua queda. Além disso, ocorre o incremento na concentração de etileno e brassinoesteróides. A terceira fase corresponde a uma segunda fase de crescimento, ocorrendo o acúmulo de açúcar, potássio, aminoácidos, e compostos fenólicos, enquanto a concentração de ácido málico e amônio decrescem (DAVIES; BOSS; ROBINSON, 1997; JACKSON, 2008; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Além de influenciar outros aspectos do desenvolvimento vegetal, por interagir, geralmente, como antagonista, com as auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e brassinosteróides, o ABA também é reportado como sendo um dos responsáveis pela síntese de antocianinas (BAN et al., 2003; GAGNÉ et al., 2011; KOYAMA, SADAMATSU, GOTO-YAMAMOTO, 2010; OWEN et al., 2009; TAIZ; ZEIGER, 2009). Análises de expressão gênica da rota de biossíntese de antocianinas realizadas com células *in vitro* e bagas de uvas tratadas com S-ABA exógeno comprovam o seu envolvimento na biossíntese de antocianinas. No entanto, estudos recentes têm sugerido que o ABA pode ser o único promotor de produção de antocianinas (BAN et al., 2003; GAGNÉ et al., 2011; HIRATSUKA et al., 2001; KOYAMA, SADAMATSU, GOTO-YAMAMOTO, 2010; NICOLAS et al., 2014; OWEN et al., 2009).

O manejo adequado das plantas pode contribuir para o aumento dos compostos fenólicos e uma dessas estratégias é a aplicação exógena de reguladores de crescimento, como o ABA, o qual pode modificar a expressão dos genes envolvidos na biossíntese de antocianinas, bem como da produção e acúmulo das antocianinas em uvas (HE et al., 2010; SANDHU et al., 2011).

O incremento da cor de uvas, por meio da aplicação exógena de ABA também foi reportado por vários autores. Koyama et al. (2014), ao aplicar S-ABA na uva 'Isabel' verificaram o aumento de antocianinas totais nas bagas e nos sucos. Da mesma forma, Roberto et al. (2012, 2013) e Ferrara et al. (2013)

relataram o aumento da cor das uvas de mesa 'Rubi', 'Benitaka' e 'Crimson Seedless' mediante a aplicação de S-ABA. Gardin et al. (2012) observaram a melhoria na qualidade da uva 'Cabernet Sauvignon' com a aplicação combinada de ABA e etephon (etileno). O aumento de antocianinas e da cor da 'Cabernet Sauvignon' com a aplicação de ABA foram reportados por Balint e Reynolds (2013), Deis et al. (2011), e Koyama, Sadamatsu e Goto-Yamamoto (2010). Para as uvas 'Flame Seedless' (PEPPI; FIDELIBUS, 2008), 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a) 'Merlot' (OWEN et al., 2009) e 'Pinot Noir' (MORI et al., 2005) também foi constatado aumento de antocianinas quando tratadas com ABA. Em experimento realizado por Berli et al. (2011), a aplicação de ABA incrementou a concentração de polifenóis totais da casca da 'Malbec', além de modificar o perfil de antocianinas.

A cor do suco de uva, possivelmente mais que qualquer outro fator, influencia significativamente a aceitabilidade do produto, sendo utilizada como forte indicador de qualidade. Dessa forma, o desenvolvimento de produtos de aparência atrativa é de suma importância para a indústria de alimentos (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004).

O efeito da aplicação de ABA no incremento da cor também pode estar relacionado à época de aplicação, uma vez que a videira se mostra mais sensível ao ABA por um determinado número de dias. Desta forma, a escolha correta da época de aplicação é fundamental para avaliar o seu efeito (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2011). Peppi, Fidelibus e Dokoozlian (2006, 2007b), ao avaliarem as uvas 'Flame Seedless' e 'Crimson Seedless' concluíram que a aplicação de ABA no *véraison* e pós *véraison* possibilita a obtenção de uvas mais coloridas. Por outro lado, em experimento realizado por Giribaldi, Hartung e Schubert (2011), a aplicação antes do *véraison* foi mais efetiva para a 'Cabernet Sauvignon'.

Embora vários estudos tenham sido realizados, é uma tarefa difícil determinar com exatidão o *véraison* (início da maturação) como referência para a aplicação de S-ABA, o que pode variar muito entre as variedades. O *véraison* é caracterizado por mudanças no metabolismo das bagas, que incluem o acúmulo de açúcar e o amolecimento das bagas, a síntese de antocianinas, o metabolismo de ácidos orgânicos, o acúmulo de compostos aromáticos e as mudanças no nível de substâncias de crescimento, sendo que estas ocorrem de forma individual nas bagas e de forma diferenciada entre as cultivares de uva (ROBINSON; DAVIES, 2000).

Além desse fato, as condições climáticas, como a precipitação, e o tamanho da área a ser tratada são fatores que impossibilitam a aplicação somente em uma determinada fase da maturação, em curto espaço de tempo. Em vista disso, torna-se necessário avaliar a eficiência do S-ABA, aplicado em espaço de tempo mais amplo nessa fase de maturação das uvas, ou seja, antes, durante e após o *véraison*, sobretudo em cultivares para processamento como a 'Isabel', que é a base de suco de uva brasileiro, mas que apresenta carência de cor.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394-400, 2007.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2011. 601p.
- ASSIS, A. M. et al. Evolução da maturação e características físico-químicas e produtivas das videiras 'BRS Carmem' e 'Isabel'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, volume especial, p.493-498, 2011.
- BALINT, G.; REYNOLDS, A. G. Impact of exogenous abscisic acid on vine physiology and grape composition of Cabernet Sauvignon. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.64, p.74-87, 2013.
- BAN, T. et al. Abscisic acid and 2, 4-dichlorohenoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v.78, p.586-589, 2003.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4 ed. Berlim: Springer, 2009. 1070p.
- BERLI, F. J. et al. Solar UV-B and ABA involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.59, p.4874-4884, 2011.
- BORDIGNON-LUIZ et al. Colour stability of anthocyanin from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **Swiss Society of Food Science and Technology**, v.40, p.594-599, 2007.
- BORGES, R. S. et al. Avaliação sensorial de suco de uva cv. Isabel em cortes com diferentes cultivares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.especial 1, p.584-591, 2011.
- BRASIL. Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 nov. 2014.
- BRESOLIN, B.; GULARTE, M.A.; MANFROI, V. água exógena em suco de uva obtido pelo método de arraste a vapor. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v.7, n.1, p.922-933, 2013.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G. **BRS CORA: nova cultivar de uva para suco, adaptada a climas tropicais**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. 7p.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 64p.
- CANTÍN, C. M. A.; FIDELIBUS, B. M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at véraison advanced red color development and maintained postharvest

quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, p.237–241, 2007.

CASTELLARIN, S. D. et al. Phenolics in grape berry and key antioxidants. In: GERÓS, H.; CHAVES, M. M.; DELROT, S. **The biochemistry of the grape berry**, Danvers: Bentham, 2012. p. 89-110.

CASTILLO-MUÑOZ et al. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.57, p.209-219, 2009.

CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: DIBD: Esalq-USP, 2006. 46p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Derivados da Uva**: Período Janeiro de 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_04_01_12_14_54_derivadosdauvajanheiro2011..pdf>. Acesso em: 10 maio 2014.

COULTATE, T. P. **Alimentos**: a química de seus componentes. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

DÁVALOS, A.; LASUNCIÓN, M. A. Health-promoting effects of wine phenolics. In: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine chemistry and biochemistry**. New York: Springer Science + Business Media LLC. 2009. p.571–593.

DAVIES, C.; BOSS, P. K. ; ROBINSON, S. P. Treatment of grape berries, a nonclimacteric fruit with a synthetic auxin, retards ripening and alters the expression of developmentally regulated genes. **Plant Physiology**, Rockville, v.115, p.1155-1161, 1997.

DEIS, I. et al. Water deficit and exogenous ABA significantly affect grape and wine phenolic composition under in field and in-vitro conditions. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.65, p.11-21, 2011.

FERRARA, G. et al. Application of abscisic acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' grape berries in a mediterranean climate: effects on color, chemical characteristics, metabolic profile, and S-ABA concentration, **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.32, p.491-505, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT database results**. 2013. Disponível em: <[http:// http://faostat.fao.org/](http://faostat.fao.org/)> Acesso em: 14 abr. 2014.

GAGNÉ, S. ABA initiates anthocyanin production in grape cell cultures. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.30, p1-10, 2011.

GARDIN, J. P. P. et al. Ácido abscísico e etefom: influência sobre a maturação e qualidade das uvas Cabernet Sauvignon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.321-327, 2012.

GIL, G. F.; PSZCZÓLKOWSKI, P. **Viticultura: Fundamentos para otimizar produção y calidad**. Ediciones Universidad de Católica de Chile: Santiago. 2007, 535 p.

GIOVANNINI, E. **Manual de Vitiultura**. Porto Alegre: Bookman. 2014. 264p.
GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Villenave d'Ornon, v.44, p.9-15, 2011.

GIUSTI, M. M.; JING, P. natural pigments of berries: Functionality and application. In: ZHAO, Y. **Berry fruit: Value-added products for health promotion**. CRC Press: Boca Raton. 2007. p.105-146.

GUERRA, C. C. Polifenóis da uva e do vinho. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v.4, n.4, p.90-100, 2012.

GURACK, P. D. et al. Quality evaluation of grape juice concentrated by reverse osmosis. **Journal of Food Engineering**. Oxford, v.96, p.421-426, 2010.

HAMERSKI, L.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidores: substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v.5, n.3, p.394-420, 2013.

HAN, D.H. et al. Effects of ABA and ethephon treatments on coloration and fruit quality in Kyoho grape. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Gyeonggi-do, v.37, p.416–420, 1996.

HE, F. et al. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. **Molecules**, Basel, v.15, p.9057-9091, 2010.

HERNANDES, J. L.; MARTINS, F. P. Variedades de uvas para vinho e suco. In: BUENO, S. C. S. et al. **Vinhedo Paulista**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 2010. p.107-129.

HIRATSUKA, S. et al. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.90, n.1-2, p.121-130, 2001.

HOWARD, L. R.; HAGER, T. J. Berry fruit phytochemicals. In: ZHAO, Y. **Berry fruit: Value-added products for health promotion**. CRC Press: Boca Raton. 2007. p.73-104.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal**. 2012. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 3 abr. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Notícias**. Versão eletrônica, abri. 2011. Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/int_noticias.php?id=705&tipo=N>. Acesso em: 2 abr. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). O sabor mais querido do Brasil. **Saca Rolhas**, Bento Gonçalves, n.4, p.23-25, 2013.

JACKSON, R. S. **Wine Science**: principles and applications. 3rd ed. Burlington: Elsevier. 2008. 776p.

KATAOKA, A.; SUGIURA, N.; UTSUNOMIYA, T. Effect of abscisic acid and defoliation on anthocyanin accumulation in Kyoho grapes (*Vitis vinifera* L. · *V. labruscana* BAILEY). **Vitis**, Santiago, v.2, p.325–332, 1982.

KENNEDY, J. A.; SAUCIER, C.; GLORIES, Y. Grape and wine phenolics: History and perspective. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.57, n.3, p.239-248, 2006.

KISHINO, A. Y. Características da planta. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical**: o sistema de produção do Paraná. Londrina: IAPAR, 2007. p.87-140.

KOSHITA, Y. et al. Regulation of skin color in ‘Aki Queen’ grapes: Interactive effects of temperature, girdling, and leaf shading treatments on coloration and total soluble solids. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v.129, p.98-101, 2011.

KOYAMA et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from ‘Isabel’ grapes (*Vitis labrusca* L.). **Hortscience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460-464, 2014.

KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. **Functional and Integrative Genomics**, Lisboa, v.10, p.367-381, 2010.

LEE, J. C.; TOMANA, T. Physiological study on anthocyanin development in grapes. II. Effect of sucrose, abscisic acid and indoleacetic acid on the anthocyanin development in Kyoho grape (*Vitis labruscana*). **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Gyeonggi-do, v.21, p.158–163, 1980.

LIMA FILHO et al. Aspectos Fisiológicos. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. **A Vitivinicultura no Semiárido Brasileiro**. Brasília: Embrapa, 2009, p.72-108.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p.291-297, 2007.

MAIA et al. Novas cultivares brasileiras de uvas para elaboração de suco no semiárido brasileiro: Desempenho agrônomico e qualidade do suco. **Circular técnica**, 96. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2013. 24p.

MARZAROTTO, V. Suco de uva. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas não alcoólicas**: Ciência e tecnologia. São Paulo: Blucher, 2010. p.359-385.

- MATSUSHIMA, J. et al. Anthocyanin accumulation and sugar content in the skin of grape cultivar Olympia treated with ABA. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.58, p.551–555, 1989.
- MAVITTI et al. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.54, p.7692-7702, 2006.
- MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012. **Comunicado técnico, 137**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2013. 5p.
- MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E. **Dados da Viticultura**. Disponível em <http://vitibrasil.cnpqv.embrapa.br/index.php?opcao=opt_02&interno=1>. Acesso em: 25 abr 2014.
- MOREL-SALMI, C. et al. Effect of flash release treatment on phenolic extraction and wine composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, p.4270-4276, 2006.
- MORI, K. et al. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. **Vitis**, Santiago, v.44, n.4, p.161-165, 2005.
- NEVES, L. C. et al. Pós-colheita de frutos temperados. In: NEVES, L. C. **Manual pós-colheita da fruticultura brasileira**. Londrina: EDUEL, 2009. p.290-370
- NICOLAS, P. et al. The basic leucine zipper transcription factor abscisic acid response element-binding factor2 is an important transcriptional regulator of abscisic acid-dependent grape berry ripening processes. **Plant Physiology**, Rockville, v.164, p.365-383, 2014.
- OWEN S. J. et al. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, n.3, p.277-284, 2009.
- PEDRO JÚNIOR, M. J.; SENTELHAS, P. C. Clima e Produção. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.63-107.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W. Effects of Forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of 'Flame Seedless' grapes. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p.173–176, 2008.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W.; DOKOOZLIAN N. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v.82, p.304–310, 2007a.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, p.1440-1445, 2006.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Timing and concentration of abscisic acid applications affect the quality of 'Crimson Seedless' grapes.

International Journal of Fruit Science, Nova Iorque, v.7, n.4, p.71-83, 2007b.

PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C.; MANFROI, L. Viticultura e Enologia. In: SOAREA, J. M.; LEÃO, P. C. S. **A viticultura no semiárido brasileiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Petrolina, 2009. p.679-724.

PINTO, E. P. et al., A uva como alimento funcional: uma revisão. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v.3, n.3, p.66-73, 2011.

POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, p.11-36.
PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, A. **Vitivinicultura brasileira: panorama setorial de 2010**. Brasília: SEBRAE, 2011. 110p.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, U. A.; MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: regiões tradicionais e pólos emergentes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.234, p.7-15, 2006.

REBELLO et al. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.54, p.354-366, 2013.

REDAGRÍCOLA. ProTone[®] de Valent BioSciences: Eficaz herramienta para toma de color en uva de mesa. **Artigos**, 2011. Disponível em:
<<http://www.redagricola.com/reportajes/empresas/protone-de-valent-biosciences-eficaz-herramienta-para-toma-de-color-en-uva-de-me>>. Acesso em: 10 maio 2014.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184p.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments**. Inglaterra: John Wiley & Sons, 2006. v. 2. 450p.

RIZZON, L. A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola. **Documentos**, 21, Bento Gonçalves: Embrapa, 1998. 24p.

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

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.; MANFROI, L. **Processamento de uva: vinho tinto, grapa e vinagre**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 158 p.

ROBERTO, S. R. et al. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44-48, 2012.

- ROBERTO, S. R. et al. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797-800, 2013.
- ROBINSON, S. P.; DAVIES, C. Molecular biology of grape berry ripening. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.6, p.175-188, 2000.
- RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L. et al. Evaluation of oxygen exposure levels and polyphenolic content of red wines using an electronic panel formed by an electronic nose and an electronic tongue. **Food Chemistry**, Oxford, v.155, p.91-97, 2014.
- ROMERO-PÉREZ, A.I. et al. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.47, p.1533-1536, 1999.
- ROSSI, E.; SANTOS, K. G. Óleo de uva para produção de biodiesel. **Revista Monografias Ambientais**, Santa Maria, v.14, n.2, p.3139-3145, 2014.
- SANDHU, A. K. et al. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Oxford, v.126, p.982-988, 2011.
- SATO et al. Caracterização fenólica das uvas 'Alicante' e 'Syrah' cultivadas em safra fora de época. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.1, p.116-123, 2012.
- SATO, A. J. et al. Características físico-químicas e produtivas das uvas 'Isabel' e 'BRS-Rúbea' sobre diferentes porta-enxertos na região Norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.553-556, 2008.
- SATO, A. J. et al. Evolução da maturação e características físico-químicas de uvas da cultivar Isabel sobre diferentes porta-enxertos na Região Norte do Paraná. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.1, p.11-20, 2009.
- SAUTTER, C. K. et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.437-442, 2005.
- SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. **Millenium**, Viseu, v.28, p.123-133, 2003.
- SUCO DE UVA DO BRASIL. **Suco de sabor uva é o mais consumido do Brasil**. Disponível em <<http://www.grapejuiceofbrazil.com>>. Acesso em: 25 abr 2014.
- SUN, B. et al. Stilbenes: Quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.563, p.382-390, 2006.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.
- TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. In: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer Science, 2009. p.463-507.

VALENT BIOSCIENCES CORPORATION. **Protone**: Plant Growth Regulator. [S.l.: s.n.], 2010.

WANG, S. Y. Antioxidant capacity and phenolic content of berry fruit as affected by genotype, preharvest conditions, maturity, and postharvest handling. In: ZHAO, Y. **Berry fruit**: Value-added products for health promotion. CRC Press: Boca Raton. 2007. p.147-186.

WHEELER, S. et al. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.15, p.195–204, 2009.

ZAHARIA, L. I. et al. Chemistry of Abscisic Acid, Abscisic Acid Catabolites and Analogs. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.24, p.274-284, 2005.

3 ARTIGO A - COMPOSTOS FENÓLICOS E COR DA BAGA E DO SUCO DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM S-ABA EM DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO

3.1 RESUMO E ABSTRACT

RESUMO

A uva 'Isabel' é umas das principais cultivares utilizadas para o processamento de suco, porém apresenta carência de cor. Dessa forma, uma alternativa é a promoção da síntese de antocianinas, pigmento responsável pela cor. O objetivo do trabalho foi avaliar o incremento dos compostos fenólicos, bem como da cor da baga e do suco integral da uva 'Isabel' tratada com S-ABA (ácido abscísico) em diferentes fases de maturação. O experimento foi realizado em área comercial localizada em Maringá-PR, durante duas safras consecutivas (safra regular de 2011 e safra fora de época de 2012), sendo as videiras conduzidas em latada no espaçamento de 4,0 x 1,0 m. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições e quatro tratamentos: Testemunha; S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado 7 dias antes do *véraison* (DAV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 dias antes da colheita (DAC); S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no *véraison* (V) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DAC; e S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 dias depois do *véraison* (DDV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DAC. Foram avaliadas as características físico-químicas, tais como massa e diâmetro das bagas; massa e comprimento dos cachos; polifenóis e antocianinas totais das bagas e do suco integral. Além disso, foi realizada a avaliação da cor das bagas e do suco integral e a análise sensorial dos sucos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Não houve diferença entre os tratamentos para as características físicas, como a massa e o comprimento, das bagas e dos cachos, bem como para polifenóis totais da baga e do suco. Contudo, houve aumento das antocianinas totais da baga e do suco mediante a aplicação de S-ABA, independente da época de aplicação. As variáveis colorimétricas das bagas como luminosidade e saturação, assim como a densidade óptica do suco, indicaram o aumento da cor quando tratadas com o regulador de crescimento. Os sucos elaborados com uvas tratadas com S-ABA foram mais apreciados pelos provadores. Conclui-se que, a aplicação de 400 mg L⁻¹ de S-ABA 7 dias antes, no *véraison* ou 7 dias depois do *véraison* propicia o incremento na concentração de antocianinas totais e de cor das bagas e do suco integral da uva 'Isabel', bem como melhor aceitação dos sucos, porém sem exercer influência sobre a sua concentração de polifenóis totais.

Palavras-chave: *Vitis labrusca*, antocianinas, regulador vegetal, coloração.

POLYPHENOLS AND COLOR OF BERRY AND JUICE OF 'ISABEL' VINE TREATED WITH S-ABA IN DIFFERENT MATURATION STAGE

ABSTRACT

'Isabel' grape is one of the main cultivars used for juice processing, but presents deficiency in color. Thus, an alternative is to promote the synthesis of anthocyanins, pigment responsible for the color. The aim of this work was to evaluate the increment of phenolic compound, as well as the color of berry and juice of 'Isabel' grapevine treated with S-ABA (abscisic acid) in different maturation stages. The experiment was conducted in a commercial vineyard located in Maringa-PR, during two consecutive seasons (regular season of 2011 and out of season of 2012). The vines were trained in an overhead trellis system and spaced at 4.0 x 1.0 m. The statistical model used was a randomized block design with five replications and four treatments: control; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7 days before *véraison* (DBV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 days before harvest (DBH); S-ABA 400 mg L⁻¹, applied at *véraison* (V) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DBH; and S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 days after *véraison* (DAV) + S-ABA 400 mg L⁻¹ 15 DBH. The physical-chemical characteristics, as berry weight and diameter; cluster weight and length; total polyphenols and anthocyanins of berry and juice were evaluated. Furthermore, it was analysed the color of berry and juice, and sensory analysis of the juice. Means were subjected to analysis of variance and compared using the Duncan test at 5% probability. There were no difference between the treatments for the physical characteristics, such as weight and length, of berries and clusters, as well as for total polyphenols of berry and juice. However, there was an increase in total anthocyanins of berry and juice when S-ABA was applied independently of the application timing. The colorimetric variables of berries such as lightness and chroma, as well as optical density of juice, indicated the increase of berry color when treated with the plant growth regulator. The juices made of S-ABA treated grapes were more appreciated by the testers. It was concluded that the application of 400 mg L⁻¹ of S-ABA 7 days before, at *véraison* or 7 days after *véraison* provides the increment in total anthocyanin concentration and in the color of berry and juice of 'Isabel' grapevine, and better acceptance of the juice, without influencing its total polyphenol concentration.

Key words: *Vitis labrusca*, anthocyanins, growth regulator, color.

3.2 INTRODUÇÃO

Dentre as frutas consideradas como alimentos funcionais, a uva (*Vitis* sp.) merece destaque, devido ao valor nutricional e à atividade antioxidante dos constituintes fenólicos, além das características sensoriais da fruta e de seus derivados, como o suco (PINTO et al., 2011; RIZZON; MENEGUZZO, 2007).

O suco de uva é a bebida não fermentada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, por meio do processo tecnológico adequado, submetida ao tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 2009), podendo ser classificado como integral, concentrado, reconstituído, desidratado e adoçado. No caso do suco integral, este se refere ao suco de uva na concentração natural, sem qualquer adição de açúcar (MARZAROTTO, 2010).

Na elaboração do suco de uva pode ser utilizada qualquer cultivar, desde que a mesma alcance uma maturação adequada, apresente bom estado sanitário, bom rendimento em mosto, adequada relação açúcar/acidez, aroma e sabor, de acordo com a preferência do consumidor (RIZZON; MENEGUZZO, 2007). No Brasil, a uva 'Isabel' é a mais cultivada entre as destinadas ao processamento. Apesar de ser vigorosa, rústica, produtiva, e apresentar elevado potencial de acúmulo de açúcar, variando entre 15 a 19°Brix, o seu suco necessita de cortes com cultivares tintureiras, por produzir pouco material corante (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010; MARZAROTTO, 2010; RIZZON; MENEGUZZO, 2007).

A cor do suco de uva influencia significativamente a aceitabilidade do produto e é utilizada como forte indicador de qualidade, o que ressalta a importância do desenvolvimento de produtos com aparência atrativa para a indústria de alimentos (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004; ROBERTO et al., 2013).

Nos vegetais, as antocianinas são os compostos fenólicos responsáveis pela maioria das cores vermelho, rosa, roxo e azul (LOPES et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009). Nas uvas, estes compostos estão localizados principalmente na casca, podendo ser encontrados também na polpa de algumas cultivares ricas em cor. As antocianinas se acumulam durante o processo de maturação, sendo o ácido abscísico (ABA) reportado como um dos responsáveis por

sua biossíntese (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; BAN et al., 2003; GAGNÉ et al., 2011; KOYAMA, SADAMATSU, GOTO-YAMAMOTO, 2010; OWEN et al., 2009).

Vários estudos têm demonstrado que a aplicação exógena do ABA incrementa a cor das uvas tintas (DEIS et al., 2011; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; MORI et al., 2005; OWEN et al., 2009; PEPPI; FIDELIBUS, 2008; PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a, 2007b; ROBERTO et al., 2012, 2013). Em uva 'Isabel', foi demonstrado o incremento significativo da concentração de antocianinas totais nas bagas e no suco integral pela aplicação exógena do isômero (S)-cis-ácido abscísico (S-ABA) na concentração de 400 mg·L⁻¹ no do *véraison* (KOYAMA et al., 2014a), no entanto, naquele trabalho não se determinou a fase ideal de aplicação desse regulador vegetal, o qual pode influenciar a sua efetividade (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007a, 2007b; GIRIBALDI, HARTUNG; SCHUBERT, 2011).

Embora diversos estudos tenham como referência a aplicação de S-ABA no *véraison* (início da maturação), determinar com exatidão o início desse período é uma tarefa difícil, tendo em vista que esse estágio fenológico é caracterizado por mudanças no metabolismo das bagas, e tais mudanças ocorrem de forma individual nas mesmas e de forma diferenciada entre as cultivares de uva (ROBINSON; DAVIES, 2000). Em vista disso, torna-se necessário avaliar a eficiência do S-ABA em uva 'Isabel' aplicado em espaço de tempo mais amplo nessa fase de desenvolvimento das uvas, ou seja, antes, durante e após o *véraison*, pois o tamanho da área a ser tratada e as condições climáticas podem influenciar o período ideal de aplicação do regulador vegetal.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar fases de maturação de aplicação de S-ABA, visando o incremento dos compostos fenólicos, bem como da cor da baga e do suco integral da uva 'Isabel'.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em um vinhedo comercial de uva 'Isabel' (*Vitis labrusca* L.) formada em pé-franco, com 11 anos de idade, pertencente à Vinícola Intervin[®], localizada em Maringá, PR (23°25'S, 51°57'O, altitude de 542 m). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C, e temperatura

média no mês mais quente acima de 22°C. A precipitação média anual é de 1.596 mm, e a tendência é de concentração das chuvas nos meses de verão (IAPAR, 2010).

Foi avaliado o efeito do ácido abscísico (S-ABA), aplicado em diferentes épocas, durante duas safras consecutivas, safra regular de 2011 e safra fora de época de 2012. O S-ABA foi fornecido pela empresa Valent BioSciences Corporation® (Libertyville, Estados Unidos), cuja concentração do princípio ativo, isômero (S)-cis-ácido abscísico, é 100 g L⁻¹. As videiras foram conduzidas em latada, no espaçamento 4,0 x 1,0 m. Para cada safra, a poda de frutificação foi realizada deixando-se duas a três gemas por esporão. Em seguida, foi aplicada sobre as gemas a cianamida hidrogenada a 5%, no intuito de induzir e uniformizar a brotação.

Foram testados os seguintes tratamentos:

- a. Testemunha;
- b. S-ABA 400 mg·L⁻¹, aplicado aos 7 dias antes do *véraison* (DAV) + S-ABA 400 mg·L⁻¹ aos 15 dias antes da colheita (DAC);
- c. S-ABA 400 mg·L⁻¹, aplicado no *véraison* (V) + S-ABA 400 mg·L⁻¹ aos 15 DAC;
- d. S-ABA 400 mg·L⁻¹, aplicado aos 7 dias depois do *véraison* (DDV) + S-ABA 400 mg·L⁻¹ aos 15 DAC.

O *véraison* da uva 'Isabel' foi considerado quando aproximadamente 50% das bagas mudaram para a cor tinta e iniciaram o amolecimento (BAGGIOLINI, 1952; BAILLOD; BAGGIOLINI, 1993).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta por cinco plantas. Foram marcados, previamente à aplicação dos tratamentos, 15 cachos representativos em cada parcela.

Para a aplicação dos tratamentos, os cachos foram pulverizados no período da manhã, utilizando-se pulverizador costal com pressão de 568,93 psi (39,22bar), com bicos de pontas de jato cone oco-JA1, proporcionando cobertura completa e uniforme, sendo empregado volume de calda de 800 L ha⁻¹. Foi adicionado à calda de todos os tratamentos o espalhante não-iônico Break-Thru® (0,3 mL L⁻¹) (Evonik Industries, Alemanha).

Foram realizados os tratos culturais habituais na região em relação à nutrição, controle de plantas daninhas e manejo de pragas e de doenças.

A colheita foi realizada quando o teor de sólidos solúveis totais (SST) atingiu em torno de 16°Brix, para tanto foram analisados o teor de SST semanalmente, utilizando espectrofotômetro. De cada parcela, foram coletadas 90 bagas para as avaliações físico-químicas, sendo retiradas duas bagas das porções superior, mediana e inferior de cada cacho previamente marcado. As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Análise de Frutas, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, PR.

As características físicas das uvas foram avaliadas por meio de determinações da massa (g) e diâmetro das bagas (mm), massa (g) e comprimento dos cachos (cm), mediante a utilização de balança e paquímetro digital. A cor das bagas foi analisada empregando-se o colorímetro Minolta CR-10[®], sendo obtidas as variáveis de sua porção equatorial: L^* (luminosidade), C^* (saturação) e h° (matiz) (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). Os valores de luminosidade variam de 0 (preto) a 100 (branco). A saturação indica a pureza ou intensidade da cor, a distância a partir de cinza (acromática) em direção a uma cor pura, e é calculada a partir dos valores de a^* e b^* do sistema de escala CIELab, variando de 0 para uma cor completamente neutra, e não tem um fim arbitrário, mas a intensidade aumenta com a magnitude. A matiz refere-se à roda de cores e é medido em ângulos; verde, amarelo e vermelho, e corresponde a 180°, 90° e 0°, respectivamente (LANCASTER et al., 1997; MACGUIRE, 1992; PEPPI et al., 2006).

O suco integral das uvas foi elaborado pelo método “Welch”, utilizando-se uma panela extratora com capacidade de 7 kg (RIZZON; LINK, 2006), não sendo adicionada nenhuma enzima. Para tanto, de cada parcela foram utilizados 4 kg de uvas, com rendimento médio de 2 L de suco integral em cada parcela. Primeiramente, foi realizado o desengace, que consiste na separação das bagas de sua ráquis; e, em seguida, as bagas foram lavadas em água corrente. Para o processo de extração, foi adicionada água no depósito da panela extratora, para a formação de vapor e posterior extração do suco. As bagas foram acondicionadas no recipiente perfurado da panela, o qual foi encaixado no recipiente externo e ambos colocados sobre o depósito de água com a tampa. Após 40 minutos de fervura, o suco foi engarrafado à quente (75°C), em recipientes de polietileno transparente com tampa, com capacidade para 1 L. Após o resfriamento, o mesmo foi acondicionado em geladeira a 4°C.

Quanto às análises químicas das bagas e do suco integral, foram determinadas a concentração de antocianinas e de polifenóis totais.

A avaliação da concentração de antocianinas totais das bagas e do suco integral foi realizada segundo a metodologia de Clemente e Galli (2013). Para tanto, 30 bagas de cada parcela foram trituradas, em mixer, no intuito de homogeneizar a amostra, sendo utilizadas 50 g para análise das bagas ou 50 mL de suco integral, as quais foram utilizadas para a extração de antocianinas. As amostras foram trituradas durante 2 minutos com 50 mL da solução extratora de etanol 70% (pH 2,0). Para o preparo da solução, foi adicionado 70 mL de etanol P.A. a 30 mL de HCl 0,1 N. Posteriormente, foram adicionados 100 mL da solução de etanol 70% e a solução armazenada coberta com parafilm[®] durante 12 horas a 4°C. O material foi filtrado em funil de Büchner, com o auxílio de bomba de vácuo modelo Tecnal TE-058[®] e, em seguida, foram utilizados 100 mL do filtrado, completando-se com a solução extratora para 200 mL. Desta, foram retiradas amostras de 2 mL completando-se o volume até 100 mL, sendo em seguida deixadas por 2 horas no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (modelo Genesys 10S Spectrophotometer, UV-VIS[®]) a 535 nm, usando como “branco” apenas o solvente.

Para o cálculo da concentração de antocianinas totais, foi utilizada a seguinte fórmula, sendo os resultados expressos em mg 100g⁻¹ de bagas ou mg L⁻¹ de suco, em equivalentes de malvidina-3-glicosídeo (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008): Antocianinas totais = (Abs x VE1 x VE2 x 1.000) / (Valq x m x 982), em que: Abs: Absorbância (nm); VE1: Volume total do extrato filtrado (200 mL); VE2: Volume total do extrato diluído (100 mL); Valq: Alíquota da amostra filtrada diluída (2 mL); m: massa das bagas ou volume do suco integral (50 g de bagas ou 50 mL de suco).

A quantificação de polifenóis totais das bagas e do suco integral foi realizada baseada no método de Folin-Ciocalteu (BORGES et al., 2013; SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVANTOS, 1999). Para tanto, 30 bagas de cada parcela foram homogeneizadas, sendo utilizadas aproximadamente 5 g para análise das bagas ou 5 mL de suco de cada amostra, as quais foram trituradas com 50 mL de etanol a 50% durante 2 minutos e, em seguida, realizada a centrifugação a 3.500 rpm durante 5 minutos. Foram retiradas amostras de 0,2 mL desse extrato em tubo Falcon de 50 mL, ao qual foram adicionados 1,8 mL de água destilada, 10 mL de solução de Folin-Ciocalteu a 10% e 8 mL de solução de carbonato de sódio

(Na₂CO₃) à 7,5%, entre 30 segundos a 8 minutos. O tubo foi agitado e mantido no escuro por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 765 nm, usando como “branco” todos os reagentes sem a alíquota da amostra centrifugada, sendo adicionados 2 mL de água destilada (completando-se 0,2 + 1,8 mL). O ácido gálico (GAE) foi usado como padrão e a curva de calibração obtida com solução de GAE nas concentrações de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 µg mg⁻¹. A partir desta, foi obtido por regressão linear a equação: $y=ax+b$, na qual a variável “y” representa a absorbância, e desta forma, obtido o valor da concentração de polifenóis totais em equivalente de ácido gálico.

Para esse cálculo, foi utilizada a seguinte fórmula, sendo os resultados expressos em mg 100g⁻¹ de bagas ou mg L⁻¹ de suco, em equivalentes de ácido gálico: Polifenóis totais = (P_{Teq} x V) x 10, em que: P_{Teq}: valor obtido na equação da curva de calibração; V: Diluição da amostra (50 mL/volume da amostra).

A cor dos sucos integrais de cada tratamento foi avaliada segundo Rizzon e Salvador (2010). A densidade óptica das amostras, sem diluição, foi medida diretamente a 420, 520 e 620 nm em espectrofotômetro UV/Vis com cubetas de percurso ótico de 1 mm. Dessa forma, obteve-se as densidades ópticas a 420 nm (cor amarela), 520 nm (cor vermelha) e 620 nm (cor violácea). A intensidade cromática do suco (IC) foi determinada pela soma das leituras das densidades ópticas de cada amostra a 420, 520 e 620 nm, e a tonalidade (T) foi obtida pela razão entre a absorbância a 420 nm e a 520 nm.

A análise sensorial dos sucos de uva foi realizada adotando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com 70 indivíduos não treinados, constituídos de estudantes, docentes e funcionários técnico-administrativos do Campus da Universidade Estadual de Londrina. As avaliações foram realizadas em cabines individuais com iluminação de luz do dia especial, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. Foram avaliados os atributos cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global das amostras de suco, utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos, com extremidades denominadas: desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9) (VILLANUEVA et al., 2005). Além disso, as notas foram divididas em três proporções: aprovação (% de notas entre 6 e 9), indiferença (% de nota 5) e rejeição (% de notas entre 1 e 4). Com relação à preferência, os provadores foram orientados a poder escolher mais de uma alternativa. Para a avaliação do perfil de

cada julgador do teste sensorial, foi aplicado um questionário. As instruções gerais, questionários e escalas hedônicas dos atributos que foram empregados na análise encontram-se nos Anexos A, B e C.

As amostras foram servidas a 4°C em taças de acrílico transparente, na quantidade de 40 mL de cada amostra. Cada julgador recebeu, em ordem aleatorizada, as quatro amostras codificadas com números aleatórios de três dígitos. Água potável em temperatura ambiente foi servida aos julgadores para a limpeza da boca antes e entre as avaliações das amostras de suco de uva.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Como os resultados obtidos nas duas safras avaliadas foram similares, foram consideradas as médias das safras para a discussão dos resultados (KOYAMA et al., 2014a).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença em relação às épocas de aplicação do S-ABA para as características físicas, tais como massa e diâmetro das bagas e massa e comprimento dos cachos (Tabela 3.1). Pode-se inferir que a aplicação desse regulador de crescimento não interfere nas características físicas relacionados à produtividade da uva 'Isabel'. Resultados semelhantes foram reportados por Koyama et al. (2014a,b), que estudaram concentrações e frequência de aplicação de S-ABA no *véraison* na mesma cultivar.

Tabela 3.1 - Características físicas das bagas e dos cachos da videira 'Isabel' submetidas a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	Massa das bagas (g)	Diâmetro das bagas (mm)	Massa do cacho (g)	Comprimento do cacho (cm)
Testemunha	3,0 ± 0,3	15,8 ± 0,2	101,6 ± 3,7	10,5 ± 0,1
7DAV + 15DAC	3,1 ± 0,2	15,7 ± 0,5	99,2 ± 3,8	10,5 ± 0,3
V+ 15DAC	2,9 ± 0,1	15,4 ± 0,3	99,6 ± 3,7	10,5 ± 0,3
7DDV+ 15DAC	3,1 ± 0,2	15,9 ± 0,2	99,4 ± 3,9	10,7 ± 0,1
F	1,04 ns	0,96 ns	0,46 ns	0,47 ns
CV (%)	8,44	2,89	7,07	2,41

Médias das safras 2011 e 2012. ns: não significativo. Obs: Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *véraison*; 15DAC = 15 Dias antes da colheita.

A aplicação de ABA também não afetou as características físicas de outras variedades como, 'Benitaka', 'Rubi' e 'Cabernet Sauvignon' (JEONG et al., 2004; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; ROBERTO et al., 2012, 2013). Em contrapartida, para as uvas 'Flame Seedless' e 'Redglobe' em algumas safras avaliadas houve aumento da massa das bagas com a aplicação de S-ABA, (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007a). Essas variações de resultados sugerem que o S-ABA não influencia diretamente as características físicas das uvas, como a massa e o comprimento, o qual pode estar mais relacionado com fatores climáticos da safra.

Por outro lado, a aplicação de S-ABA incrementou a concentração de antocianinas totais, tanto nas bagas quanto no suco integral da uva 'Isabel', com exceção das bagas que receberam aplicação no *véraison*, a qual foi semelhante à testemunha (Tabela 3.2). Da mesma forma, em estudo realizado com a aplicação de S-ABA no *véraison* na uva 'Isabel', Koyama et al. (2014a) não observaram essa mesma relação de aumento da concentração de antocianinas das bagas nos sucos, sendo que para as bagas a aplicação de S-ABA nas concentrações de 200 e 400 mg L⁻¹, independente da frequência de aplicação, aumentou a concentração de antocianinas. Em contrapartida, para o suco integral a aplicação de 400 mg L⁻¹ em uma ou duas vezes foi mais efetivo.

Tabela 3.2 - Antocianinas e polifenóis totais das bagas e do suco da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	Antocianinas totais das bagas (mg 100g ⁻¹)	Antocianinas totais do suco (mg L ⁻¹)	Polifenóis totais das bagas (mg 100g ⁻¹)	Polifenóis totais do suco (mg L ⁻¹)
Testemunha	9,6 ± 1,7 b	56,8 ± 4,5 b	27,2 ± 2,3	2,7 ± 0,1
7DAV + 15DAC	14,2 ± 1,8 a	69,9 ± 5,4 a	28,2 ± 2,0	2,8 ± 0,2
V+ 15DAC	12,0 ± 1,0 ab	76,4 ± 6,0 a	28,2 ± 1,3	2,9 ± 0,3
7DDV+ 15DAC	13,1 ± 2,7 a	70,7 ± 13,1 a	29,6 ± 3,3	3,0 ± 0,3
F	3,84*	4,32*	0,50 ns	0,93 ns
CV (%)	18,33	13,04	10,86	13,11

Médias das safras de 2011 e 2012. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan. ns: não significativo. *: significativo ($p < 0,05$). Obs: Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *véraison*; 15DAC = 15 Dias antes da colheita.

Como as bagas verdes são os tecidos que mais respondem ao uso do ABA, quando comparadas às bagas mais maduras, é essencial determinar o momento para a realização do tratamento com esse regulador de crescimento. Isto sugere que a recepção ou o mecanismo de sinalização para o ABA é modulado pelo desenvolvimento da uva (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010), pois o nível de ABA na casca aumenta no início da maturação até 20 dias após e reduz até a colheita (BERLI et al., 2011). Contudo, no *véraison*, o ABA alcança o seu pico e neste momento não se pode interferir na sua síntese (DAVIES; BÖTTCHER, 2009; GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010).

Outros estudos também sugerem que a época ideal de aplicação do S-ABA varia conforme a cultivar e que pode ser efetivo mesmo após o *véraison*, como é o caso das uvas de mesa 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a) e 'Crimson Seedless' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b), para as quais a melhor época de aplicação foi no *véraison*. Para a uva 'Isabel', no entanto, foi possível demonstrar nesse trabalho que a aplicação de S-ABA pode ser realizada em um intervalo mais amplo de tempo, ou seja, antes, durante e depois do *véraison*, visando o incremento de antocianinas, tanto nas bagas quanto no suco integral. Ressalta-se, porém, que no presente estudo foi realizada uma segunda aplicação na mesma data (15 DAC) em todos os tratamentos, o que pode ter uniformizado de alguma forma os resultados observados. Assim, ainda deve ser elucidado se uma única aplicação em um determinado estágio fenológico é suficiente para o incremento da concentração de antocianinas na uva 'Isabel', uma vez que para algumas cultivares, como a Redglobe, uma única aplicação de S-ABA é suficiente (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a), enquanto para 'Benitaka' e 'Rubi', duas aplicações de S-ABA são necessárias para incrementar significativamente a cor das bagas (ROBERTO et al., 2012, 2013). Embora esses últimos autores não tenham avaliado a concentração de antocianinas das bagas, uma vez que a cor está relacionada à concentração da mesma, pode-se inferir que os mesmos também foram superiores nessas condições.

O aumento na concentração de antocianinas com a aplicação de ABA também foi observado nas bagas, cascas, polpa e suco em experimentos realizados com as uvas 'Isabel', 'Cabernet Sauvignon', 'Pinot Noir' e 'Merlot' (DEIS et al., 2011; GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010; JEONG et al., 2004; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; KOYAMA et al., 2014a; MORI

et al., 2005; OWEN et al., 2009). Porém, ressalta-se que, além da cultivar, o incremento da concentração de antocianinas com a aplicação do ABA é também influenciado por condições climáticas, uma vez que em algumas safras não ocorre o aumento da sua concentração, como foi verificado nas uvas 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a) e 'Crimson Seedless' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b).

Com relação ao teor de polifenóis totais, não houve diferença entre as épocas de aplicação, tanto nas bagas quanto no suco integral da uva 'Isabel' (Tabela 3.2). Em experimento realizado por Koyama et al. (2014a), a aplicação de S-ABA também não alterou o teor de polifenóis totais das bagas da 'Isabel'; contudo, foi observado o seu incremento no suco, independente da concentração e do momento da aplicação. Por outro lado, nas uvas 'Malbec' (BERLI et al., 2011) e 'Cabernet Sauvignon' (DEIS et al., 2011) tratadas com ABA houve o aumento de polifenóis totais das bagas.

O teor de compostos fenólicos totais pode variar em sucos de uvas comerciais e reconstituídos, indicando a influência do processamento, da cultivar, da região e das práticas culturais adotadas (MALACRIDA; MOTA, 2005; VARGAS, HOEZEL; ROSA, 2008). Além disso, por se tratar de um conjunto de vários compostos, os resultados observados quanto à sua concentração e as antocianinas em um determinado tratamento não tem a mesma relação, como verificado por Borges et al. (2013), em que os compostos fenólicos totais variam entre os clones da 'Concord' e os porta-enxertos; porém, não houve diferença em relação às antocianinas.

No presente experimento, a concentração de antocianinas e de polifenóis totais foram superiores nas bagas em relação ao suco. Isto pode ter ocorrido em função da elaboração do suco a quente, que pode ocasionar a degradação desses compostos, bem como a forma de extração dos mesmos, uma vez que o álcool utilizado como solvente nas bagas extrai mais compostos fenólicos. Em estudos realizados por Vedana et al. (2008) com a uva 'Isabel', a concentração de antocianinas e compostos fenólicos totais também foram inferiores nos sucos em relação às bagas. Além disso, os compostos fenólicos estão presentes nas sementes, as quais permaneceram intactas no processamento do suco, em função do solvente ser a água. Ao analisar diversas cultivares de uva, Rockenback et al.

(2011) verificaram que os polifenóis totais foram superiores nas sementes, quando comparadas às cascas de uva.

Quanto às variáveis relacionadas à cor das bagas, a luminosidade (L^*) foi inferior nas uvas que receberam a aplicação de S-ABA em relação à testemunha, o que significa cor da casca mais escura (Tabela 3.3). O mesmo foi observado para a saturação de cor (C^*), indicando cor mais pura. Para a variável matiz (h°) não foi observada diferença estatística entre os tratamentos. Estes resultados estão relacionados ao maior conteúdo de antocianinas verificados na casca (Tabela 3.2), uma vez que quanto mais escuras as uvas, maiores são as concentrações de antocianinas (ABE et al., 2007). Em uvas 'Isabel' tratadas com S-ABA, Koyama et al. (2014a) também observaram resultados semelhantes.

A aplicação de S-ABA com maior frequência pode reduzir a média de L^* e não alterar a h° , além de reduzir a C^* em algumas safras das uvas 'Rubi' e 'Benitaka' (ROBERTO et al., 2012, 2013). Quanto à época de aplicação do regulador vegetal, conforme a cultivar pode não haver influência desse fator, como é o caso da 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a). Por outro lado, a aplicação de S-ABA no *véraison* em 'Crimson Seedless' foi mais efetiva no aumento da cor (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b). Porém, para a mesma cultivar, Ferrara et al. (2013) verificaram que a aplicação de 400 mg L⁻¹ de S-ABA uma semana após o *véraison* ou duas aplicações, na primeira e quarta semanas após o *véraison*, anteciparam a colheita, em função do aumento da cor, ou seja, reduziu as variáveis L^* e C^* , com exceção da aplicação mais tardia. De acordo com esses autores, os tratamentos tardios podem ter o efeito limitado, porque o estágio fisiológico da baga não estava mais ativo para responder ao S-ABA.

Tabela 3.3 - Luminosidade, saturação e matiz das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	L*	C*	h°
Testemunha	27,7 ± 0,6 a	4,1 ± 0,7 a	106,3 ± 17,1
7DAV + 15DAC	24,9 ± 0,2 b	2,1 ± 0,1 b	124,1 ± 4,2
V + 15DAC	24,8 ± 0,3 b	2,1 ± 0,2 b	116,9 ± 10,4
7DDV+ 15DAC	25,1 ± 0,2 b	2,0 ± 0,1 b	126,0 ± 7,0
F	54,39*	27,23*	1,81 ns
CV (%)	1,64	16,98	12,53

Médias das safras 2011 e 2012. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan. ns: não significativo. *: significativo ($p < 0,05$). L*: luminosidade; C*: saturação e h° matiz. Obs: Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *véraison*; 15DAC = 15 Dias antes da colheita.

Como observado para a concentração de antocianinas, independente da época de aplicação, houve melhoria da cor das bagas de uva 'Isabel' com S-ABA (Tabela 3.3), evidenciando a relação dos resultados obtidos quanto à essas variáveis. No entanto, o efeito das práticas culturais na cor das bagas deve ser avaliado por meio da cor e concentração de antocianinas na casca, especialmente se as frutas que não receberam a aplicação de S-ABA estão bem coloridas, uma vez que grandes diferenças no conteúdo de pigmentos na casca podem ter pouco efeito na cor da baga (PEPPI et al., 2006; PEPPI, FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b). Assim, por vezes, a cor observada pelos consumidores não refletem a mesma intensidade os pigmentos quantificados analiticamente.

No que diz respeito à cor do suco integral, para todas as densidades ópticas avaliadas, bem como para a intensidade cromática, a aplicação de S-ABA proporcionou as maiores médias, não havendo influência da época de aplicação, com exceção da densidade óptica a 520 nm, na qual a aplicação aos 7 dias após o *véraison* propiciou resultado semelhante à testemunha. Quanto à tonalidade dos sucos, não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Densidade óptica a 420, 520 e 620 nm, intensidade cromática (IC) e tonalidade (T) do suco integral da uva 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

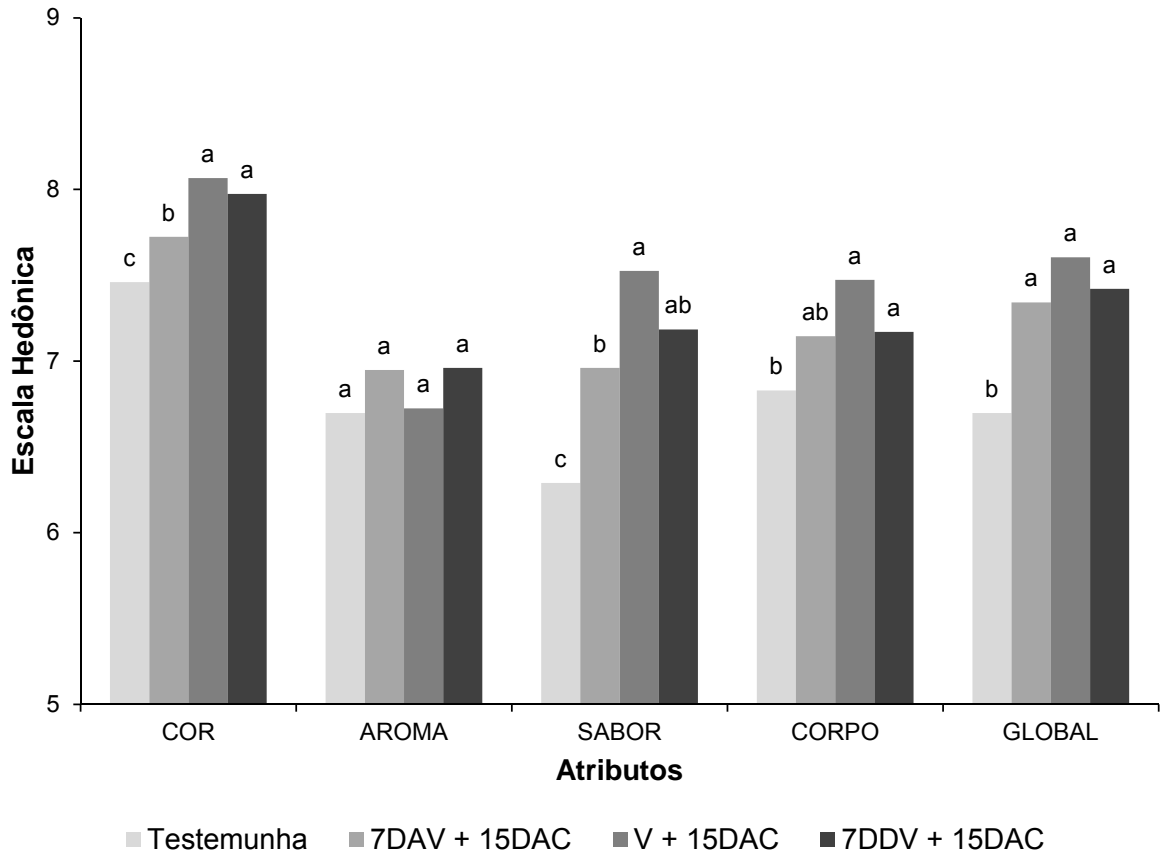
Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	420	520	620	IC	T
Testemunha	0,388 ± 0,02 b	0,631 ± 0,04 b	0,140 ± 0,01 b	1,158 ± 0,04 b	0,624 ± 0,04
7DAV + 15DAC	0,474 ± 0,05 a	0,754 ± 0,10a	0,199 ± 0,03 a	1,428 ± 0,17 a	0,637 ± 0,06
V+ 15DAC	0,514 ± 0,03 a	0,807 ± 0,09 a	0,214 ± 0,02 a	1,536 ± 0,14 a	0,654 ± 0,04
7DDV+ 15DAC	0,469 ± 0,03 a	0,731 ± 0,02 ab	0,189 ± 0,02 a	1,390 ± 0,12 a	0,666 ± 0,05
F	8,09*	4,75*	9,57*	7,34*	0,69 ns
CV (%)	9,03	10,41	12,55	9,53	7,74

Médias das safras 2011 e 2012. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan. ns: não significativo. *: significativo ($p < 0,05$). Obs: Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *véraison*; 15DAC = 15 Dias antes da colheita.

A densidade óptica na faixa de 520 nm expressa a intensidade de cor vermelho e depende principalmente da quantidade de antocianinas (BORGES et al., 2013). No presente experimento, embora tenham registradas médias superiores com a aplicação de S-ABA, reafirmando o aumento da concentração de antocianinas nos sucos tratados com o regulador vegetal, o mesmo permaneceu abaixo das médias registradas por Borges et al. (2013) para clones da 'Concord' (1,257) e por Cristofoli (2007) para a mesma cultivar (1,165), o que indica a menor quantidade de material corante da uva 'Isabel', que geralmente é cortada com uvas tintureiras, como a 'Concord'. Porém, há de se considerar que na análise sensorial do suco de uva 'Isabel' realizado por Borges et al. (2011), o suco com corte utilizando 20% de 'Concord' apresentou a mesma aceitação do suco de uva 'Isabel' 100%, quanto à sua cor. Assim, infere-se que as médias dos sucos tratados com S-ABA podem ser suficientes para a aceitação do consumidor.

Com relação à análise sensorial dos sucos, houve diferença para todos os atributos, com exceção do aroma, apresentando médias que variaram entre 6,3 e 8,1, indicando que os provadores apreciaram os sucos (Figura 3.1). Para a cor do suco, a preferência foi para todos os sucos cujas uvas foram tratadas com S-ABA, especialmente, os tratamentos que receberam aplicação no *véraison* e 7 dias depois do *véraison*. Estes resultados indicam que a aplicação de S-ABA nas uvas resultou em incremento das antocianinas, conseqüentemente da cor do suco, alterando a qualidade visual a ponto de ser perceptível aos avaliadores. Em análise sensorial realizada por Pontes et al. (2010) com sucos comerciais de uva, os produtos com maior intensidade de atributos sensoriais e que apresentam equilíbrio entre eles tiveram maior aceitação.

Figura 3.1 - Escala hedônica de nove pontos para os atributos de cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global obtidos no teste de aceitação de suco integral da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com 400 mg L⁻¹ de S-ABA. Maringá, PR, 2012. Obs. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Obs: Aplicado aos 7DAV = 7 Dias Antes do *Véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *Véraison*; 15DAC = 15 dias antes da colheita.



A cor, possivelmente mais que qualquer outro fator, influencia significativamente a aceitabilidade do produto, sendo utilizada como forte indicador de qualidade. Dessa forma, o desenvolvimento de produtos de aparência atrativa é de suma importância para a indústria de alimentos (ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004).

A relação entre a concentração de antocianinas do suco e a sua análise sensorial nem sempre é proporcional, uma vez que as antocianinas não são as únicas responsáveis pela cor, os co-pigmentos como a própria antocianina, além dos ácidos fenólicos e flavonóides ao se associarem às antocianinas podem conferir cor mais intensa ao suco de uva (ABE et al., 2007; BOULTON, 2001; CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009).

Maia et al. (2013) e Borges et al. (2011), em estudo com a uva 'Isabel Precoce' e a 'Isabel', respectivamente, recomendaram o corte dos sucos com outras cultivares, como a Concord, a BRS Rúbea, a BRS Cora, a BRS, Magna, a BRS Violeta e a BRS Carmem, visando a melhoria na cor e no equilíbrio gustativo. Entretanto, considerando a predominância da produção da uva 'Isabel' nas principais regiões produtoras de suco e o fato de que o paladar do consumidor brasileiro está habituado ao suco desta cultivar, é pouco provável que, em um primeiro momento, as agroindústrias de suco de uva utilizem como matéria-prima grandes volumes dessas cultivares (BORGES et al., 2011). Assim, como verificado pela análise sensorial, o uso do regulador vegetal pode ser uma das soluções para a falta de cor do suco da uva 'Isabel', podendo suprir a necessidade por cortes com outras cultivares.

A aplicação do S-ABA, além de incrementar a cor do suco integral da uva 'Isabel', também influenciou de forma positiva os demais atributos da análise sensorial, assim como observado por Koyama et al. (2014a), que avaliaram o suco da mesma cultivar tratado com S-ABA. Para o sabor, os sucos tratados com o regulador receberam notas superiores em relação à testemunha, não havendo diferença entre os tratamentos cuja aplicação ocorreu antes ou depois do *véraison*. Os sucos elaborados com as uvas que receberam os tratamentos também apresentaram notas superiores para os atributos corpo e global, embora, para o corpo não tenha sido observado diferença entre a testemunha e a aplicação antes do *véraison*. Para a aceitação global a Aprovação (% de notas entre 6 e 9), Indiferença (% de nota 5) e Rejeição (% de notas entre 1 e 4) foram, respectivamente: 84, 9 e 7% para a testemunha; 93, 7 e 0% para aplicação de S-ABA antes do *véraison*; 96, 3 e 1% para aplicação no *véraison*; e 96, 4 e 0 % para aplicação depois do *véraison*, indicando a menor aceitação do suco elaborado com uvas sem a aplicação do regulador de crescimento.

Além dos potenciais benefícios à saúde, a presença de compostos fenólicos no suco também influencia as características sensoriais, como o gosto e percepção do aroma retronasal do produto (TIWARI et al., 2010). Em estudo realizado por Comarella et al. (2012), os provadores preferiram o suco da uva 'Isabel' que apresentaram aumento dos compostos fenólicos, os quais influenciam as características de cor, odor e sabor. Assim, as análises dos tratamentos para o incremento da cor do suco deve ser avaliada não somente pela cor e quantidade de

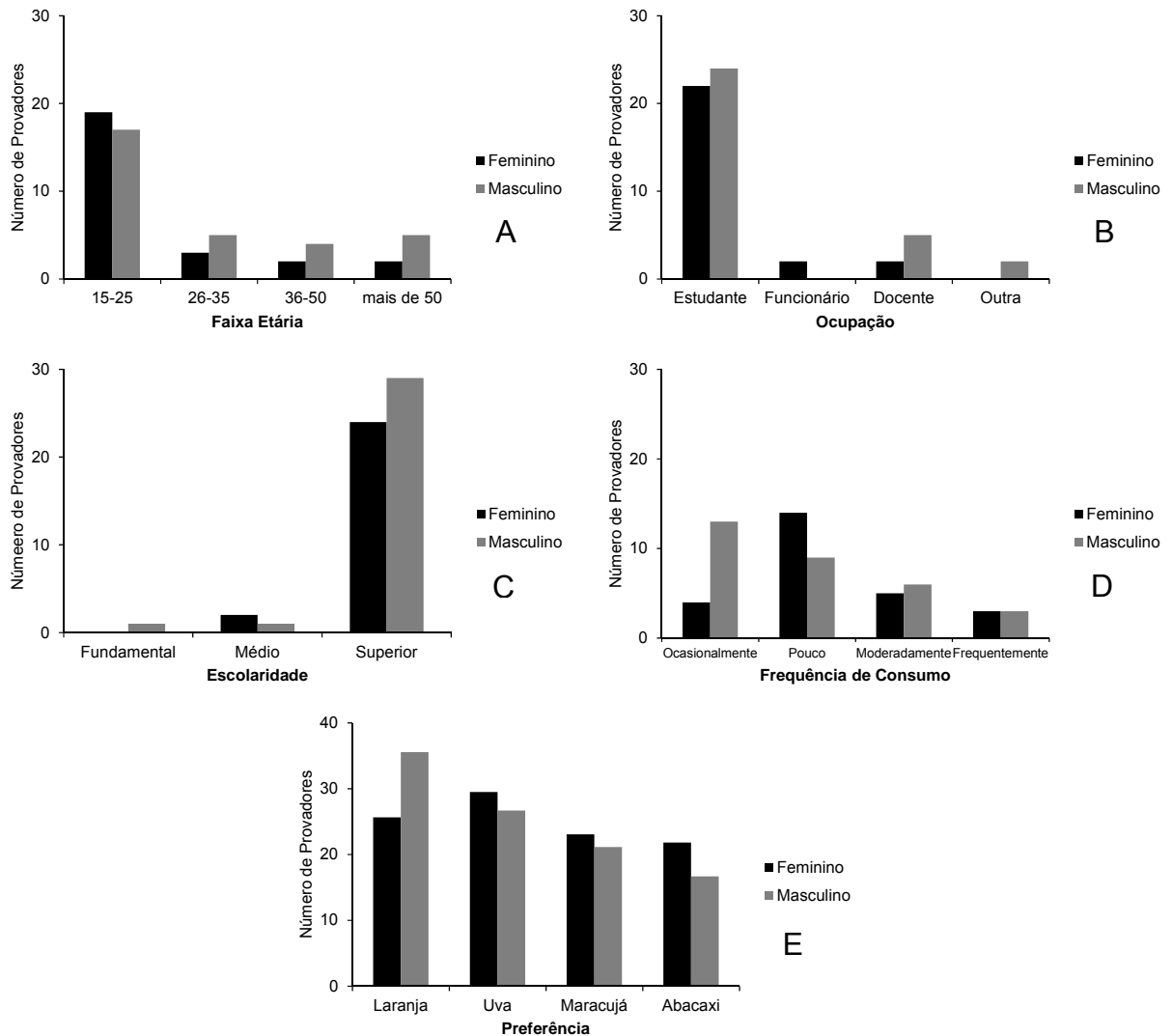
antocianinas, mas também por análise de aceitação do consumidor, uma vez que essas informações em conjunto, possibilitam um melhor entendimento a respeito de como essas avaliações se interagem e o que é essencial para o estabelecimento de uma nova técnica de cultivo de uvas (KOYAMA et al., 2014a).

Com relação ao perfil dos provadores, a maior proporção de participantes da análise sensorial do suco de uva foi a de estudantes de ambos os sexos, o que explica a concentração dos julgadores na faixa etária de 15 a 25 anos. Os provadores em sua maioria estavam cursando ou possuíam a formação superior (Figura 3.2). Como o recrutamento dos membros para as análises foram realizadas em uma instituição de nível superior, a pouca variação das características dos participantes era esperado.

Quanto à preferência pelos sabores, os provadores foram orientados a poderem escolher mais de um sabor. Verificou-se que os provadores do sexo feminino preferem o suco de uva, mas também gostam dos demais sabores. Com relação ao sexo masculino, a preferência foi o sabor laranja, seguido de uva. Estes resultados indicam que os participantes eram potenciais consumidores de suco de uva. Embora tenha se observado estes resultados para preferência, os dados referentes à frequência de consumo de suco de uva não foi elevado. A maior proporção do sexo feminino respondeu que consome suco de uva poucas vezes, ou seja, uma ou duas vezes por semana. Com relação ao sexo masculino, o consumo é ainda menor, predominando as respostas para consumo ocasionalmente, o que significa o consumo de suco de uva em menos de uma vez por semana.

Esses resultados sugerem que nessa faixa etária, principalmente o sexo masculino, não consomem suco de uva e provavelmente de outros sabores também, preferindo ainda o consumo de refrigerantes e água. Embora se observe o aumento do interesse por produtos naturais, de acordo com Minim (2013), o mercado brasileiro de bebidas não alcoólicas é caracterizado por um maior consumo desses produtos, sendo que em 2010 o consumo de refrigerante representou 25,2%, a água 22,7% e as bebidas prontas para beber, que incluem os sucos, foi de apenas 12,8%.

Figura 3.2 - Avaliação do perfil dos provadores referentes à faixa etária (A), ocupação (B), escolaridade (C), frequência de consumo (D) e preferência por tipo de suco (E). Maringá, PR, 2012. Obs.: Ocasionalmente: até uma vez por semana. Pouco: uma a duas vezes por semana. Moderadamente: duas a quatro vezes por semana. Frequentemente: mais de quatro vezes por semana.



Diante do exposto, a aplicação de 400 mg L^{-1} de S-ABA antes, durante ou depois do *véraison* não altera as características físicas dos cachos e das bagas. Por outro lado, incrementa a concentração de antocianinas totais de forma equivalente, tanto nas bagas quanto no suco de uva 'Isabel', assim como as variáveis da cor das bagas, independente da época de aplicação, sem alterar a concentração de polifenóis totais, além de seus sucos serem mais apreciados em análise sensorial. Assim, confirma-se que o S-ABA pode ser aplicado em uma faixa mais ampla de tempo, próximo ao *véraison*, resultando em uvas como fonte de matéria-prima para suco mais coloridas.

3.5 CONCLUSÃO

A aplicação de 400 mg L⁻¹ de S-ABA antes, no durante ou depois do *véraison* propicia o incremento na concentração de antocianinas totais e de cor das bagas e do suco integral da uva 'Isabel', além de apresentar maior aceitação em análise sensorial dos sucos. No entanto, não exerce influência sobre a concentração de polifenóis totais.

3.6 REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394-400, 2007.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2011. 601p.
- BAGGIOLINI, M. Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. **Revue romande d'Agriculture, de Viticulture et d'Arboriculture**, Lausanne, v.8, p.4-6, 1952.
- BAILLOD, M.; BAGGIOLINI, M. Les stades repères de la vigne. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture**, Nyon, v.25, n.1, p.7-9, 1993.
- BAN, T. et al. Abscisic acid and 2, 4-dichloroethoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v. 78, p. 586–589, 2003.
- BERLI, F. J. et al. Solar UV-B and ABA involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.59, p.4874-4884, 2011.
- BORGES, R. S. et al. avaliação sensorial de suco de uva cv. Isabel em cortes com diferentes cultivares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v.especial, p.584-591, 2011.
- BORGES, R. S. et al. Phenolic compounds, favorable oxi-redox activity and juice color of 'Concord' grapevine clones. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.161, p.188-192, 2013.
- BOULTON, R. the copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. . **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 52, p. 67-87, 2001.
- BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 04 jun. 2009.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 64p.

CANTÍN, C. M. A.; FIDELIBUS, B. M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at *véraison* advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, p.237–241, 2007.

CASTILLO-MUÑOZ et al. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.57, p.209-219, 2009.

CLEMENTE, E.; GALLI, D. Stability evaluation of anthocyanin extracted from processed grape residues. **International Journal of Science**, v.2, p.12-18, 2013.

COMERELLA, C. G. et al. Polifenóis totais e avaliação sensorial de suco de uvas Isabel tratadas com ultrassom. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas v.4, p.69-73, 2012.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

CRISTOFOLI, B. **Influência do tempo de extração na composição e na razão isotópica 18O/16O da água do suco de uva elaborado pelo método de Arraste de Vapor**. 2007. 26 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, 2007.

DAVIES, C.; BÖTTCHER, C. Hormonal control of grape berry ripening. In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. **Grapevine molecular physiology and biotechnology**. Netherlands: Springer; p.229-261, 2009.

DEIS, I. et al. Water deficit and exogenous ABA significantly affect grape and wine phenolic composition under in field and in-vitro conditions. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.65, p.11-21, 2011.

FERRARA, G. et al. Application of abscisic acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' grape berries in a mediterranean climate: effects on color, chemical characteristics, metabolic profile, and S-ABA concentration, **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.32, p.491-505, 2013.

GAGNÉ, S. ABA initiates anthocyanin production in grape cell cultures. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.30, p1-10, 2011.

GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Villenave d'Ornon, v.44, p.9-15, 2011.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ – IAPAR. **Cartas climáticas**. Versão eletrônica, 2010. Disponível em: <

<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>> Acesso em: 20 ago. 2014.

JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of and the expression of anthocyanin biosynthetic genes berry skins. **Plant Science**, Londres, v.167, p.247-252, 2004.

KOYAMA et al. Épocas de aplicação e concentrações de ácido abscísico no incremento da cor da uva 'Isabel'. **Semina**, Londrina, v.35, n.4, p.1697-1706, 2014b.

KOYAMA et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **Hortscience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460-464, 2014a.

KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. **Functional and Integrative Genomics**, Lisboa, v.10, p.367-381, 2010.

LANCASTER, J.E. et al. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**. v.122, p.594-598, 1997.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p.291-297, 2007.

MACGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, p.1254-1255, 1992.

MAIA, J. D. G. et al. Novas cultivares brasileiras de uvas para elaboração de suco no semiárido brasileiro: desempenho agrônômico e qualidade do suco. **Circular Técnica, 96**, Bento Gonçalves: Embrapa, 2013. 24p.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.659-664, 2005.

MARZAROTTO, V. Suco de uva. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010. p.359-385.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2013. 332.

MORI, K. et al. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. **Vitis**, Santiago, v.44, n.4, p.161-165, 2005.

OWEN S. J. et al. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, n.3, p.277-284, 2009.

- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W. Effects of Forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of 'Flame Seedless' grapes. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p.173–176, 2008.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W.; DOKOOZLIAN N. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v.82, p.304–310, 2007a.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, p.1440-1445, 2006.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Timing and concentration of abscisic acid applications affect the quality of 'Crimson Seedless' grapes. **International Journal of Fruit Science**, Nova Iorque, v.7, n.4, p.71-83, 2007b.
- PINTO, E. P. et al., A uva como alimento funcional: uma revisão. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v.3, n.3, p.66-73, 2011.
- PONTES, P. R. B. et al. Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.2, p.313-318, 2010.
- RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments**. Inglaterra: John Wiley & Sons, 2006. v. 2. 450p.
- RIZZON, L. A.; LINK, M. Composição do suco de uva caseiro de diferentes cultivares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.689-692, 2006.
- RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva**. Brasília: Embrapa. Informação Tecnológica, 2007. 45p.
- RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G. Colorimetria. In: RIZZON, L. A. **Metodologia para análise de vinho**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p.57-73, 2010.
- ROBERTO, S. R. et al. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.
- ROBERTO, S. R. et al. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797-800, 2013.
- ROBINSON, S. P.; DAVIES, C. Molecular biology of grape berry ripening. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.6, p.175-188, 2000.
- ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v.127, p.174-179, 2011.
- SATO, A.J. et al. Fenologia e demanda térmica das videiras Isabel e Rubea sobre diferentes porta-enxertos na região norte do Paraná. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 29, n.2, p.283-292, 2008.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Packer, L., **Methods in Enzymology**, Oxidant and Antioxidants, v. 299. Academic Press, San Diego, p.152–178, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.55, n.4, p.297-304, 2008.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.17, p.598-604, 2010.

VARGAS, P. N.; HOELZEL, S. C.; ROSA, C. A. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p.11-15, 2008.

VEDANA, M. I. S. et al. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, p.159-165, 2008.

VILLANUEVA, N. D. M. et al. Performance of hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**, Oxford, v.16, n.8, p.691-703, 2005.

4 ARTIGO B - ACÚMULO DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS NA BAGA E NO SUCO INTEGRAL DE UVA 'ISABEL' TRATADA COM ÁCIDO ABCSÍCIO EM DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO

4.1 RESUMO E ABSTRACT

RESUMO

Para a elaboração de suco de uva umas das principais cultivares utilizadas é a Isabel, a qual apresenta rusticidade e elevada produtividade, porém pouca produção de antocianinas responsável pela cor. Dessa forma, uma alternativa é a promoção da síntese desse composto. O objetivo do trabalho foi avaliar a concentração de antocianinas e compostos fenólicos na baga e no suco integral da uva 'Isabel' tratada com S-ABA (ácido abscísico) em diferentes fases de maturação. O experimento foi realizado em área comercial localizada em Maringá, PR, durante duas safras consecutivas (safra regular de 2012 e safra fora de época de 2013), sendo as videiras conduzidas em latada no espaçamento de 4,0 x 1,0 m. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições e sete tratamentos: Testemunha; S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado 7 dias antes do *véraison* (DAV); S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no *véraison* (V); S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 dias depois do *véraison* (DDV); 7 DAV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 dias antes da colheita (DAC); S-ABA 400 mg L⁻¹, aplicado no V + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DAC; e S-ABA 400 mg L⁻¹, 7 DDV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 DAC. Foram avaliadas as características físico-químicas, tais como massa e diâmetro das bagas; massa e comprimento dos cachos; polifenóis e antocianinas totais das bagas e do suco integral, bem como a taxa de acúmulo de antocianinas nas bagas. Além disso, foi realizada a avaliação da cor das bagas e do suco integral e a análise sensorial dos sucos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para as características físicas das bagas e dos cachos, como a massa e o comprimento, bem como para a concentração de polifenóis totais da baga e do suco, não houve diferença entre os tratamentos. Quanto às antocianinas totais da baga e do suco verificou-se o aumento mediante a aplicação de S-ABA, independente da fase de maturação, bem como para a taxa de acúmulo diário de antocianinas nas bagas. A aplicação do regulador vegetal foi favorável também as variáveis colorimétricas das bagas e do suco, assim como para a análise sensorial dos sucos. Conclui-se que a aplicação de S-ABA incrementa a concentração de antocianinas totais e as variáveis de cor, tanto nas bagas quanto no suco, bem como a aceitabilidade dos sucos na análise sensorial, sem afetar a concentração de polifenóis totais. Uma aplicação aos 7DAV ou duas aplicações (7DAV + 10DAC; V + 10DAC ou 7DDV + 10DAC) de S-ABA 400 mg L⁻¹ proporcionam os melhores resultados no incremento da cor das bagas e dos sucos, e levando-se em consideração os custos envolvidos, sugere-se a aplicação única aos 7DAV.

Palavras-chave: *Vitis labrusca*, regulador vegetal, polifenóis, coloração.

ANTHOCYANIN ACCUMULATION AND PHENOLIC COMPOUND CONCENTRATION IN BERRY AND JUICE OF 'ISABEL' GRAPEVINE TREATED WITH ABSCISIC ACID IN DIFFERENT MATURATION STAGES

ABSTRACT

For the production of the grape juice one of the main cultivars is Isabel, which has rusticity and high productivity, but little production of anthocyanins responsible for the color. Thus, an alternative is to promote the synthesis of this compound. The aim of this work was to evaluate the anthocyanin accumulation and the phenolic compound concentration in berry and juice of 'Isabel' grapevine treated with S-ABA (abscisic acid) in different maturation stages. The experiment was conducted in a commercial vineyard located in Maringa, PR, Brazil, during two consecutive seasons (regular season of 2012 and out of season of 2013). The vines were trained in an overhead trellis system and spaced at 4.0 x 1.0 m. The statistical model used was a randomized block design with five replications and seven treatments: control; S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7 days before *véraison* (DBV); S-ABA 400 mg L⁻¹, applied at *véraison* (V); 7 days after *véraison* (DAV); S-ABA 400 mg L⁻¹, applied 7DBV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10 days before harvest (DBH); S-ABA 400 mg L⁻¹, applied at V + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10DBH; and S-ABA 400 mg L⁻¹, 7DAV + S-ABA 400 mg L⁻¹ 10DBH. The physical-chemical characteristics, as berry weight and diameter; cluster weight and length; total anthocyanin and polyphenols of berry and juice, as well as the rate of anthocyanin accumulation in berries were evaluated. Furthermore, it was analyzed the berry and juice color, and the sensory analysis of the juice. Means were subjected to analysis of variance and compared using the Scott-Knott test at 5% probability. For the physic characteristic of berry and cluster, such as weight and length, as well as for the polyphenol of berry and juice, there was no difference between treatments. Regarding the total anthocyanin concentration in berry and juice, it was verified an increase by applying S-ABA, independent of the maturation stage, as well for the daily anthocyanin accumulation rate in berries. The application of plant growth regulator was also favorable for colorimetric variables of berries and juice, as well as for sensory analysis of juices. It was concluded that S-ABA application increases the total anthocyanin concentration and color variables, either in berries and juice, as well as for juice acceptance of juice in sensory analysis, without affecting the polyphenol concentration. One application at 7DBV or two applications (7DBV + 10DBH; V + 10DBH or 7DAV + 10DBH) of S-ABA 400 mg L⁻¹ provide the best results regarding the increment of berries and juice color, and considering the costs involved, it is suggested a single application at 7DAV.

Key words: *Vitis labrusca*, plant growth regulator, polyphenols, color.

4.2 INTRODUÇÃO

A elaboração de suco é uma das várias alternativas de aproveitamento da uva, a qual vem aumentando no Brasil em função, principalmente, do interesse do consumidor por produtos saudáveis (IBRAVIN, 2011; RIZZON; MENEGUZZO, 2007).

A uva 'Isabel' (*Vitis labrusca* L.) é originária da Carolina do Sul, EUA, e foi introduzida no Brasil em 1840. Juntamente com a 'Concord' e a 'Bordo', faz parte das principais cultivares destinada ao processamento (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010; HERNANDES; MARTINS, 2010; MARZAROTTO, 2010). Esta cultivar é vigorosa, rústica, produtiva e apresenta elevado potencial de acúmulo de açúcar, variando entre 15 a 19°Brix (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010; MARZAROTTO, 2010; RIZZON; MENEGUZZO, 2007). Entretanto, devido à sua deficiência em cor, os sucos elaborados com a 'Isabel' precisam ser cortados com suco de cultivares tintureiras para obtenção de produtos com maior intensidade de cor (SATO et al., 2009; CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010).

O desenvolvimento da cor da uva é um evento de importância biológica e econômica, uma vez que o preço dos produtos pouco coloridos é afetado, pela menor aceitabilidade do consumidor (KOSHITA et al., 2011; ROBERTO et al., 2013).

As antocianinas são compostos fenólicos pigmentados responsáveis pela maioria das cores vermelho, rosa, roxo e azul observada nos frutos e vegetais (BORDIGNON et al., 2007; GIUSTI; JING, 2007; LOPES et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009). Nas uvas, as antocianinas estão localizadas principalmente na casca, podendo ser encontradas também na polpa de algumas cultivares tintureiras ricas em cor (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Análises de expressão gênica da rota de biossíntese de antocianinas realizadas com células *in vitro* e bagas de uvas tratadas com ácido abscísico (ABA) exógeno comprovam o envolvimento desse regulador de crescimento na *biossíntese* de antocianinas (BAN et al., 2003; GAGNÉ et al., 2011; HIRATSUKA et al., 2001; KOYAMA, SADAMATSU, GOTO-YAMAMOTO, 2010; OWEN et al., 2009).

O incremento das antocianinas das uvas por meio da aplicação exógena de ABA, tendo como referência o início da maturação (*véraison*) foi

reportado por vários autores, sendo que a frequência de aplicações também pode influenciar no resultado conforme a cultivar (DEIS et al.; 2011; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; MORI et al., 2005; OWEN et al., 2009; PEPPI; FIDELIBUS, 2008; PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007; ROBERTO et al., 2012, 2013). Em uva 'Isabel', determinou-se que uma ou duas aplicações de 400 mg L⁻¹ do isômero (*S*)-*cis*-ácido abscísico (*S*-ABA) incrementam a concentração de antocianinas (KOYAMA et al., 2014a), porém, não foi ainda elucidado sobre a melhor época de aplicação desse regulador vegetal, a qual pode variar de acordo com a cultivar (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007a; GIRIBALDI, HARTUNG; SCHUBERT, 2011).

Desta forma, é de suma importância determinar a fase de maturação para aplicação do ABA que mais favorece o acúmulo de antocianinas em uva 'Isabel', visando o melhor planejamento da aplicação do regulador vegetal, uma vez que em áreas muito extensas ou dependendo das condições climáticas, nem sempre é possível aplicar o regulador vegetal no *véraison*. Além disso, determinar com exatidão o início desse período é uma tarefa difícil, tendo em vista que esse estágio fenológico é caracterizado por mudanças no metabolismo das bagas, e tais mudanças ocorrem de forma individual nas mesmas e de forma diferenciada entre as cultivares de uva (ROBINSON; DAVIES, 2000).

Com base nessas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar o acúmulo de antocianinas e de compostos fenólicos nas bagas e no suco integral de uva 'Isabel' tratada com ABA em diferentes fases de maturação.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em um vinhedo comercial de uva 'Isabel' (*Vitis labrusca* L.) formada em pé-franco, com 11 anos de idade, pertencente à Vinícola Intervin[®], localizado em Maringá, PR (23°25'S, 51°57'O, altitude de 542 m). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C, e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C. A precipitação média anual é de 1.596 mm, e a tendência é de concentração das chuvas nos meses de verão (IAPAR, 2010).

Foi avaliado o efeito do (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA), aplicado em diferentes fases de maturação dos cachos, durante duas safras consecutivas, safra regular de 2012 e safra fora de época de 2013. O S-ABA foi fornecido pela empresa Valent BioSciences Corporation® (Libertyville, Estados Unidos), cuja concentração do princípio ativo é 100 g L⁻¹. A concentração de S-ABA utilizada foi de 400 mg L⁻¹ (KOYAMA et al., 2014a). As videiras foram conduzidas em latada, no espaçamento 4,0 x 1,0 m. Para cada safra, a poda de frutificação foi realizada deixando-se duas a três gemas por esporão. Em seguida, foi aplicada sobre as gemas a cianamida hidrogenada a 5%, no intuito de induzir e uniformizar a sua brotação.

Foi avaliada a aplicação exógena do S-ABA nas seguintes fases de maturação:

- a. Testemunha;
- b. S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7 dias antes do *véraison* (DAV);
- c. S-ABA 400 mg L⁻¹ no *véraison* (V);
- d. S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7 dias depois do *véraison* (DDV);
- e. S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7 DAV + S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 10 dias antes da colheita (DAC);
- f. S-ABA 400 mg L⁻¹ no V + S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 10 DAC;
- g. S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7 DDV + S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 10 DAC.

O *véraison* da uva 'Isabel' foi considerado quando aproximadamente 50% das bagas mudaram para a cor tinta e iniciaram o amolecimento (BAGGIOLINI, 1952; BAILLOD; BAGGIOLINI, 1993).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com sete tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta por cinco plantas. Foram marcados, previamente à aplicação dos tratamentos, 15 cachos representativos em cada parcela.

Os cachos foram pulverizados com S-ABA no período da manhã, utilizando-se pulverizador costal com pressão de 568,93 psi (39,22bar), com bicos de pontas de jato cone oco-JA1, proporcionando cobertura completa e uniforme, sendo empregado volume de calda de 800 L ha⁻¹. Foi adicionado à calda de todos os tratamentos o espalhante não-iônico Break-Thru® (0,3 mL L⁻¹) (Evonik Industries, Alemanha).

Foram realizados os tratamentos culturais habituais na região em relação à nutrição, controle de plantas daninhas e manejo de pragas e de doenças.

A colheita foi realizada quando o teor de sólidos solúveis totais (SST) atingiu em torno de 16°Brix, para tanto foram analisados o teor de SST semanalmente, utilizando espectrofotômetro. De cada parcela, foram coletadas 90 bagas para as avaliações físico-químicas, sendo retiradas duas bagas da porção superior, mediana e inferior de cada cacho previamente marcado. As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Análise de Frutas, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, PR.

As características físicas das uvas foram avaliadas por meio de determinações da massa (g) e diâmetro das bagas (mm), massa (g) e comprimento dos cachos (cm), mediante a utilização de balança e paquímetro digital. A cor das bagas foi analisada empregando-se o colorímetro Minolta CR-10[®], sendo obtidas as variáveis de sua porção equatorial: L^* (luminosidade), C^* (saturação) e h° (matiz) (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). Os valores de luminosidade variam de 0 (preto) a 100 (branco). A saturação indica a pureza ou intensidade da cor, a distância a partir de cinza (acromática) em direção a uma cor pura, e é calculada a partir dos valores de a^* e b^* do sistema de escala CIELab, variando de 0 para uma cor completamente neutra, e não tem um fim arbitrário, mas a intensidade aumenta com a magnitude. A matiz refere-se à roda de cores e é medido em ângulos; verde, amarelo e vermelho, e corresponde a 180°, 90° e 0°, respectivamente (LANCASTER et al, 1997; MACGUIRE, 1992; PEPPI, FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006).

O suco integral das uvas foi elaborado pelo método “Welch”, utilizando-se uma panela extratora com capacidade de 7 kg (RIZZON; LINK, 2006), não sendo adicionada nenhuma enzima. Para tanto, de cada parcela foram utilizados 4 kg de uvas, com rendimento médio de 2 L de suco integral em cada parcela. Primeiramente, foi realizado o desengace, que consiste na separação das bagas de sua ráquis; e, em seguida, as bagas foram lavadas em água corrente. Para o processo de extração, foi adicionada água no depósito da panela extratora para a formação de vapor e posterior extração do suco. As bagas foram acondicionadas no recipiente perfurado da panela, o qual foi encaixado no recipiente externo e ambos colocados sobre o depósito de água com a tampa. Após 40 minutos de fervura, o suco foi engarrafado à quente (75°C), em recipientes de

polietileno transparente com tampa, com capacidade para 1 L. Após o resfriamento, o mesmo foi acondicionado em geladeira a 4°C.

Quanto às análises químicas das bagas e do suco integral, foram determinadas a concentração de antocianinas e de polifenóis totais.

A avaliação da concentração de antocianinas totais das bagas e do suco integral foi realizada segundo a metodologia de Clemente e Galli (2013). Para tanto, 30 bagas de cada parcela foram trituradas com mixer no intuito de homogeneizar a amostra, sendo utilizadas 50 g para análise das bagas ou 50 mL de suco integral, as quais foram utilizadas para a extração de antocianinas. As amostras foram trituradas durante 2 minutos com 50 mL da solução extratora de etanol 70% (pH 2,0). Para o preparo da solução, adicionou-se 70 mL de etanol P.A. a 30 mL de HCl 0,1 N. Posteriormente, foram adicionados 100 mL da solução de etanol 70% e a solução armazenada coberta com Parafilm® durante 12 horas a 4°C. O material foi filtrado em funil de Büchner com o auxílio de bomba de vácuo modelo Tecnal TE-058® e, em seguida, foram utilizados 100 mL do filtrado, completando-se com a solução extratora para 200 mL. Desta, foram retiradas amostras de 2 mL completando-se o volume até 100 mL, sendo em seguida deixadas por 2 horas no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (modelo Genesys 10S Spectrophotometer, UV-VIS®) a 535 nm, usando como “branco” apenas o solvente.

Para o cálculo da concentração de antocianinas totais, foi utilizada a seguinte fórmula, sendo os resultados expresso em mg 100g⁻¹ de bagas ou mg L⁻¹ de suco, em equivalentes de malvidina-3-glicosídeo (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008): Antocianinas totais = (Abs x VE1 x VE2 x 1.000) / (Valq x m x 982), em que: Abs: Absorbância (nm); VE1: Volume total do extrato filtrado (200 mL); VE2: Volume total do extrato diluído (100 mL); Valq: Alíquota da amostra filtrada diluída (2 mL); m: massa das bagas ou volume do suco integral (50 g de bagas ou 50 mL de suco).

Para a determinação da taxa de acúmulo diário de antocianinas totais nas bagas de cada tratamento (mg 100g⁻¹ dia⁻¹), as mesmas foram amostradas semanalmente a partir da primeira aplicação do S-ABA até a colheita, em um total de seis amostragens, utilizando-se equação da regressão de primeiro grau.

A quantificação de polifenóis totais das bagas e do suco integral foi realizada baseada no método de Folin-Ciocalteu (BORGES et al., 2013;

SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVANTOS, 1999). Para tanto, 30 bagas de cada parcela foram homogeneizadas, sendo utilizadas aproximadamente 5 g para análise das bagas ou 5 mL de suco de cada amostra, as quais foram trituradas com 50 mL de etanol a 50% durante 2 minutos e, em seguida, realizada a centrifugação a 3.500 rpm durante 5 minutos. Foram retiradas amostras de 0,2 mL desse extrato em tubo Falcon de 50 mL, ao qual foram adicionados 1,8 mL de água destilada, 10 mL de solução de Folin-Ciocalteu a 10% e 8 mL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) à 7,5%, entre 30 segundos a 8 minutos. O tubo foi agitado e mantido no escuro por 2 horas. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 765 nm, usando como “branco” todos os reagentes sem a alíquota da amostra centrifugada, sendo adicionados 2 mL de água destilada (completando-se 0,2 + 1,8 mL). O ácido gálico (GAE) foi usado como padrão e a curva de calibração obtida com solução de GAE nas concentrações de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 $\mu\text{g mg}^{-1}$. A partir desta, foi obtido por regressão linear a equação: $y=ax+b$, na qual a variável “y” representa a absorbância, e desta forma, obtida a concentração de polifenóis totais em equivalente de ácido gálico.

Para esse cálculo, foi utilizada a seguinte fórmula, sendo os resultados expressos em $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de bagas ou mg L^{-1} de suco: Polifenóis totais = $(\text{PTeq} \times V) \times 10$, em que: PTeq: valor obtido na equação da curva de calibração; V: Diluição da amostra (50 mL/volume da amostra).

A cor dos sucos integrais de cada tratamento foi avaliada segundo Rizzon e Salvador (2010). A densidade óptica das amostras, sem diluição, foi medida diretamente a 420, 520 e 620 nm em espectrofotômetro UV/Vis com cubetas de percurso ótico de 1 mm. Dessa forma, obtiveram-se as densidades ópticas a 420 nm (cor amarela), 520 nm (cor vermelha) e 620 nm (cor violácea). A intensidade cromática do suco (IC) foi determinada pela soma das leituras das densidades ópticas de cada amostra a 420, 520 e 620 nm, e a tonalidade (T) foi obtida pela razão entre a absorbância a 420 nm e a 520 nm.

A análise sensorial dos sucos de uva foi realizada adotando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com 70 indivíduos não treinados, constituídos de estudantes, docentes e funcionários técnico-administrativos do Campus da Universidade Estadual de Londrina. As avaliações foram realizadas em cabines individuais com iluminação de luz do dia especial, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de

Alimentos da UEL. Foram avaliados os atributos cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global das amostras de suco, utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos, com extremidades denominadas: desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9) (VILLANUEVA et al., 2005). Além disso, as notas foram divididas em três proporções: aprovação (% de notas entre 6 e 9), indiferença (% de nota 5) e rejeição (% de notas entre 1 e 4). Com relação à preferência, os provadores foram orientados a poder escolher mais de uma alternativa. Para a avaliação do perfil de cada julgador do teste sensorial, foi aplicado um questionário. As instruções gerais, questionários e escalas hedônicas dos atributos que foram empregados na análise encontram-se nos Anexos A, B e C.

As amostras foram servidas a 4°C em taças de acrílico transparente, na quantidade de 40 mL de cada amostra. Cada julgador recebeu, em ordem aleatorizada, as quatro amostras codificadas com números aleatórios de três dígitos. Água potável em temperatura ambiente foi servida aos julgadores para a limpeza da boca antes e entre as avaliações das amostras de suco de uva.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Como os resultados obtidos nas duas safras avaliadas foram similares, foram consideradas as médias das safras para a discussão dos resultados (KOYAMA et al., 2014a).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as características físicas, tais como massa e diâmetro das bagas e massa e comprimento dos cachos, não houve diferença em relação à aplicação do S-ABA nas diferentes fases de maturação da uva 'Isabel' (Tabela 4.1). De modo semelhante, a aplicação de ABA não afetou as características físicas de diversas cultivares de uva, como a 'Isabel', a 'Cabernet Sauvignon', a 'Benitaka' e a 'Rubi' (JEONG et al., 2004; KOYAMA et al., 2014ab; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; ROBERTO et al., 2012, 2013). No entanto, em estudo realizado com as uvas 'Flame Seedless' e 'Redglobe', houve efeito da aplicação de S-ABA na massa das bagas em algumas safras avaliadas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007a).

Essas variações de resultados sugerem que o S-ABA não influencia diretamente as características físicas das uvas, que estão mais relacionadas aos fatores climáticos da safra.

Tabela 4.1 - Massa e diâmetro das bagas, e massa e comprimento dos cachos da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	Massa da baga (g)	Diâmetro da baga (mm)	Massa do cacho (g)	Comprimento do cacho (cm)
Testemunha	3,6 ± 0,2	16,4 ± 0,4	115,9 ± 2,3	9,3 ± 0,1
7DAV	3,5 ± 0,1	16,6 ± 0,2	110,8 ± 3,2	9,4 ± 0,2
V	3,5 ± 0,1	16,6 ± 0,3	109,5 ± 2,6	9,2 ± 0,4
7DDV	3,5 ± 0,1	16,3 ± 0,3	123,5 ± 5,3	9,8 ± 0,2
7DAV + 10DAC	3,6 ± 0,1	16,9 ± 0,3	117,8 ± 10,5	9,4 ± 0,1
V + 10DAC	3,7 ± 0,1	16,8 ± 0,2	120,0 ± 9,2	9,5 ± 0,4
7DDV + 10DAC	3,6 ± 0,1	16,8 ± 0,2	110,1 ± 6,0	9,3 ± 0,2
F	0,94 ns	1,93 ns	2,05 ns	2,30 ns
CV (%)	3,75	2,07	7,33	2,98

Média das safras 2012 e 2013. ns: não significativo pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Obs: Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV = 7 Dias depois do *véraison*; 10DAC = 10 Dias antes da colheita.

Com relação às antocianinas totais, houve o incremento da sua concentração nas bagas tratadas com S-ABA, sendo os tratamentos com duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) mais efetivos em relação aos de uma única aplicação (7DAV, V e 7DDV), independente da época de aplicação. Para as antocianinas totais dos sucos, os resultados se repetem, com exceção do tratamento 7DAV, cuja aplicação proporcionou acúmulo semelhante aos tratamentos com duas aplicações, independente da fase de maturação (Tabela 4.2), indicando que, próximo ao *véraison*, quanto mais antecipada for aplicação do regulador vegetal, maior é o acúmulo final de antocianinas no suco integral da uva 'Isabel'.

Estes resultados sugerem que o efeito da aplicação de S-ABA no acúmulo de antocianinas das bagas não é transferido de forma exata aos sucos. Em estudo realizado com a uva 'Isabel', também não houve a mesma relação de aumento da concentração de antocianinas das bagas nos sucos, em que para as bagas a aplicação de S-ABA nas concentrações de 200 e 400 mg L⁻¹, independente

da época de aplicação aumentou a concentração de antocianinas. Em contrapartida, para o suco integral, a aplicação de 400 mg L⁻¹ em uma ou duas vezes foi mais efetivo (KOYAMA et al., 2014a).

Tabela 4.2 - Antocianinas e polifenóis totais das bagas e do suco da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	Antocianinas totais das bagas (mg 100g ⁻¹)	Antocianinas totais do suco (mg L ⁻¹)	Polifenóis totais das bagas (mg 100g ⁻¹)	Polifenóis totais do suco (mg L ⁻¹)
Testemunha	13,4 ± 1,4 c	79,0 ± 14,0 c	32,8 ± 2,5	2,3 ± 0,2
7DAV	17,5 ± 1,0 b	94,4 ± 7,1 a	34,2 ± 3,3	2,3 ± 0,2
V	17,6 ± 1,0 b	84,7 ± 5,9 b	33,4 ± 2,6	2,2 ± 0,2
7DDV	17,9 ± 1,6 b	87,7 ± 5,9 b	38,3 ± 3,6	2,3 ± 0,1
7DAV + 10DAC	21,2 ± 0,2 a	110,3 ± 14,6 a	33,3 ± 4,8	2,4 ± 0,2
V + 10DAC	21,6 ± 1,5 a	105,7 ± 11,2 a	36,1 ± 3,9	2,4 ± 0,2
7DDV + 10DAC	19,4 ± 0,7 a	96,5 ± 8,8 a	39,4 ± 2,3	2,5 ± 0,2
F	11,91*	6,51*	1,33 ns	0,67 ns
CV (%)	8,70	11,63	14,36	10,45

Média das safras 2012 e 2013. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ns: não significativo. Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV = 7 Dias depois do *véraison*; 10DAC = 10 Dias antes da colheita.

O aumento na concentração de antocianinas com a aplicação de ABA também foi observado nas bagas, cascas, polpas ou sucos em experimentos realizados com as uvas 'Cabernet Sauvignon', 'Pinot Noir' e 'Merlot' (DEIS et al., 2011; GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010; JEONG et al., 2004; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; MORI et al., 2005; OWEN et al., 2009). Porém, além da cultivar, o incremento da concentração de antocianinas com a aplicação do ABA é também influenciado por condições climáticas, uma vez que em algumas safras o seu acúmulo pode ser pouco expressivo, como verificado nas uvas 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a) e 'Crimson Seedless' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b).

Em relação à taxa de acúmulo diário de antocianinas no período entre a aplicação do S-ABA até a colheita das uvas, verifica-se pela análise de regressão que os tratamentos com duas aplicações de S-ABA (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) ou uma aplicação aos 7DAV apresentam taxas que se destacam da testemunha e dos demais tratamentos (Tabela 4.3), confirmando os

resultados obtidos quanto à concentração de antocianinas no suco de uva 'Isabel' (Tabela 4.2). Isso reforça que uma única aplicação do regulador aos 7DAV é suficiente para aumentar significativamente o acúmulo de antocianinas, e que uma segunda aplicação aos 10DAC reforça a taxa de acúmulo diário.

Tabela 4.3 - Taxa de acúmulo diário de antocianinas totais das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA (antocianinas = A + B. Tempo/dia). Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	A	B taxa de acúmulo de antocianinas (mg 100g ⁻¹ /dia)	R ² a/
Testemunha	-60,4 ± 4,3	0,55 ± 0,03	0,97*
7DAV	-75,3 ± 6,7	0,68 ± 0,05	0,96*
V	-61,1 ± 5,7	0,55 ± 0,04	0,97*
7DDV	-64,6 ± 5,4	0,58 ± 0,04	0,97*
7DAV + 10DAC	-78,4 ± 8,7	0,71 ± 0,07	0,96*
V + 10DAC	-73,6 ± 6,9	0,66 ± 0,06	0,95*
7DDV + 10DAC	-68,9 ± 5,9	0,63 ± 0,05	0,97*

Média das safras 2012 e 2013. a/: Coeficiente de determinação da análise de regressão. *: Significativo ($p < 0,05$). Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV = 7 Dias depois do *véraison*; 10DAC = 10 Dias antes da colheita.

Verifica-se que a determinação do momento ideal da aplicação do ABA em uvas é fundamental, uma vez que de acordo com GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT (2010) as bagas verdes (antes do *véraison*) são os tecidos que mais respondem ao tratamento, enquanto bagas mais maduras, respondem menos. Isto sugere que a recepção ou o mecanismo de sinalização para o ABA é modulado pelo desenvolvimento da uva. O nível de ABA na casca aumenta no início da maturação até 20 dias após e reduz até a colheita (BERLI et al., 2011). Contudo, quando o *véraison* se inicia, o ABA alcançou o seu pico, e neste momento não se pode interferir na sua síntese (DAVIS; BOTTCHE, 2009; GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010). Porém, alguns estudos mostram que o ABA é mais efetivo quando aplicado antes do *véraison* para 'Cabernet Sauvignon' (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2011) ou no *véraison* para 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a) e para 'Crimson Seedless' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b).

Além disso, a frequência de aplicação do regulador vegetal também pode influenciar a concentração de antocianinas e conseqüentemente a cor das bagas, como verificado por Roberto et al. (2012, 2013) nas uvas 'Benitaka' e 'Rubi', as quais apresentaram cor mais intensa quando receberam duas aplicações de S-ABA. Embora os autores não tenham avaliado a concentração de antocianinas nas cascas, uma vez que a cor está relacionada à concentração da mesma, deduz-se que os mesmos também foram superiores nessas condições. Por outro lado, Peppi, Fidelibus e Dokoozlian (2007a) relataram que o número de aplicações de S-ABA não exerceu influência sobre a concentração de antocianinas da uva 'Redglobe'. No presente estudo, duas aplicações de S-ABA ou uma aplicação sete dias antes do *véraison* foram mais efetivas, sugerindo que uma única aplicação é suficiente no incremento da antocianina, permitindo a economia do regulador vegetal, bem como no uso de mão de obra e maquinário para a aplicação.

Quanto aos polifenóis totais, não houve diferença entre os tratamentos, tanto nas bagas quanto no suco integral da uva 'Isabel' (Tabela 4.2). Da mesma forma, Koyama et al. (2014a) relataram que a aplicação de S-ABA não alterou os polifenóis totais das bagas da uva 'Isabel', porém, observaram o seu incremento no suco, independente da concentração e do momento da aplicação avaliada. Em estudos realizados por BERLI et al. (2011) e DEIS et al. (2011) com as uvas 'Malbec' e 'Cabernet Sauvignon', respectivamente, registrou-se o aumento de polifenóis totais quando tratadas com ABA.

Alguns fatores tais como o processamento, a cultivar, a região de cultivo e os tratamentos culturais adotados podem influenciar a concentração de compostos fenólicos totais em sucos de uvas comerciais (MALACRIDA; MOTA, 2005; VARGAS, HOEZEL; ROSA, 2008). Por se tratar de um conjunto de vários compostos, ou seja, os flavonoides (flavonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas) e não flavonóides (fenóis ácidos, cumarinas, estilbenos, lignanas e taninos), os resultados observados quanto à sua concentração e as antocianinas não tem a mesma relação, como verificado por Borges et al. (2013), em que os compostos fenólicos totais variam entre os clones da 'Concord' e os porta-enxertos; porém, não houve diferença em relação às antocianinas.

A concentração de antocianinas e polifenóis totais também diferem entre as bagas e o suco, sendo registradas maiores concentrações nas bagas em relação ao suco, evidenciando que as mesmas não são transferidas totalmente para

o suco. Esse fato pode ser explicado pela elaboração do suco à quente, que pode ocasionar a degradação desses compostos, bem como a forma de extração dos mesmos, uma vez que o álcool utilizado como solvente nas bagas extrai mais compostos fenólicos. A concentração de antocianinas e compostos fenólicos totais também foi inferior nos sucos em relação à baga da uva 'Isabel' em experimento realizado por Vedana et al. (2008). Ressalta-se que, os compostos fenólicos estão presentes nas sementes, as quais permaneceram intactas no processamento do suco, em função do solvente ser a água. Ao analisar diversas cultivares de uva, Rockenback et al. (2011) verificaram que os polifenóis totais foram superiores nas sementes, quando comparadas às cascas de uva.

Quanto às variáveis relacionadas à cor da uva, houve diferença entre os tratamentos para a luminosidade (L^*) e matiz (h°) (Tabela 4.4). Nos tratamentos que receberam uma aplicação de S-ABA aos 7DAV e no V, bem como aquelas que receberam duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC), verificou-se as menores médias de L^* , indicando cor mais intensa das mesmas. Os valores de h° estão relacionados ao maior conteúdo de antocianinas, uma vez que quanto mais escura as uvas, maiores são as concentrações de antocianinas (ABE et al., 2007), sendo registrados médias superiores com uma aplicação de S-ABA 7 DDV e duas aplicações aos 7 DAV e 7 DDV. Em experimento realizado por Koyama et al. (2014a), duas aplicações de S-ABA, independente da sua concentração, foram mais eficientes na redução do L^* , sendo que para o C^* houve a redução com aplicação do regulador vegetal em todos os tratamentos, não havendo diferença para h° .

A aplicação de S-ABA também intensificou a cor das uvas 'Benitaka' (ROBERTO et al., 2012) e 'Rubi' (ROBERTO et al., 2013), as quais apresentaram médias inferiores de L^* quando receberam duas aplicações do regulador vegetal.

Tabela 4.4 - Luminosidade, saturação e matiz das bagas da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	L*	C*	h°
Testemunha	25,3 ± 0,3 a	2,1 ± 0,2	150,4 ± 5,3 b
7DAV	23,9 ± 0,5 b	2,3 ± 0,1	152,9 ± 2,5 b
V	24,4 ± 0,4 b	2,3 ± 0,3	150,2 ± 5,2 b
7DDV	24,7 ± 0,3 a	2,2 ± 0,1	159,6 ± 4,4 a
7DAV + 10DAC	23,7 ± 0,5 b	2,4 ± 0,1	158,9 ± 5,3 a
V + 10DAC	24,1 ± 0,3 b	2,6 ± 0,1	154,4 ± 1,8 b
7DDV + 10DAC	23,9 ± 0,5 b	2,3 ± 0,1	164,1 ± 3,7 a
F	5,82*	2,68 ns	4,46*
CV (%)	2,11	8,03	3,55

Média das safras 2012 e 2013. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ns: não significativo. *: significativo ($p < 0,05$). L*: luminosidade; C*: saturação e h°: matiz. Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV = 7 Dias depois do *véraison*; 10DAC = 10 Dias antes da colheita.

Quanto à época de aplicação do regulador vegetal, dependendo da cultivar de uva, pode não haver alteração das variáveis de cor das bagas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a). Por outro lado, há relatos de que a melhor aplicação para incremento das variáveis de cor para uvas de mesa cultivadas na Califórnia, EUA, é no *véraison* (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b), ou uma aplicação de 400mg L⁻¹ de S-ABA, uma semana após o *véraison* ou duas aplicações, na primeira e quarta semanas após o *véraison*, para uvas cultivadas na região da Puglia, Itália (FERRARA et al., 2013).

Os resultados observados quanto à concentração de antocianinas nas bagas (Tabela 4.2) não foram similares aos das variáveis de cor das bagas (Tabela 4.4), visto que grandes diferenças no conteúdo de pigmentos na casca podem ter pouco efeito na cor da baga, torna-se importante avaliar o efeito das práticas culturais na cor das bagas por meio da cor e da concentração de antocianinas na casca conjuntamente (PEPPI, FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; PEPPI, FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b).

Com relação à cor do suco obtido pelas densidades ópticas, houve diferença para todas as variáveis avaliadas, com exceção da tonalidade, a qual não teve influência da aplicação de S-ABA (Tabela 4.5). Para as densidades ópticas de

420 e 520 nm e a intensidade cromática, os tratamentos com duas aplicações de S-ABA (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) resultaram nas maiores médias, por outro lado, para a densidade de 620 nm, somente o tratamento com duas aplicações (7DAV + 10DAC) apresentou a maior média.

Tabela 4.5 - Densidade óptica a 420, 520 e 620 nm, intensidade cromática (IC) e tonalidade (T) dos sucos da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Maringá, PR.

Tratamentos (S-ABA 400 mg L ⁻¹)	420	520	620	IC	T
Testemunha	0,460 ± 0,05 b	0,937 ± 0,12 b	0,178 ± 0,02 b	1,574 ± 0,20 b	0,486 ± 0,01
7DAV	0,502 ± 0,05 b	1,086 ± 0,13 b	0,196 ± 0,02 b	1,783 ± 0,19 b	0,467 ± 0,02
V	0,469 ± 0,03 b	0,993 ± 0,09 b	0,182 ± 0,02 b	1,644 ± 0,13 b	0,471 ± 0,01
7DDV	0,495 ± 0,04 b	1,021 ± 0,08 b	0,191 ± 0,02 b	1,707 ± 0,13 b	0,482 ± 0,01
7DAV + 10DAC	0,604 ± 0,08 a	1,322 ± 0,20 a	0,250 ± 0,02 a	2,175 ± 0,32 a	0,462 ± 0,01
V + 10DAC	0,534 ± 0,04 a	1,156 ± 0,10 a	0,210 ± 0,02 b	1,900 ± 0,16 a	0,467 ± 0,02
7DDV + 10DAC	0,558 ± 0,05 a	1,208 ± 0,15 a	0,212 ± 0,02 b	1,978 ± 0,22 a	0,470 ± 0,01
F	3,21*	4,01*	3,96*	3,84*	1,98 ns
CV (%)	12,38	13,60	13,62	13,10	2,87

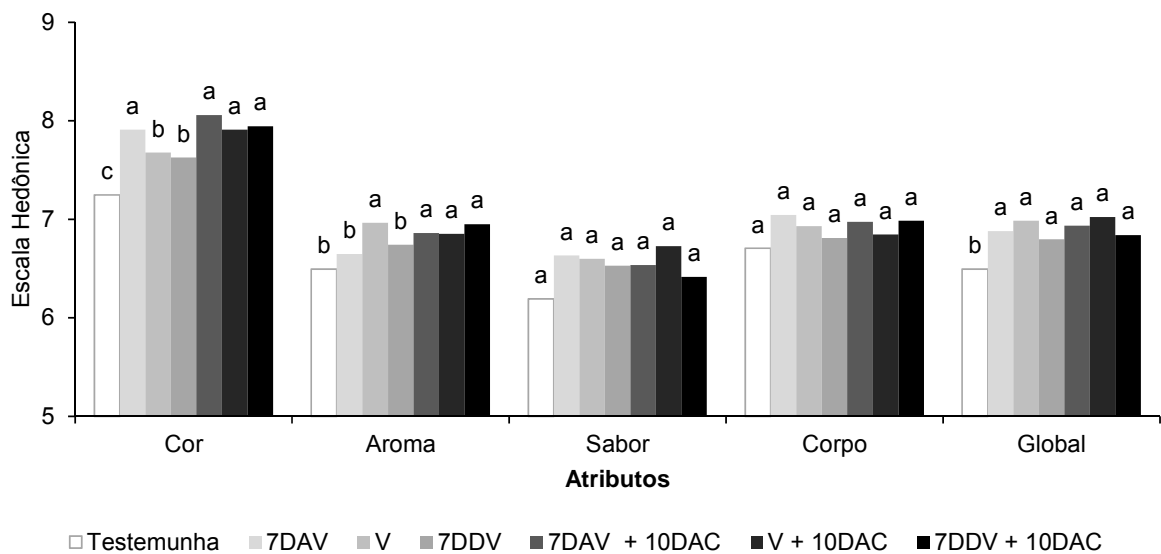
Média das safras 2012 e 2013. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ns: não significativo. Aplicação aos 7DAV = 7 Dias antes do *véraison*; V = *Véraison*; 7DDV = 7 Dias depois do *véraison*; 10DAC = 10 Dias antes da colheita.

Na avaliação da cor do suco por densidade óptica, a faixa de 520 nm expressa a intensidade de cor vermelho e depende principalmente da quantidade de antocianinas presente (BORGES et al., 2013). Duas aplicações de S-ABA, independente da época, proporcionaram as maiores médias, confirmando os resultados obtidos quanto à concentração de antocianinas nos sucos tratados com o regulador vegetal (Tabela 4.2). Essas médias foram inferiores quando comparadas às registradas por Borges et al. (2013) para clones da 'Concord' (1,257) e por Cristofoli (2007) para a mesma cultivar (1,165), evidenciando a menor concentração de antocianinas da uva 'Isabel', que geralmente é cortada com uvas tintureiras, como a 'Concord'. Porém, ressalta-se que na análise sensorial do suco de uva 'Isabel' realizado por Borges et al. (2011), o suco com corte utilizando 20% de 'Concord' apresentou a mesma aceitação do suco de uva 'Isabel' 100%, quanto à sua cor, o que permite inferir que as médias dos sucos tratados com S-ABA podem ser suficientes para a aceitação do consumidor.

A análise sensorial dos sucos mostrou que houve diferença entre os tratamentos para a cor, aroma e a característica global dos sucos (Figura 4.1).

Os sucos elaborados a partir de uvas que receberam uma aplicação 7 DAV ou duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) de S-ABA tiveram as maiores notas de preferência quanto à cor, os quais estão de acordo com os resultados obtidos quanto à concentração de antocianinas nos sucos (Tabela 4.2).

Figura 4.1 - Escala hedônica de nove pontos para os atributos de cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global obtidos no teste de aceitação de suco integral da videira 'Isabel' submetida a diferentes tratamentos com 400 mg L⁻¹ de S-ABA. Maringá, PR. Obs. Médias das safras de 2012 e 2013 seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Obs: Aplicado aos 7DAV = 7 Dias Antes do *Véraison*; V = *Véraison*; 7DDV= 7 Dias depois do *Véraison*; 10DAC = 10 dias antes da colheita.



A determinação da aceitação de produtos pelo consumidor é parte crucial no processo de consolidação de um alimento no mercado por gerar informações para a tomada de decisões dos setores produtivos e comerciais para melhor atender às demandas do consumidor (MASCARENHAS et al, 2010; TALMA et al., 2010).

O desenvolvimento de produtos de aparência atrativa é de suma importância para a indústria de alimentos, sendo a cor, um dos fatores que mais influencia na aceitabilidade do produto pelo consumidor (MAMEDE et al., 2013;

ARAÚJO, 2011; COULTATE, 2004). Em sucos comerciais de uva, a maior aceitação é por produtos que apresentam maior intensidade de atributos sensoriais e que apresentam equilíbrio entre eles (PONTES et al., 2010).

Para os sucos de uva 'Isabel Precoce' e 'Isabel' são recomendados o corte com cultivares tintureiras, como a Concord, a BRS Rúbea, a BRS Cora, a BRS Magna, a BRS Violeta e a BRS Carmem, no intuito de melhorar a cor (MAIA et al., 2013; BORGES et al., 2011). Dessa forma, os resultados obtidos nesse trabalho quanto à concentração de antocianinas totais e análise sensorial evidenciam que o uso do regulador vegetal pode ser uma alternativa para o incremento da cor do suco integral da uva 'Isabel', podendo suprir a necessidade por cortes com outras cultivares.

Além dos resultados quanto à aceitabilidade da cor, a aplicação do S-ABA também favoreceu os atributos aroma e global. Para o aroma uma aplicação no V ou duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) de S-ABA nas uvas apresentaram as maiores médias de aceitabilidade dos sucos. Quanto à aceitabilidade global, os sucos que foram elaborados com as uvas que receberam aplicação de S-ABA, independente da fase de maturação e do número de aplicações, receberam as maiores notas. Esses resultados podem ser verificados também ao separar as notas da aceitação global em Aprovação (% de notas entre 6 e 9), Indiferença (% de nota 5) e Rejeição (% de notas entre 1 e 4): 75, 14 e 11% para a testemunha; 82, 11 e 8% para aplicação de S-ABA 7DAV; 86, 11 e 3 % para aplicação no V; 20, 14 e 6% para aplicação 7DDV; 87, 7 e 6% para aplicação 7DAV + 10DAC; 85, 10 e 6% para aplicação V + 10DAC; e 83, 8 e 8% para aplicação 7DDV + 10DAC, indicando a menor aceitação do suco elaborado com uvas sem a aplicação do regulador de crescimento. Da mesma forma, Koyama et al. (2014a) relataram que os sucos da uva 'Isabel' que receberam a aplicação de S-ABA foram mais aceitos na análise sensorial.

Na Figura 4.2 é apresentado o perfil dos provadores da análise sensorial do suco de uva 'Isabel'. O recrutamento dos mesmos foi realizado em uma instituição de nível superior, e dessa forma observa-se pouca variação das características dos participantes.

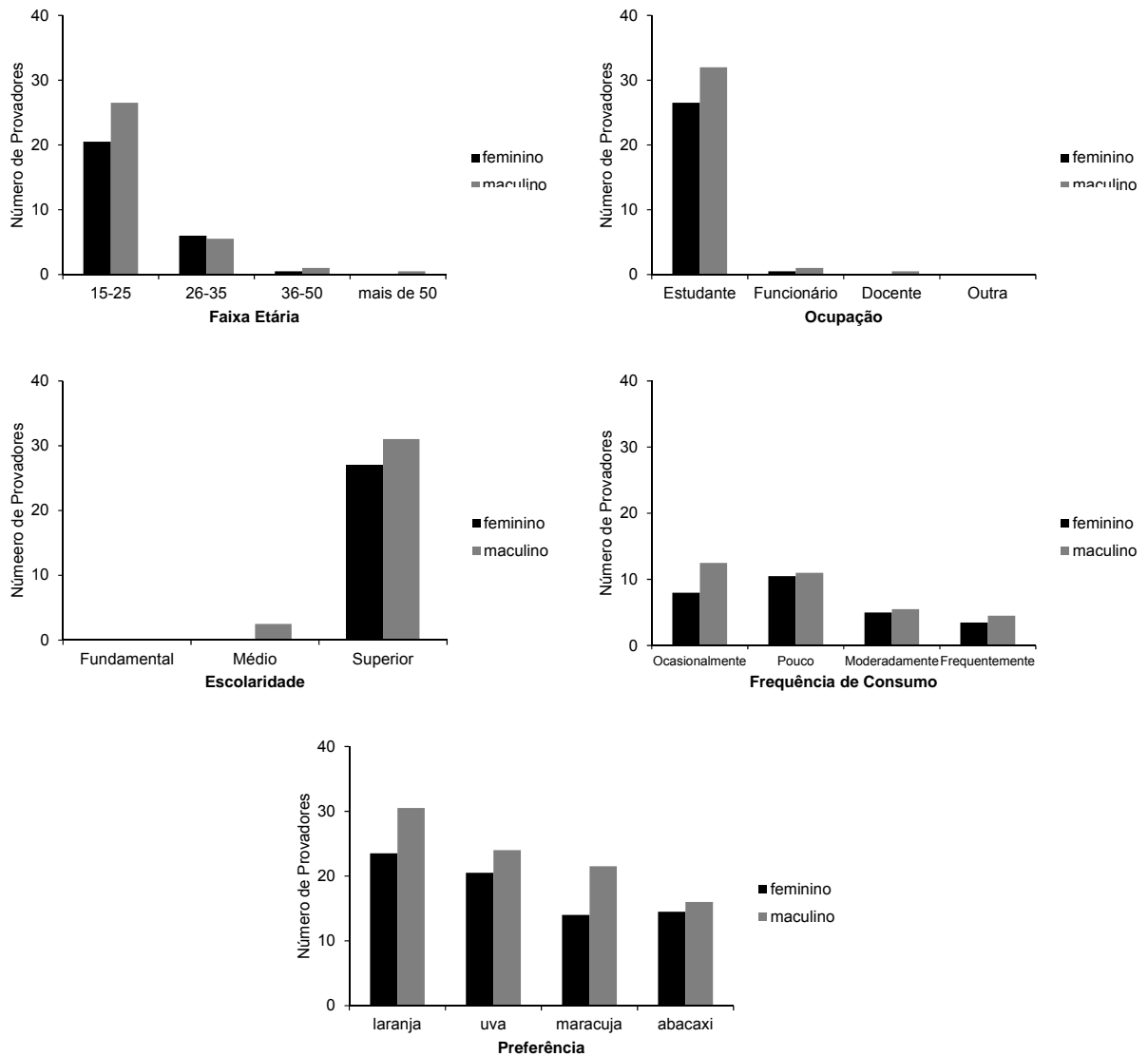
A maior proporção de participantes da análise sensorial do suco de uva foi a de estudantes, de ambos os sexos, o que explica a concentração dos

juízes na faixa etária de 15 a 35 anos, sendo que em sua maioria estavam cursando ou possuíam a formação superior (Figura 4.2).

Para a preferência pelos sabores, os provadores foram orientados a poderem escolher mais de um sabor. Verificou-se que os provadores tanto do sexo feminino quanto o masculino preferem o suco de laranja seguido do suco de uva, evidenciando que os participantes eram potenciais consumidores de suco de uva. No entanto, constata-se também que poucos consomem o suco de uva com frequência (Figura 4.2).

Esses resultados sugerem que nessa faixa etária, o consumo de sucos é ainda baixo, visto que o mercado brasileiro de bebidas não alcoólicas é caracterizado por um maior consumo de refrigerantes e água, embora se observe o aumento do interesse por produtos naturais (MINIM, 2013).

Figura 4.2 - Avaliação do perfil dos provadores referentes à faixa etária (A), ocupação (B), escolaridade (C), frequência de consumo (D) e preferência por tipo de suco (E). Maringá, PR. Obs.: Médias das safras de 2012 e 2013. Ocasionalmente: até uma vez por semana. Pouco: uma a duas vezes por semana. Moderadamente: duas a quatro vezes por semana. Frequentemente: mais de quatro vezes por semana.



Assim sendo, uma ou duas aplicações de 400 mg L^{-1} de S-ABA antes, durante ou depois do *véraison* não alteram as características físicas das bagas, bem como a massa dos cachos e a concentração de polifenóis. Por outro lado, a aplicação de S-ABA incrementa a concentração de antocianinas totais e as variáveis de cor, tanto nas bagas quanto no suco de uva 'Isabel'. Dessa forma, uma aplicação aos 7DAV ou duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) na uva 'Isabel' podem ser realizadas visando o incremento da cor.

Considerando que uma única aplicação aos 7DAV pode proporcionar os mesmos resultados aos de duas aplicações, sugere-se a adoção desse tratamento, uma vez que os custos com o produto, maquinário e mão de obra podem ser reduzidos.

4.5 CONCLUSÕES

A aplicação de S-ABA incrementa a concentração de antocianinas totais e as variáveis de cor, tanto nas bagas quanto no suco, bem como a aceitabilidade dos sucos na análise sensorial, sem afetar a concentração de polifenóis totais.

Uma aplicação aos 7DAV ou duas aplicações (7DAV + 10DAC, V + 10DAC e 7DDV + 10DAC) de S-ABA 400 mg L⁻¹ proporcionam os melhores resultados no incremento da cor das bagas e dos sucos, e levando-se em consideração os custos envolvidos, sugere-se a aplicação única aos 7DAV.

4.6 REFERÊNCIAS

ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394-400, 2007.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2011. 601p.

BAN, T. et al. Abscisic acid and 2, 4-dichlorohenoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v. 78, p. 586–589, 2003.

BAGGIOLINI, M. Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. **Revue romande d'Agriculture, de Viticulture et d'Arboriculture**, Lausanne, v.8, p.4-6, 1952.

BAILLOD, M.; BAGGIOLINI, M. Les stades repères de la vigne. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture**, Nyon, v.25, n.1, p.7-9, 1993.

BERLI, F. J. et al. Solar UV-B and ABA involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.59, p.4874-4884, 2011.

BORDIGNON-LUIZ et al. Colour stability of anthocyanin from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **Swiss Society of Food Science and Technology**, v.40, p.594-599, 2007.

BORGES, R. S. et al. avaliação sensorial de suco de uva cv. Isabel em cortes com diferentes cultivares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v.especial, p.584-591, 2011.

BORGES, R. S. et al. Phenolic compounds, favorable oxi-redox activity and juice color of 'Concord' grapevine clones. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.161, p.188-192, 2013.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 64p.

CANTÍN, C. M. A.; FIDELIBUS, B. M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at *véraison* advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, p.237-241, 2007.

CLEMENTE, E.; GALLI, D. Stability evaluation of anthocyanin extracted from processed grape residues. **International Journal of Science**, v.2, p.12-18, 2013.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

CRISTOFOLI, B. **Influência do tempo de extração na composição e na razão isotópica 18O/16O da água do suco de uva elaborado pelo método de Arraste de Vapor**. 2007. 26 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, 2007.

DAVIES, C.; BÖTTCHER, C. Hormonal control of grape berry ripening. In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. **Grapevine molecular physiology and biotechnology**. Netherlands: Springer; p.229-261, 2009.

DEIS, I. et al. Water deficit and exogenous ABA significantly affect grape and wine phenolic composition under in field and in-vitro conditions. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.65, p.11-21, 2011.

FERRARA, G. et al. Application of abscisic acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' grape berries in a mediterranean climate: effects on color, chemical characteristics, metabolic profile, and S-ABA concentration, **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.32, p.491-505, 2013.

GAGNÉ, S. ABA initiates anthocyanin production in grape cell cultures. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.30, p1-10, 2011.

GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Villenave d'Ornon, v.44, p.9-15, 2011.

GIUSTI, M. M.; JING, P. natural pigments of berries: Functionality and application. In: ZHAO, Y. **Berry fruit: Value-added products for health promotion**. CRC Press: Boca Raton. 2007. p.105-146.

- HERNANDES, J. L.; MARTINS, F. P. Variedades de uvas para vinho e suco. In: BUENO, S. C. S. et al. **Vinhedo Paulista**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 2010. p.107-129.
- HIRATSUKA, S. et al. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.90, n.1-2, p.121-130, 2001.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ – IAPAR. **Cartas climáticas**. Versão eletrônica, 2010. Disponível em: < <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>> Acesso em: 20 ago. 2014.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Notícias**. Versão eletrônica, abri. 2011. Disponível em: < http://www.ibraevin.org.br/int_noticias.php?id=705&tipo=N >. Acesso em: 2 abr. 2014.
- JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of and the expression of anthocyanin biosynthetic genes berry skins. **Plant Science**, Londres, v.167, p.247-252, 2004.
- KOSHITA, Y. et al. Regulation of skin color in 'Aki Queen' grapes: Interactive effects of temperature, girdling, and leaf shading treatments on coloration and total soluble solids. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v.129, p.98-101, 2011.
- KOYAMA et al. Épocas de aplicação e concentrações de ácido abscísico no incremento da cor da uva 'Isabel'. **Semina**, Londrina, v.35, n.4, p.1697-1706, 2014b.
- KOYAMA et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **Hortscience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460-464, 2014a.
- KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. **Functional and Integrative Genomics**, Lisboa, v.10, p.367-381, 2010.
- LANCASTER, J.E. et al. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**. v.122, p.594-598, 1997.
- LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p.291-297, 2007.
- MACGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, p.1254–1255, 1992.
- MAIA, J. D. G. et al. Novas cultivares brasileiras de uvas para elaboração de suco no semiárido brasileiro: desempenho agrônomo e qualidade do suco. **Circular Técnica**, 96, Bento Gonçalves: Embrapa, 2013. 24p.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.659-664, 2005.

MAMEDE, M. E. O. et al. Avaliação sensorial e colorimétrica de néctar de uva, **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.24, n.1, p.65-72, 2013.

MARZAROTTO, V. Suco de uva. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010. p.359-385.

MASCARENHAS, R. J. et al. Avaliação sensorial de uvas de mesa produzidas no vale do São Francisco e comercializadas em João Pessoa – PE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.4, p.993-1000, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2013. 332.

MORI, K. et al. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. **Vitis**, Santiago, v.44, n.4, p.161-165, 2005.

OWEN S. J. et al. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, n.3, p.277-284, 2009.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W. Effects of Forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of 'Flame Seedless' grapes. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p.173–176, 2008.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W.; DOKOOZLIAN N. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v.82, p.304–310, 2007a.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, p.1440-1445, 2006.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Timing and concentration of abscisic acid applications affect the quality of 'Crimson Seedless' grapes. **International Journal of Fruit Science**, Nova Iorque, v.7, n.4, p.71-83, 2007b.

PONTES, P. R. B. et al. Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.2, p.313-318, 2010.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments**. Inglaterra: John Wiley & Sons, 2006. v. 2. 450p.

RIZZON, L. A.; LINK, M. Composição do suco de uva caseiro de diferentes cultivares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.689-692, 2006.

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

RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G. Colorimetria. In: RIZZON, L. A. **Metodologia para análise de vinho**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p.57-73, 2010.

ROBERTO, S. R. et al. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.

ROBERTO, S. R. et al. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797-800, 2013.

ROBINSON, S. P.; DAVIES, C. Molecular biology of grape berry ripening. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.6, p.175-188, 2000.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v.127, p.174-179, 2011.

SATO, A. J. et al. Evolução da maturação e características físico-químicas de uvas da cultivar Isabel sobre diferentes porta-enxertos na Região Norte do Paraná. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.1, p.11-20, 2009.

SATO, A.J. et al. Fenologia e demanda térmica das videiras Isabel e Rubea sobre diferentes porta-enxertos na região norte do Paraná. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 29, n.2, p.283-292, 2008.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Packer, L., **Methods in Enzymology**, Oxidant and Antioxidants, v. 299. Academic Press, San Diego, p.152–178, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TALMA, S., V. et al. Suco de uva enriquecido com soro: elaboração e aceitabilidade sensorial. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora. v.65, n.373, p.20-24, 2010.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.55, n.4, p.297-304, 2008.

VARGAS, P. N.; HOELZEL, S. C.; ROSA, C. A. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p.11-15, 2008.

VEDANA, M. I. S. et al. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, p.159-165, 2008.

VILLANUEVA, N. D. M. et al. Performance of hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**, Oxford, v.16, n.8, p.691-703, 2005.

5 PHENOLIC COMPOUNDS IN JUICE OF 'ISABEL' GRAPE TREATED WITH ABSCISIC ACID FOR COLOR IMPROVEMENT

5.1 ABSTRACT

ABSTRACT

Isabel grape is the main cultivar used to produce juice in Brazil, which has rusticity and high productivity, but it is deficient in anthocyanins, a pigment responsible for the color. Thus, an alternative is to promote the synthesis of this compound. The aim of this work was to evaluate the phenolic compounds composition in 'Isabel' grape juice treated with abscisic acid (S-ABA). The experiment was conducted in a commercial vineyard located in Maringa, PR, Brazil, during two consecutive seasons (2011 and 2012). The vines were trained in an overhead trellis system and spaced at 4.0 x 1.0 m. The statistical model used was a randomized block design with five replications and four S-ABA treatments at 400 mg L⁻¹: control; S-ABA applied 7 days before *véraison* (DBV) + S-ABA 15 days before harvest (DBH); S-ABA applied in the beginning of *véraison* (BV) + S-ABA 15 DBH and; S-ABA 7 days after *véraison* (DAV) + S-ABA 15 DBH. Phenolic compounds as anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives were evaluated by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. Phenolic compounds means were subjected to analysis of variance and compared using the Student-Newman-Keuls test at 5% probability. S-ABA treatments increased total anthocyanin concentration in juices, as well as the proportion of B-ring tri-substituted anthocyanidins. Regarding total flavonols, differences were only significant in juices obtained in 2012 season. S-ABA treatments did not significantly affect the hydroxycinnamic acid derivatives, flavan-3-ols, resveratrol and antioxidant capacity of juices. Juice from 'Isabel' grapes treated with S-ABA provides an enhancement of total anthocyanin concentration, mainly when grapes are treated before or at the onset of *véraison*.

Key words: *Vitis labrusca*, anthocyanins, polyphenols, plant growth regulator.

5.2 INTRODUCTION

The grape juice production has increased in the last decades in many countries due to consumer interest in healthy products, since grape juice is a rich source of bioactive compounds (IBRAVIN, 2011). In fruits and their products, phenolic compounds are directly related to sensory characteristics such as color and flavor. In addition, many beneficial health effects have been attributed to these compounds present in fruits, vegetables, teas and wines (REBELLO et al., 2013).

In some countries such as United States and Brazil, american grapes (*Vitis labrusca*) are the main cultivars for grape juice processing, and in Brazil cv. Isabel is the most important by presenting tolerance to the main fungal diseases and high yield. However, due to lack of color, it becomes necessary to make a blend with other colored cultivars in order to increase it in juices (SATO et al., 2008; CAMARGO et al., 2010).

Grape skin color development is an important event, biologically and economically. Whereby the depth of color affects the market price, growers must seek for good coloration products (KOSHITA et al. 2011; ROBERTO et al., 2013). The skin color is determined by anthocyanins content and composition, which are flavonoids widely distributed in nature, responsible for most of the colors blue, violet and all shades of red, present in flowers and fruits (ABE et al., 2007; AZUMA et al., 2009).

Polyphenol composition is affected by vintage, grape cultivar, aging, environmental, physiological and chemical factors such as temperature, light, rainfall, soil, chemicals and plant growth regulators. Various agronomic strategies have been employed to enhance the biosynthesis of phenolic compounds in fruits and vegetables, and one strategy is abscisic acid (ABA) application, a plant growth regulator involved in different physiological processes, including color development (CASTELLARIN et al., 2012; GOLLÜCKE et al., 2009; PINTO et al., 2011; SANDHU et al., 2011; TREUTTER, 2010).

On grapes, the accumulation of anthocyanins begins at *véraison*, the onset of ripening, and seems to be regulated, at least partially, by ABA (BAN et al., 2003; JEONG et al. 2004; HIRATSUKA et al., 2001; OWEN et al., 2009). Many studies have demonstrated that exogenous application of an isomer of this plant growth

regulator, (*S*)-*cis*-abscisic acid (*S*-ABA), increases anthocyanin concentration in grape skin (CANTÍN et al., 2007; PEPPI; FIDELIBUS, 2008; PEPPI et al., 2006, 2007a,b, 2008; WHEELER et al., 2009; KOYAMA et al., 2014; GARDIN et al., 2012). However, the grape cultivar, as well as the application timing, can modify the effect of this growth regulator in grapes (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006, 2007a, 2007b; GIRIBALDI, HARTUNG; SCHUBERT, 2011).

The aim of this study was to identify and quantify the phenolic compounds present in grape juice of 'Isabel' grapes treated with *S*-ABA, in order to increase pigments concentration by HPLC–DAD–ESI-MS/MS technique. Phenolic compounds studies comprise anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives.

5.3 MATERIAL AND METHODS

5.3.1 Chemicals

All solvents were of HPLC quality, all chemicals were of analytical grade (>99%), using ultrapure water. Commercial standards of malvidin 3-glucoside, malvidin 3,5-diglucoside, peonidin 3,5-diglucoside, caffeic acid, *p*-coumaric acid, *trans*-caftaric acid, *trans*-piceid, (-)-epigallocatechin, and (-)-gallocatechin were purchase from Phytolab (Vestenbergsgreuth, Germany). Cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, procyanidins B1 and B2, kaempferol, quercetin, isorhamnetin, myricetin, syringetin, and the 3-glucosides of kaempferol, quercetin, isorhamnetin, and syringetin were from Extrasynthese (Genay, France). Gallic acid, *trans*-resveratrol, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin 3-gallate, and (-)-gallocatechin 3-gallate were from Sigma (Tres Cantos, Madrid, Spain). Some other non-commercial flavonol standards (myricetin 3-glucoside, quercetin 3-glucuronide, and laricitrin 3-glucoside) were previously isolated from 'Petit Verdot' grape skins (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Finally, a sample of procyanidin B4 was kindly supplied by Prof. Fernando Zamora (Department of Biochemistry and Biotechnology, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain). The *trans* isomers of resveratrol and its 3-glucoside (piceid) were transformed into their respective *cis* isomers by UV-irradiation by 366 nm light during 5 minutes in quartz cell of 25% MeOH solutions of the *trans* isomers.

All standards were used for identification. Quantitation (mg kg^{-1} of grape) was done as equivalents of the most representative compounds for each family of phenolic compounds: malvidin 3,5-diglucoside was used for anthocyanidin 3,5-diglucosides; malvidin 3-monoglicoside for antochyanidin 3-monoglicoside; caffeic acid for hydroxycinnamic acid derivatives; quercetin 3-glucoside for flavonol 3-glycosides and their free aglycones; (+)-catechin for polymeric flavan-3-ols (total proanthocyanidins); individual flavan-3-ol monomers and dimers by their corresponding standards, but their total sum as (+)-catechin equivalents.

5.3.2 Grape Treatments and Preparation of Juices

The field trial was conducted in a 11-year-old commercial vineyard of own-rooted 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.) belonging to Intervin[®] Winery, located in Maringá, state of Paraná, Brazil ($23^{\circ} 25' \text{ S}$, $51^{\circ} 57' \text{ W}$, altitude 542 m). According to the Köppen classification, the region climate is type Cfa, i.e., subtropical climate with an average temperature in the coldest month below 18°C and average temperature in the warmest month above 22°C . The average annual rainfall is of 1,596 mm, with a tendency of concentrated rainfall in the summer months.

The vines were trained on overhead trellises and spaced 4.0 x 1.0 m apart. Fruit pruning was performed to leave 2-3 buds per spur. Subsequently, 5% hydrogen cyanamide was applied to the buds to induce and standardize sprouting.

It was evaluated the effect of S-ABA applied to grapes at different stages of ripening, was evaluated during two consecutive crop years (regular season in December 2011, D11; and out of season in May 2012, M12). S-ABA, at an active concentration of 100 g L^{-1} , was supplied by Valent BioSciences Corporation[®] (Libertyville, IL).

The following treatments were tested:

- a. Control (C), in which no S-ABA was applied;
- b. S-ABA 400 mg L^{-1} applied 7 days before *véraison* (BV) + S-ABA 400 mg L^{-1} at 15 days before harvest (DBH);
- c. S-ABA 400 mg L^{-1} applied at *véraison* (V) + S-ABA 400 mg L^{-1} at 15 DBH;
- d. S-ABA 400 mg L^{-1} applied 7 days after *véraison* (AV) + S-ABA 400 mg L^{-1} at 15 DBH.

Experimental design applied was randomized blocks with four treatments and five replicates, with five vines per plot.

For treatment applications, clusters were sprayed in the morning using a knapsack sprayer at a pressure of 568.93 psi (39.22 bar) with JA1 hollow cone nozzle tips at a volume of 800 L ha⁻¹ to provide complete and uniform coverage. In addition, 0.3 mL L⁻¹ of Break Thru[®] (Evonik Industries, Germany) non-ionic surfactant was added to all treatments.

During the trials, the standard regional cultivation practices with regard to nutrition, weed control and pest and disease management were used. For each season, the harvest was determined when total soluble solids (TSS) content reached around 16°Brix.

Whole grape juices from treatment plots were produced by the Welch process (not from concentrate grape juice), which consists of extracting the juice by steam entrainment using a stainless steel extraction pot with a 7-kg capacity (Hauber Macanuda[®], PSM-07 CF) without any added enzyme (BORGES et al., 2013). For this extraction, a sample of 4 kg of clusters from each plot was used, producing an average of 2 L of whole juice. At first, the bottom section of the steamer juicer pot was filled with water and the heat was turned on high. Washed grape samples (4 kg) were placed in the top section of the steamer and the basket was filled all the way to the top, and the lid was put on. After 45 min, all grape juice was drained into the middle section of the steamer and then bottled at warm temperature (75°C) into 1L capacity sterilized polyethylene containers with lids. After cooling, juice bottles were stored in the refrigerator at 4°C for further anthocyanin and polyphenol analyses.

5.3.3 Spectrophotometric Measurements

5.3.3.1 Sample preparation for HPLC analysis

Juice samples of each treatment were prior prepared as follows in order to facilitate the transportation to the Laboratory of Analytical Chemistry and Food Technology, Castilla-La Mancha University, Ciudad Real, Spain. To eliminate the sugars and other polar substances of the juice samples, an extraction was performed in solid phase (SPE) with Bond Elut C18 cartridges (500mg, 3ml; Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The samples were diluted at 50% with acid water

(3 mL of juice + 3 mL of HCl 0.1 mol L⁻¹) and then it were followed the procedure: cartridges were prepared passing 5 mL of methanol and 5 mL of water; the samples were then passed discarding the eluate; the cartridges were washed with 5 mL of HCl 0.1N and 5 mL of water, discarding the eluate; the adsorbed phenolic compound were recovered passing 3 x 5 mL of methanol. These steps were done for 15 mL of each sample and then it was dried in a rotary evaporator.

Dried samples were re-dissolved in 10 mL of 0.1 mol L⁻¹, then 500 µL of the sample was added in 500 µL of 0.1 mol L⁻¹ and injected onto the HPLC system for anthocyanin determination.

The necessary extraction steps for quantitative extraction of phenolic compound from the juice samples were determined by chromatographic analysis of up to five successive extraction steps.

Bond Elute Plexa PCX cartridges (200 mg, 6 mL; Agilent Technologies, Santa Clara, USA) allowed the isolation of non-anthocyanin phenolic compounds from juices extracts, and these anthocyanin-free fractions were used to analyze flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives. To carry out this step, 1.5 mL of juice extracts were diluted with 1.5 mL of HCl 0.1 mol L⁻¹, and the prepared samples were then passed through the SPE cartridges that had been previously conditioned with 5 mL of methanol and 5 mL of water. After the cartridges were washed with 5 mL of HCl 0.1 N acid and 5 mL of water, the anthocyanin-free fraction was eluted with 3 × 5 mL of methanol. This eluate was dried in a rotary evaporator (35°C) and re-dissolved in 1.5 mL of 20 % methanol in water and directly injected onto the HPLC equipment.

Finally, the flavan-3-ols (monomers, B-type dimers, and polymeric proanthocyanidins) and stilbenes were isolated from juices extracts using SPE on C18 cartridges (Sep-pak Plus C18, Waters Corp., Mildford, MA; cartridges filled with 820 mg of adsorbent). A mixture of 2 mL of each extract with 6 mL of water was then passed through the C18 cartridge, which had been previously conditioned with methanol (5 mL) and water (5 mL). After, the cartridge was dried under reduced pressure, methanol (15 mL) and ethyl acetate (5 mL) were added in order to recover adsorbed phenolics. Solvent was evaporated in a rotary evaporator (35°C) and residue was dissolved in methanol (2 mL) and stored at -18°C until needed.

5.3.3.2 HPLC-DAD-ESI-MSⁿ identification and quantitation of anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives in 'Isabel' grape juice

Anthocyanins and non-anthocyanin phenolic compounds from juices, namely flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD), were separately analyzed after adaptation of previously described methods to the use of narrow bore, smaller particle size, chromatography columns (REBELLO et al., 2013). For anthocyanins analysis, 10 μL of diluted extracts was injected, whereas 20 μL of anthocyanin-free extract fractions were used for non-anthocyanin phenolics analysis.

Injections were made after filtration (0.20 μm , polyester membrane, Chromafil PET 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) on a reversed-phase column Zorbax Eclipse XDB-C18 (2.1 \times 150 mm; 3.5 μm particle; Agilent, Germany), thermostated at 40°C. Flow rate was 0.19 mL min⁻¹. Eluent were mobile phase solvent A (acetonitrile/water/formic acid, 3:88.5:8.5, v/v/v), B (acetonitrile/water/formic acid, 50:41.5:8.5, v/v/v), and C (methanol/water/formic acid, 90:1.5:8.5, v/v/v). The linear solvents gradient for anthocyanin analysis was: zero min, 94% A and 6% B; 10 min, 70% A and 30% B; 30 min, 50% A and 50% B; 34 min, 100 % B; 36 min, 100 % B; 42 min, 96 % A and 4 % B; 50 min, 96% A and 4% B. The linear solvents gradient for non-anthocyanin analysis was: zero min, 98% A and 2% B; 8 min, 96% A and 4% B; 37 min, 70% A, 17% B and 13% C; 51 min, 50% A, 30 % B and 20% C; 51.5 min, 30% A, 40% B and 30% C; 56 min, 50% B and 50% C; 57 min, 50 % B and 50% C; 64 min, 96 % A and 4% B.

For identification, Ion Trap ESI-MS/MS detector was used in both positive (anthocyanins) and negative (flavonols and HCAD) ion modes, setting the following parameters: dry gas, N₂, 8 L min⁻¹; drying temperature, 325°C; nebulizer, N₂, 50 psi; ionization and fragmentation parameters were optimized by direct infusion of appropriate standard solutions (malvidin 3,5-diglucoside in positive ionization mode; quercetin 3-glucoside and caftaric acid in negative ionization mode); scan range, 50-1200 m/z.

Identification was mainly based on spectroscopic data (UV-Vis and MS/MS) obtained from authentic standards or previously reported (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; LAGO-VANZELA et al., 2011a; CEJUDO-BASTANTE et al., 2011; BLANCO-VEGA et al., 2014). For quantitation, DAD-chromatograms were extracted at 520 (anthocyanins), 360 (flavonols) and 320

nm (hydroxycinnamic acid derivatives). In the case of overlapping DAD peaks, quantitation was made with the help of extracted ion chromatograms at the m/z values of each overlapping compound: the EIC integral value was used for an estimation of contribution of each overlapping compound to the joint DAD peak.

5.3.3.3 Identification and quantitation of flavan-3-ols and stilbenes in 'Isabel' grape juice using multiple reaction monitoring HPLC-ESI-MS/MS

For flavan-3-ol monomers and B-type dimer procyanidins and stilbenes analysis from juice, 0.30 mL of the SPE-C18 extract was diluted with 1.5 mL of water: formic acid (98.5:1.5) in a chromatographic vial that was sealed, and injected into HPLC system.

The structural information of proanthocyanidins was obtained following the acid-catalyzed depolymerization induced by pyrogallol method (REBELLO et al., 2013). Thus, 0.30 mL of pyrogallol reagent solution (100 g L⁻¹ of pyrogallol and 20 g L⁻¹ ascorbic acid in methanolic 0.3 mol L⁻¹ HCl) was added to 0.30 mL of SPE-C18 extract, and the mixture was then maintained at 30°C for 40 min. After the reaction was finalized with the addition of 1.20 mL of 67 mmol L⁻¹ sodium acetate and 2 mL water and injected.

The analysis was performed using an Agilent 1200 series system equipped with DAD (Agilent, Germany), and coupled to an AB Sciex 3200 Q TRAP (Applied Biosystems) electrospray ionization mass spectrometry system (ESI-MS/MS). The chromatographic system was managed by the Agilent Chem Station (version B.01.03) data-processing station. The mass spectra data was processed with the Analyst MSD software (Applied Biosystems, version 1.5). The samples (before and after acid-catalyzed depolymerization reaction) were injected (30 µL) on a reversed-phase column Agilent Eclipse XDB-C18 (2.1 × 150 mm; 3.5 µm particle; Agilent, Germany), thermostated at 16°C. The solvents used were water/methanol/formic acid (97:2:1, v/v/v, solvent A) and methanol (solvent B), and the flow rate was 0.1 mL min⁻¹. The linear gradient for solvent B was as follows: 0 min, 5%; 2 min, 5%; 25 min, 30%; 40 min, 55%; 50 min, 65%; 55 min, 95%; 65 min, 95%; 70 min, 5%; 80 min, 5%. Two MS scan types were used: enhanced MS (EMS) for compound identification; and multiple reaction monitoring (MRM) for quantification. MS conditions for both scan types were: ion spray voltage, -4000 V; ion source

temperature, 500°C; collision gas, high; curtain gas, 15 psi; ion source gas 1, 50 (arbitrary units); ion source gas 2, 50 (arbitrary units); declustering potential, -35 V; entrance potential, -10 V; collision energy, -30 V; collision cell exit potential, -3 V. Data of initial concentrations of flavan-3-ol monomers, obtained before depolymerization reaction, was used for correction of the concentrations of released flavan-3-ol monomers (terminal subunits of polymeric proanthocyanidins) during the depolymerization reaction of proanthocyanidins.

For identification and quantitation of diverse flavan-3-ols and stilbenes we used monomers standards of: (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-gallocatechin, and (-)-epicatechin 3-gallate; dimers of procyanidins B1, B2 and B4; and the *trans* and *cis* isomers of resveratrol and its 3-glucoside (piceid). Total polymeric proanthocyanidins content was also quantitated as equivalents of (+)-catechin, and their structural features were characterized (molar percentage of extension and terminal subunits; mean degree of polymerization, mDP; molar percentage of galloylation; and molar percentage of prodelfinidins). We followed a previously developed method based on the use of the EMS (enhanced mass spectrum; MS conditions) scan mode for identification, MRM (multiple reaction monitoring; MS/MS conditions) scan mode for quantitation, (+)-catechin as external standard, and acid-catalyzed depolymerization induced by pyrogallol for structural characterization of proanthocyanidins (LAGO-VANZELA et al., 2011a; 2011b). The identification and quantitation of stilbenes (*trans* and *cis* isomers of resveratrol and piceid) was made from the extracted ion chromatograms obtained by MRM after selection of the following characteristic *m/z* transitions: 389-227 for piceid isomers; and 227-185 for resveratrol isomers.

5.3.4 Determination of Anthocyanins in 'Isabel' Grape Juice by Sodium Bisulphite Discoloration Method

Anthocyanins were also measured by sodium bisulphite discoloration method (RIBÉREAU-GAYON et al., 1972), as follows: Tube 1: Samples (0,5 mL) were mixture with 0,5 mL of HCl 0,1% in etanol and 10 mL of HCl 2%; Tube 2: 5 mL of tube 1 were added in 2 mL of distilled water; Tube 3: 5 mL of tube 1 were added in 2 mL of sodium metabisulphite; Tube 4: 5 mL of tube 2 were added in 5 mL of distilled water; Tube 5: 5 mL of tube 3 were added in 5 mL of distilled water. After

15 minutes of reaction the samples of tubes 4 and 5 were evaluated in spectrophotometer at 520 nm.

5.3.5 Determination of Antioxidant Capacity of 'Isabel' Grape Juice by DPPH

Samples were diluted (1:10; v/v) with methanol (Fmaia, Brazil), and for each 100 μ L of this dilutions were added 2.9 mL of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma, Saint Louis, EUA) radical methanolic solution (6×10^{-5} mol L⁻¹). After 25 minutes, the percentage of reduction of absorbance at 515 nm were measured and quantified, using the spectrophotometry UVmini-1240 (Shimadzu, Kyoto, Japan) and acrylic cuvette (10 mm) (Plastibrand, Germany). The results were calculated using Trolox (Sigma, Saint Louis, USA) as a standard of equivalent of antioxidant activity, which were used to quantify the analytical calibration curve of 0.1116; 0.2232; 0.3348; 0.4464 and 0.558 mmol L⁻¹.

5.3.6 Statistical analysis

Means results for phenolic composition were subjected to analysis of variance and compared using the Student-Newman-Keuls test at 5% probability. Control means were compared between seasons D11 and M12, using Student's "t" test at 5%.

5.4 RESULTS AND DISCUSSION

5.4.1 Anthocyanins in Juices of 'Isabel' Grapes Treated with S-ABA

The main expected result following the application of S-ABA was the increase in anthocyanin concentration of grapes that will be transferred to grape juices. Thus, the treatments in which S-ABA was applied before and at the beginning of *véraison* (BV and V, respectively) gave rise to grape juices containing significantly higher total contents of anthocyanins than the control juices in the two studied seasons (regular season of December 2011, D11; and out of season of May 2012, M12). However, S-ABA application after *véraison* (AV) only increased significantly the anthocyanins concentration in M12 season (Table 5.1). In general, grape juices

obtained in D11 accounted for significantly lesser total anthocyanin content (spectrophotometric determination) than in M12, 103 and 141 mg L⁻¹ (as malvidin 3-glucoside equivalents) respectively, and most anthocyanins occurred in monomeric forms (80-90% of total anthocyanins were bleached by bisulfite). However, the effect of S-ABA on total anthocyanins increase in grape juices showed differences according to treatment timing application on grapes: V treatment led to significant increases of around 73% in both harvests (D11 and M12); BV treatment significantly increased by 42% in D11 and 74% in M12; and AV treatment did not significantly increase in D11, but significantly increased by 53% in M12.

Whole grape juices obtained by steam extraction in stainless steel pot may have the initial disadvantage of promoting some thermal degradation of anthocyanins (LAGO-VANZELA et al., 2014), but it can also promote the formation of anthocyanin-derived pigments with higher stability, like pyranoanthocyanins and polymeric tannin-anthocyanin adducts, formed by direct reaction or mediated by acetaldehyde (CHEYNIER et al., 2006; BLANCO-VEGA et al., 2011; WEBER; WINTERHALTER, 2014). Total anthocyanin-derived pigments concentration were estimated by spectrophotometric measurement of non-bleached anthocyanin by bisulfite. Their content being parallel to concentration of total anthocyanins, being around 10-20% of them, although significant differences were only observed in the case of grape juices produced in D11. The formation of vitisin-like pyranoanthocyanins, mainly vitisin A formed from pyruvic acid that could be generated by yeast activity during the initial steps of juice extraction, was also parallel to total anthocyanins content. In contrast, the formation of hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins like pinotin A, requires the previous release of caffeic acid by chemical hydrolysis of caftaric acid, and was observed in lesser extent that was not significantly different among treated and control grape juices in both harvests.

Table 5.1 - Composition of anthocyanins and anthocyanin-derived pigments in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV, treatment applied 7 days before *vérasion*; V, treatment applied at the beginning of *vérasion*; AV, treatment applied 7 days after *vérasion*), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of May 2012 (M12).

<i>Anthocyanin concentrations</i>	C-D11	BV-D11	V-D11	AV-D11	C-M12	BV-M12	V-M12	AV-M12
Total anthocyanins (mg/L) ¹	102, a 90 *	179 b ,41	176 b ,58	120 a ,55	140 A ,83 **	199 B ,69	245 B ,09	216 B ,04
Bleached anthocyanins ¹	91,1 a 2 *	152 b ,16	151 b ,73	93, a 09	125 A ,35 **	182 B ,68	228 B ,14	197 B ,94
Non-bleached anthocyanins ¹	11,7 a 7	27, b 25	24, b 85	27, b 47	15, 48	17, 00	16, 95	18, 09
Total 3-glucosides (HPLC) ¹	50,8 a 6 *	78, b 53	79, b 89	43, a 70	75, A 70 **	103 B ,85	126 B ,05	117 B ,22
Total 3,5-diglucosides (HPLC) ²	9,12 a	24, b 82	23, b 13	11, a 96	8,9 A 8	17, B 77	21, B 04	17, B 28
<i>Anthocyanin profiles (%)³</i>								
dp-3-glc	5,47	5,6 3	5,0 0	2,9 4	7,3 2	7,2 8	8,0 7	8,9 1
cy-3-glc	2,93 b	2,0 a 1	1,6 a 1	1,7 a 5	3,1 B 1	1,6 A 1	1,6 A 7	2,1 A 2
pt-3-glc	6,20 b	4,7 a 4	4,2 a 0	3,8 a 1	6,9 A 2	7,9 B 3	7,8 B 4	8,7 B 2
pn-3-glc	13,8 b 2	8,2 a 3	7,6 a 2	8,6 a 4	13, B 96	7,6 A 2	7,9 A 2	9,1 A 3
mv-3-glc	40,4 b 9 *	36, a 92	38, a 79 b	39, b 50	36, A 74 *	38, A 38 B	38, B 56	37, A 87 B
dp-3-acglc	0,13	0,1 2	0,1 4	0,1 5	0,1 3	0,1 3	0,1 8	0,2 3
pt-3-acglc	0,14	0,1 0	0,1 7	0,1 3	0,1 B 4	0,0 A 7	0,0 A 9	0,0 A 9
pn-3-acglc	0,20	0,2 1	0,1 8	0,2 2	0,1 B 7	0,1 A 1	0,1 A 0	0,1 A 1
mv-3-acglc	0,57	1,0 2	1,1 1	1,1 2	0,5 C 9	0,5 C 5	0,5 B 4	0,2 A 7
dp-3-cmglc	0,90 *	1,0 9	1,5 7	1,2 9	2,0 A 8 **	2,4 B 4	2,9 B 1	2,9 B 0
cy-3-cmglc	1,19 a	1,3 b 2	1,2 b 4	1,5 b 1	1,4 A 1	1,4 B 9	1,4 A 0 B	1,4 A 0
pt-3-cmglc	1,29 *	1,6 6	1,9 7	1,8 4	2,0 A 8 **	2,6 B 9	2,4 B 4	2,5 B 9
pn-3-cis-cmglc	0,30	0,4 3	0,4 8	0,5 5	0,5 0	0,5 0	0,8 6	0,6 3
pn-3-trans-cmglc	4,17 b	3,3 a 9	2,9 a 8	3,7 a 7 b	4,2 B 7	2,7 A 1	2,7 A 5	2,8 A 3
mv-3-cis-cmglc	0,51	0,6 5	0,5 6	0,6 7	0,7 B 8	0,7 B 6	0,5 A 2	0,6 A 0
mv-3-trans-cmglc	8,58 a	11, b 49	12, b 74	13, b 32	10, A 81	12, B 80	11, A 87 B	10, A 62

Cont...
...Cont

pn-3,5-diglc	3,2 1 *	3,8 2	3,4 0	4,1 3	2,2 7 *	2,5 2	2,2 0	2,1 9
mv-3,5-diglc	8,7 8 *	15, 37 *	14, 77	13, 01	5,9 6 *	A 1	B 4	8,8 5
mv-3-glc-5- <i>cis</i> -cmglc	0,2 8	0,2 0	0,1 5	0,1 7	0,1 0	0,1 7	0,1 4	0,1 2
pn-3-glc-5-cmglc	0,3 8	0,5 5	0,3 3	0,5 2	0,2 7	0,3 6	0,2 7	0,3 8
mv-3-glc-5- <i>trans</i> -cmglc	0,4 6	1,0 7	0,9 8	0,9 3	0,3 9	0,8 9	0,8 2	0,5 4
non-acylated	80, 90	b 71	76, a 39	75, a 79	73, a 27	76, 74, 35	75, 12	76, 71
acylated	1,0 3	1,4 5	1,6 1	1,6 2	1,0 4	B 5	A 1	0,9 9
<i>p</i> -coumaroylated	18, 06 *	a 84	21, b 00	23, b 59	24, b 70 *	22, * 80	24, 23, 97	22, 61
B-ring di-substituted	26, 20	b 96	19, a 85	17, a 10	21, a 95	25, B 91	16, A 17	17, A 78
B-ring tri-substituted	73, 80	a 05	80, b 15	82, b 90	78, b 05	74, A 09	83, B 83	82, E 22
Ratio (%) glc/diglc	6,6 3 *	b 6	3,7 a 9	4,0 a 3	4,3 a 13 *	10, B 3	6,7 A 4	7,1 A 0
<i>Anthocyanin-derived pigments (mg L⁻¹)⁴</i>								
vitisin A	1,5 0	a 8	2,7 b 9	2,9 b 5	2,1 a b	1,7 A 2	2,2 B 8	2,9 C 4
cm-vitisin A ⁵	0,4 3	0,9 0	1,0 9	0,6 5	0,7 2	0,7 6	0,9 6	0,6 7
vitisin B ⁵	0,3 2	0,0 9	0,5 5	0,0 0	0,3 9	0,0 0	0,0 0	0,0 0
pinotin A	0,1 8	0,4 8	0,4 5	0,3 1	0,1 7	0,3 9	0,2 2	0,2 6
pn-3-glc-ethyl-(E)C ¹	0,0 7	0,0 7	0,0 9	0,0 6	0,1 3	0,1 4	0,1 6	0,1 5
mv-3-glc-ethyl-(E)C-1 ¹	0,0 6	0,0 5	0,0 6	0,0 5	0,1 0	0,0 8	0,0 8	0,0 8
mv-3-glc-ethyl-(E)C-2 ¹	0,0 6	0,0 7	0,0 7	0,0 5	0,0 9	0,0 7	0,1 0	0,0 9
mv-3-cmglc-ethyl-(E)C ¹	0,0 9	0,1 2	0,1 4	0,0 9	0,1 8	0,1 6	0,1 9	0,1 6

¹ As equivalents of malvidin 3-glucoside.

² As equivalents of malvidin 3,5-diglucoside.

³ Percentage area of individual anthocyanins with regard to the total peak area (DAD-chromatogram at 520 nm). Abbreviations: dp, delphinidin; cy, cyanidin; pt, petunidin; pn, peonidin; mv, malvidin; 3-glc, 3-glucoside; 3-acglc, 3-(6"-O-acetyl)-glucoside; 3-cmglc, 3-(6"-O-*p*-coumaroyl)-glucoside; 3,5-diglc, 3,5-diglucoside; (E)C, (epi)catechin.

⁴ Analyzed by HPLC.

⁵ As equivalents of vitisin A.

(a,b) Different low case letters means significant differences among juices from harvest D11, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(A-C) Different capital letters means significant differences among juices from harvest M12, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(*,**) Asterisks indicates significant differences (Student's "t" test, $\alpha = 0.05$) between the control grape juices of harvests D11 and M12.

The anthocyanins identified in grape juices elaborated from 'Isabel' grapes were in agreement with previous findings (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2010) and resembled those of other hybrid grape cultivars (LAGO-VANZELA et al., 2011b; REBELLO et al., 2013). The main type of anthocyanins found was anthocyanidin 3-glucosides (Table 5.1 and Figure 5.1), the most important being derived from malvidin followed by other common grape anthocyanidins (delphinidin, cyanidin, petunidin and peonidin). The 6''-O-acetyl and 6''-O-*p*-coumaroyl derivatives of anthocyanidin 3-glucosides were also identified, together with some anthocyanin-derived pigments, very likely formed during the first steps of juice extraction with the help of yeast activity and heating (Figure 5.2): the pyranoanthocyanins vitisins A and B, the *p*-coumaroyl derivative of vitisin A, and pinotin A (BLANCO-VEGA et al., 2011); and the acetaldehyde mediated (ethyliden linking bridge) isomeric adducts formed between anthocyanidin 3-glucosides and catechin or epicatechin (CEJUDO-BASTANTE et al., 2011; BLANCO-VEGA et al., 2014).

As 'Isabel' is an hybrid grape cultivar (*V. vinifera* × *V. labrusca*), the occurrence of anthocyanidin 3,5-diglucosides is expected, and the 3,5-diglucosides of peonidin and malvidin were identified, together with their respective 3-(6''-O-*p*-coumaroyl) derivatives. The anthocyanin profile (molar percentage of each individual anthocyanin with regards to their total content) is considered a chemotaxonomic characteristic for grape varieties which is transferred to the products elaborated from them, like wines or grape juices (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ; GARCÍA-ROMERO, 2004). However, it is also known that some external factors during berry ripening, or the complex equilibria that can be involved in anthocyanins extraction during grape juice elaboration, could introduce some modifications in the characteristic anthocyanin profile of a determined grape cultivar and the products elaborated from it. Thus, anthocyanin profile of 'Isabel' grape juices, elaborated from control grapes, was initially affected by the differences in berry ripening conditions developed in different harvests (Figures 5.1.A and 5.1.C; Table 5.1).

The C-D11 grape juices showed significantly lower content of anthocyanins than the C-M12 ones, mainly due to a significant lower content of anthocyanidin 3-glucosides (50.86 vs. 75.80 mg kg⁻¹, as malvidin 3-glucoside equivalent), although 3,5-diglucosides anthocyanidin content was similar (9.12 vs. 8.98 mg kg⁻¹, as malvidin 3,5-diglucoside equivalents), thus resulting in also significantly lower molar ratio of mono- to diglucosides (glc/diglc). Consequently, the contribution of 3,5-

diglucosides of peonidin and malvidin to the anthocyanin profile was significantly higher in C-D11 juices. Regarding the contribution of anthocyanidin 3-glucosides to the anthocyanin profile, the main compound, malvidin 3-glucoside, significantly increased its molar percentage and only the *p*-coumaroylated derivatives from delphinidin and petunidin 3-glucosides really experimented significant decreases in their molar percentages.

In summary, the effect of S-ABA on the anthocyanin composition of 'Isabel' grape juices were mainly an increase of total anthocyanin concentration, together with the increase of the proportion B-ring tri-substituted anthocyanidins and that of 3,5-diglucosides. In addition, in the case of juices with lower content in total anthocyanins, those of harvest D11, the treatment contributed to increase the contribution of *p*-coumaroylated anthocyanin 3-glucosides. The aforementioned effects can be considered as contributing to color quality of 'Isabel' grape juices, not only for an enhancement of color intensity but also for the higher stability of *p*-coumaroylated anthocyanins compared to the non-acylated ones, because they can be involved in both intra- and intermolecular copigmentation complexes (MALIEN-AUBERT et al., 2001).

Figure 5.1 - Chromatographic anthocyanin profiles (detection at 520 nm) of the juices obtained from 'Isabel' grapes. A) C-D11, control grape juice from the regular season harvest (December, 2011); enlargement of the chromatographic zone where minor compounds elute. B) C-M12, control grape juice from the out of season harvest (May, 2012). C) Comparison among the chromatographic anthocyanin profiles obtained for grape juices elaborated in the harvest D11 and corresponding to control grapes (C-D11) and grapes treated with the growth regulator S-ABA at different berry development steps: 7 days before *véraison* (BV-D11), at the beginning of *véraison* (V-D11), and 7 days after *véraison* (AV-D11). Anthocyanin abbreviations: dp, delphinidin; cy, cyanidin; pt, petunidin; pn, peonidin; mv, malvidin; 3-glc, 3-glucoside; 3-acglc, 3-(6''-O-acetyl)-glucoside; 3-cmglc, 3-(6''-O-*p*-coumaroyl)-glucoside; 3,5-diglc, 3,5-diglucoside; (E)C, (epi)catechin.

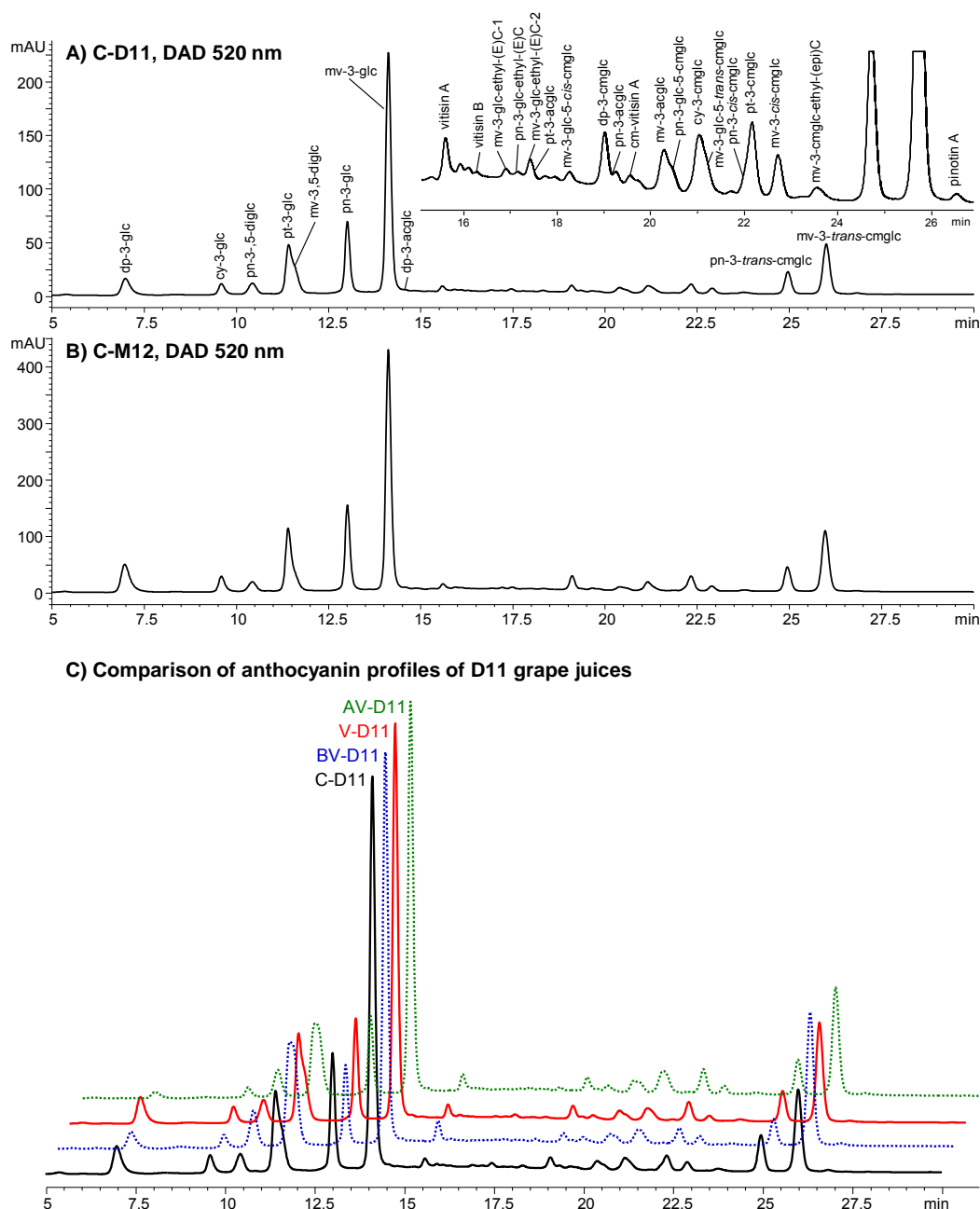
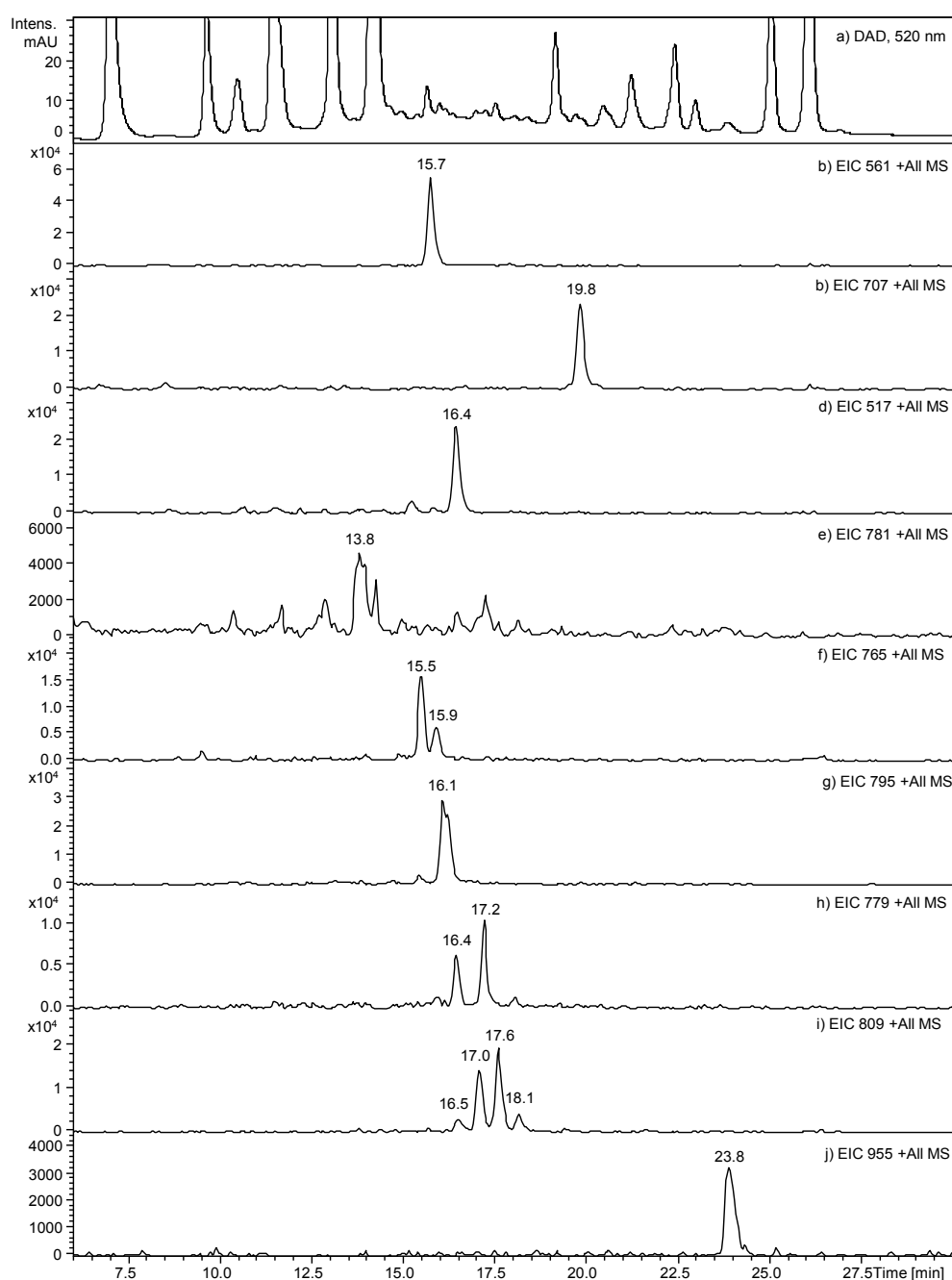


Figure 5.2 - Identification of anthocyanin-derived pigments in 'Isabel' grape juice obtained from control grapes in the regular harvest of December, 2011 (C-D11): a) enlargement of the DAD-chromatogram (detection at 520 nm) corresponding to the elution zone of these minor compounds; b) Extracted Ion Chromatogram (EIC) at the m/z value expected for vitisin A; c) EIC at the m/z value expected for the p -coumaroyl derivative of vitisin A; d) EIC at the m/z value expected for vitisin B; e-i) EIC at the m/z value expected for the possible isomers of adducts formed between 3-glucosides of anthocyanidins (delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin, respectively) and (epi)catechin, linked by an ethyliden bridge; j) EIC at the m/z value expected for the possible isomers of adducts formed between the p -coumaroyl derivative of malvidin 3-glucoside and (epi)catechin, linked by a ethyliden bridge.



5.4.2 Non-anthocyanin Phenolic Compounds in Juices of 'Isabel' Grapes Treated with S-ABA

Flavonols are interesting flavonoids occurring in grape skins. They are the best copigments found in grapes and derived products like grape juice and wine, thus contributing to color enhancement and stability, and also show great antioxidant capacity. Their biosynthesis is greatly influenced by external factors like light exposure and also by the ripening degree (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007). The flavonols identified in 'Isabel' grape juices were in agreement with previous results reported for 'Isabel' wines (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010) and many other grape cultivars and their wines (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007, 2009; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011), and comprised both 3-glycosides and their corresponding free aglycones (Table 5.2).

Total content of flavonols in the control grape juices of harvest D11 was significantly higher than those of harvest M12 (63.71 vs. 22.87 mg L⁻¹, as quercetin 3-glucoside equivalents). The flavonol profiles, calculated on the basis of aglycone-type proportions due to the observed hydrolysis of flavonol 3-glycosides, also differed for the control grape juices according to the harvest: C-D11 juices accounted for the highest percentages of quercetin- and isorhamnetin-type flavonols, whereas C-M12 juices showed the highest percentages of myricetin-, laricitrin-, and syringetin-type flavonols. Grape juices obtained from grapes treated with S-ABA showed higher content in total flavonols, although these differences were only significant in the case of juices from harvest M12. As also observed for anthocyanins, the treatment induced a significant increase of the proportions of B-ring tri-substituted flavonols (those based on myricetin, laricitrin and syringetin) and the subsequent lower proportions of the di-substituted structures, especially those based on quercetin.

Hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) are also interesting phenolic compounds involved in copigmentation complexes, the formation of hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins and also oxidation reactions (browning reactions). The expected hydroxycinnamoyl-tartaric acids derived from caffeic and p-coumaric acids were identified in 'Isabel' grape juices (Table 5.2). The total content of HCAD did not significantly differ between the control grape juices from harvests D11 and M12 and only a significant higher proportion of caftaric acid in C-M12 was noted. The

treatments with S-ABA did not significantly affect the qualitative and quantitative composition of the HCAD of the control grape juices.

Regarding flavan-3-ols, it is expected a low solubility of this kind of flavonoids in grape juice. Moreover, the extraction conditions could have promoted the reaction of such kind of compounds with anthocyanins, as already highlighted in the results commented about non-bleached anthocyanins. Low amounts of flavan-3-ol monomers and dimers could be detected in 'Isabel' grape juices, being catechin the main compound (Table 5.3) and did not present significant differences in the qualitative and quantitative composition between harvests. The treatment with S-ABA had little effect on the total content of flavan-3-ols and only a significant decrease was observed in the harvest of D11 that mainly affected to minor components.

Trans-resveratrol is the focus of research because of its beneficial properties. However, *trans*-resveratrol mainly occurs in grapes as 3-glucoside and can be also found as the *cis* isomer. In 'Isabel' grape juices, the *trans* and *cis* isomers of the 3-glucoside of resveratrol, together with *trans*-resveratrol were found, in which the 3-glucosides accounting for significantly higher amounts in samples of harvest M12 (Table 5.3). *Trans*-resveratrol amounts and its 3-glucoside found in 'Isabel' grape juices can be described as low (less than 1 mg L⁻¹ of total resveratrol equivalent). The S-ABA treatment did not exert any significant effect on these compounds.

Table 5.2 - Composition of hydroxycinnamic acid derivatives (HCAD) and flavonols in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV, treatment applied 7 days before *vérasion*; V, treatment applied at the beginning of *vérasion*; AV, treatment applied 7 days after *vérasion*), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of May 2012 (M12).

	C-D11	BV-D11	V-D11	AV-D11	C-M12	BV-M12	V-M12	AV-M12
HCAD (mg L ⁻¹) ¹	111,45	119,84	122,47	108,12	118,95	123,39	125,13	127,87
Flavonols ²	63,71 **	79,80	80,30	69,69	22,87 A*	31,63 B	35,08 B	33,00 B
<i>HCAD profile (%)</i> ³								
<i>trans</i> -caftaric acid	74,24 *	73,07	73,37	73,04	81,45 **	80,56	81,25	81,32
<i>trans</i> -coutaric acid	20,13 **	21,51	20,55	21,53	15,02 *	15,60	15,07	15,34
<i>cis</i> -coutaric acid	5,64 **	5,42	6,08	5,44	3,54 *	3,83	3,68	3,34
<i>Flavonol profile (%)</i> ⁴								
M-3-glcU	1,33 ab	1,53 b	1,20 ab	0,93 a	1,80	2,15	2,31	2,28
M-3-gal	0,46 a	1,19 b	1,59 bc	2,07 c	1,29	1,54	1,34	1,40
M-3-glc	9,77 a	14,28 b	13,32 ab	11,01 ab	19,99	21,09	21,01	23,49
Q-3-gal	3,14	3,61	3,51	3,04	1,86	2,01	2,05	2,05
Q-3-glcU	28,79 b	24,18 a	25,21 a	24,45 a	30,26 B	27,17 AB	24,60 A	22,84 A
Q-3-glc	32,59	34,85	33,24	31,50	24,83	25,50	26,15	27,87
Q-3-rut	4,80 ab	4,74 ab	5,36 b	4,09 a	1,60 B	1,40 AB	1,14 AB	0,98 A
free M	1,49	0,94	1,19	2,44	2,32	2,70	3,45	2,68
L-glc	1,30 a	2,91 b	2,91 b	2,64 b	3,64 A	3,86 AB	4,04 B	3,88 AB
K-glcU	0,33	0,26	0,28	0,61	0,59	0,51	0,46	0,48
K-glc	2,49 a	3,24 ab	3,31 ab	3,62 b	2,47 A	3,45 B	3,53 B	3,96 B
I-gal	0,27	0,31	0,31	0,34	0,45	0,44	0,45	0,45
I-glc	2,78	3,05	3,01	2,84	2,30	2,02	2,15	2,08
S-glc	0,12 a	0,91 b	0,89 b	0,77 b	1,43 A	1,65 AB	1,72 B	1,55 AB
free Q	9,00	3,23	3,78	8,07	3,68	3,11	3,82	2,78
free K	0,71	0,33	0,41	0,87	0,36	0,35	0,52	0,33

Cont...

										...cont						
free I	0,43	0,20	0,20	0,42	0,42	C	0,25	A	0,34	B	0,25	A				
free S	0,21	0,24	0,27	0,28	0,71	A	0,80	B	0,91	C	0,66	A				
<i>Aglycone-type flavonol profile (%)</i> ⁵																
K-type	3,53	3,83	4,01	5,10	3,43	A	4,31	B	4,51	B	4,77	B				
Q-type	78,31	b**	70,61	a	71,10	a	71,16	a	62,22	B*	59,19	AB	57,76	A	56,52	A
I-type	3,47	**	3,56		3,52		3,60		3,18	B*	2,71	A	2,94	AB	2,78	A
M-type	13,06	a*	17,94	b	17,30	b	16,46	b	25,40	**	27,48		28,12		29,85	
L-type	1,30	a*	2,91	b	2,91	b	2,64	b	3,64	A**	3,86	AB	4,04	B	3,88	AB
S-type	0,33	a*	1,14	b	1,16	b	1,05	b	2,14	A**	2,44	BC	2,63	C	2,21	AB

¹ As equivalents of *trans*-caftaric acid.

² As equivalents of quercetin 3-glucoside.

³ Percentage area of individual HCADs with regard to the total peak area (DAD-chromatogram at 320 nm).

⁴ Percentage area of individual flavonols with regard to the total peak area (DAD-chromatogram at 360 nm).

Abbreviations: K, kaempferol; Q, quercetin; I, isorhamnetin; M, myricetin; L, laricitrin; S, syringetin; 3-glc, 3-glucoside; 3-gal, 3-galactoside; 3-glcU, 3-glucuronide; 3-rut, 3-rutinoside (3-(6"-rhamnosyl)-glucoside).

⁵ Sum of percentage areas of all flavonols (glycosides and free aglycone) sharing the same flavonoid structure (aglycone).

(a-c) Different low case letters means significant differences among juices from harvest D11, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(A-C) Different capital letters means significant differences among juices from harvest M12, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(*,**) Asterisks indicates significant differences (Student's "t" test, $\alpha = 0.05$) between the control grape juices of harvests D11 and M12.

Finally, the presence of phenolic compounds in 'Isabel' grape juice confers antioxidant capacity to this beverage. The antioxidant capacity estimated by DPPH method did not significantly differ among grape juices samples whatever the harvest or the treatment applied (Table 5.3). It is difficult to give a reasonable explanation of this result. On one hand, grape juices from harvest D11 accounted for lower anthocyanin content than that of harvest M12; conversely, the content of flavonols was higher in juices from harvest D11, thus compensating the low anthocyanin concentration with regards to the antioxidant capacity. On the other hand, the treatment with S-ABA increased the anthocyanin content in juices from harvest D11 and the flavonol content in those from M12, but these increases had not consequences on the antioxidant capacity.

Table 5.3 - Antioxidant capacity (AOC) and composition of flavan-3-ols and resveratrol derivatives in grape juices obtained from control (C, non-treated grapes) and S-ABA treated 'Isabel' grapes (BV, treatment applied 7 days before *vérasion*; V, treatment applied at the beginning of *vérasion*; AV, treatment applied 7 days after *vérasion*), corresponding to the regular season harvest of December 2011 (D11) and the out of season harvest of May 2012 (M12).

	C-D11	BV-D11	V-D11	AV-D11	C-M12	BV-M12	V-M12	AV-M12
AOC (mmol L ⁻¹) ¹	2,79	2,90	2,5	3,66	2,8	2,57	2,66	2,66
<i>trans</i> -resveratrol-3-glc (mg L ⁻¹)	0,20 *	0,18	0,1	0,13	0,4 **	0,48	0,54	0,49
<i>cis</i> -resveratrol-3-glc (mg L ⁻¹)	0,17 *	0,16	0,1	0,11	0,2 **	0,30	0,29	0,26
<i>trans</i> -resveratrol (mg L ⁻¹)	0,26	0,24	0,1	0,19	0,2	0,39	0,43	0,37
Total flavan-3-ols (mg L ⁻¹) ²	2,81 b	1,56 a	0,8 a	0,74 a	2,5	2,12	2,05	2,38
<i>Flavan-3-ol profile (%)</i> ³								
(+)-catechin	68,45 a	68,55 a	73,81 b	77,14 b	71,69	68,15	73,62	73,21
(-)-epicatechin	23,57	20,29	21,79	19,94	19,68	22,95	19,60	18,50
(-)-epicatechin 3-gallate	2,09	2,81	2,97	2,03	2,78	3,41	2,23	3,24
Procyanidin B1	0,78	0,77	0,88	0,88	0,91	0,55	0,47	0,56
Procyanidin B4	4,18	4,98	0,0	0,00	3,78	3,42	2,71	2,93
Procyanidin B2	0,93 a	2,60 b	0,5 a	0,00 a	1,17	1,52	1,36	1,56

¹ As equivalents of Trolox.

² As equivalents of (+)-catechin.

³ Percentage area of individual flavan-3-ol monomers and dimers with regard to the total peak area (DAD-chromatogram at 280 nm).

(a,b) Different low case letters means significant differences among juices from harvest D11, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(A,B) Different capital letters means significant differences among juices from harvest M12, according to ANOVA (Student-Newman-Keuls test, $\alpha = 0.05$).

(*,**) Asterisks indicates significant differences (Student's "t" test, $\alpha = 0.05$) between the control grape juices of harvests D11 and M12.

5.5 CONCLUSIONS

Grape juices obtaining of 'Isabel' with enhanced quality properties, like higher color intensity and stability, is of great interest because of low content in anthocyanins of this hybrid grape cultivar characteristic. The biosynthesis of phenolic compounds in grapes is subjected to many factors and the called "vintage" effect, which mainly combines environmental factors that have effect on the grape physiology, has been evidenced by the significantly different composition shown by the grape juices obtained in the regular season harvest of D11 and the out of season harvest of M12. On this context, the "vintage" effect could influence the degree of berry ripening and the use of some plant growth regulators can help to improve the berry ripening. The use of (*S*)-*cis*-abscisic acid (*S*-ABA) demonstrated to act in increasing anthocyanins content in grape skins. Our results have confirmed that grape juices obtained from *S*-ABA treated grapes really contain more anthocyanins and the timing of application seems led to better results when applied before or at the onset of *véraison* of grapes. In addition, the anthocyanin profile suffered some change, mainly the increase of anthocyanin 3,5-diglucosides and *p*-coumaroylated anthocyanidin 3-glucosides proportions. The *S*-ABA treatment also had effect on the content of other non-anthocyanin phenolic compounds content, like flavonols, which share some of the biosynthesis pathway with anthocyanins. Flavonols also increased their total content in the grapes juices obtained with treated grapes, although this increase was only significant in the case of samples with the initial lowest content, those of harvest M12. In spite of the improvement concerning to the phenolic composition directly (anthocyanins) or indirectly (flavonols) related to the red color of 'Isabel' grape juices, the treatment with *S*-ABA had no significant influence on antioxidant capacity of these beverages.

5.6 REFERENCES

ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394-400, 2007.

- BAN, T. et al. Abscisic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v. 78, p. 586–589, 2003.
- BLANCO-VEGA, D. et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS characterization of pyranoanthocyanins pigments formed in model wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.59, p.9523-9531, 2011.
- BLANCO-VEGA, D.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Identification, Content and Distribution of Anthocyanins and Low Molecular Anthocyanin-Derived Pigments in Commercial Red Wines. **Food Chemistry**, Oxford, v.158, p.449-458, 2014.
- BORGES, R. S. et al. Phenolic compounds, favorable oxi-redox activity and juice color of 'Concord' grapevine clones. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.161, p.188-192, 2013.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 64p.
- CANTÍN, C. M. A.; FIDELIBUS, B. M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at *véraison* advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, p.237–241, 2007.
- CASTELLARIN, S. D. et al. Phenolics in grape berry and key antioxidants. In: GERÓS, H.; CHAVES, M. M.; DELROT, S. **The biochemistry of the grape berry**, Danvers: Bentham, 2012. P. 89-110.
- CASTILLO-MUÑOZ, N. et al. Flavonol 3-O-glycoside series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.57, p.209-219, 2009.
- CASTILLO-MUÑOZ, N. et al. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.55, p.992-1002, 2007.
- CEJUDO-BASTANTE, M J.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; PÉREZ-COELLO, M. S. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part I: Petit Verdot wines. **Food Chemistry**, Oxford, v.124, p.727-737, 2011.
- CHEYNIER, V. et al. Structure and properties of wine pigments and tannins. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davies, v.57, p. 298-305, 2006.
- GARDIN, J. P. P. et al. Ácido abscísico e etefom: influência sobre a maturação e qualidade das uvas Cabernet Sauvignon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.321-327, 2012.

GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Villenave d'Ornon, v.44, p.9-15, 2011.

HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; GARCÍA-ROMERO, E. Anthocyanins of red wine grape cultivars grown in the Spanish region of La Mancha: characteristic cultivar patterns of grapes and single cultivar wines, and evolution during the ripening of the berry. **Alimentaria**, v.41, p.127-139, 2004.

HIRATSUKA, S. et al. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.90, n.1-2, p.121-130, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Notícias**. Versão eletrônica, abri. 2011. Disponível em: < http://www.ibravin.org.br/int_noticias.php?id=705&tipo=N >. Acesso em: 2 abr. 2014.

JEONG, S. T. et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of and the expression of anthocyanin biosynthetic genes berry skins. **Plant Science**, Londres, v.167, p.247-252, 2004.

KOSHITA, Y. et al. Regulation of skin color in 'Aki Queen' grapes: Interactive effects of temperature, girdling, and leaf shading treatments on coloration and total soluble solids. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v.129, p.98-101, 2011.

KOYAMA et al. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **Hortscience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460-464, 2014.

LAGO-VANZELA, E. S. et al. Aging of red wines made from hybrid grape cv. BRS Violeta: Effects of accelerated aging conditions on phenolic composition, color and antioxidant capacity. **Food Research International**, v.56, p.182-189, 2014.

LAGO-VANZELA, E. S. et al. Phenolic composition of the Brazilian seedless table grape varieties BRS Clara and BRS Morena. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, 59, 8314-8323, 2011a.

LAGO-VANZELA, E. S., et al. Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.59, p.13136-13146, 2011b.

MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O.; AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.49, p.170-176, 2001.

NIXDORF, S. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: Phenolic composition and antioxidant activity. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, 659, 208-215, 2010.

- OWEN S. J. et al. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, n.3, p.277-284, 2009.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W. Effects of Forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of 'Flame Seedless' grapes. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p.173–176, 2008.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W.; DOKOOZLIAN N. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v.82, p.304–310, 2007a.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, p.1440-1445, 2006.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Timing and concentration of abscisic acid applications affect the quality of 'Crimson Seedless' grapes. **International Journal of Fruit Science**, Nova Iorque, v.7, n.4, p.71-83, 2007b.
- PINTO, E. P. et al., A uva como alimento funcional: uma revisão. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v.3, n.3, p.66-73, 2011.
- REBELLO et al. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea × IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.54, p.354-366, 2013.
- REBELLO, L. P. G. et al. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea × IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Food Research International**, 54, 356-366, 2013.
- RIBÉREAU-GAYON, J. et al. *Traité d'Enologie. Sciences et Techniques du Vin*, Tome 1. Dunod, Paris, 1972.
- ROBERTO, S. R. et al. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797-800, 2013.
- SANDHU, A. K. et al. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Oxford, v.126, p.982-988, 2011.
- SATO, A. J. et al. Características físico-químicas e produtivas das uvas 'Isabel' e 'BRS-Rúbea' sobre diferentes porta-enxertos na região Norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.553-556, 2008.
- TREUTTER, D. Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding-vision and constraints. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.807–857, 2010.

WEBER, F.; WINTERHALTER, P. Synthesis and structure elucidation of ethyliden-linked anthocyanin—flavan-3-ol oligomers. **Food Research International**, v.65, p.69–76, 2014

WHEELER, S. et al. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.15, p.195–204, 2009.

CONCLUSÕES GERAIS

A aplicação de S-ABA 400 mg L⁻¹, nas condições do presente experimento, incrementa a concentração de antocianinas totais e cor das bagas e do suco, evidenciando o potencial de uso desse regulador vegetal como alternativa aos cortes realizados com cultivares tintureiras em uvas 'Isabel'.

A época de aplicação do S-ABA 400 mg L⁻¹, pode variar entre as safras, e de modo geral, uma aplicação aos 7DAV ou duas aplicações (7DAV + 10DAC; IV + 10DAC ou 7DDV + 10DAC), proporcionam os melhores resultados no incremento da cor das bagas e dos sucos, o que também foi constatado nas análises por HPLC. Considerando-se os custos envolvidos na aplicação, como produto, mão-de-obra e maquinário, sugere-se uma única aplicação de S-ABA 400 mg L⁻¹ aos 7DAV em uva 'Isabel', podendo ser realizada uma segunda aplicação aos 10 DAC para potencializar seu efeito, caso constate-se desuniformidade de cor das bagas nessa fase.

Os sucos integrais elaborados com uvas tratadas com o S-ABA apresentam ótimos resultados quanto à sua aceitação em análise sensorial, principalmente em função do incremento da cor dos mesmos. Dessa forma, o S-ABA pode ser empregado na produção de uvas 'Isabel' destinadas à elaboração de suco, sem rejeição por parte dos consumidores.

Embora a aplicação de S-ABA altere a concentração de antocianinas totais, e conseqüentemente, a cor das bagas e dos sucos integrais da uva 'Isabel', não há influência sobre as características físicas das bagas e dos cachos, tampouco quanto à concentração de polifenóis totais e capacidade antioxidante do suco.

ANEXOS

ANEXO A
Instruções Gerais

NOME: _____ DATA: _____

INSTRUÇÕES GERAIS

- ✓ Você receberá quatro ou oito amostras codificadas de suco de uva. Avalie cada uma delas, **da esquerda para a direita**.
- ✓ Preencha suas respostas nas fichas que você acaba de receber. USE UMA FICHA PARA CADA AMOSTRA.
- ✓ Antes de iniciar e ao mudar de amostra, lave a boca com água mineral.
- ✓ Avalie os atributos na sequência em que eles são apresentados.
- ✓ Observe primeiro a COR e dê sua nota.
- ✓ Em seguida sinta o AROMA de cada amostra e faça sua avaliação.
- ✓ Finalmente prove o suco fazendo com que preencha toda a cavidade bucal. Procure sentir o SABOR e o CORPO (viscosidade) de cada amostra.
- ✓ Considerando todos esses atributos e algum outro que considere relevante dê uma nota Global para cada amostra.

ANEXO B

Questionário para Recrutamento de Provador

**QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE PROVADOR
(Teste de Aceitação)**

Desejamos formar uma equipe de provadores para avaliar a aceitação de sucos de uva. As amostras serão preparadas a partir de uva Isabel.

Ser um provador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, levará em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Dados Pessoais:

NOME: _____
TELEFONE: _____ e-mail: _____

1. FAIXA ETÁRIA

- () 15-25 anos
() 26-35 anos
() 36-50 anos
() mais de 50 anos

2. SEXO:

- () masculino
() feminino

3. OCUPAÇÃO

- () estudante
() funcionário
() docente
() outra

4. ESCOLARIDADE

- () Fundamental
() Médio
() Superior

5. GOSTA DE SUCOS? () sim () não

6. SABOR: () laranja () uva () maracujá () abacaxi

7. FREQUÊNCIA COM QUE CONSOME SUCO DE UVA:

- () nunca
() ocasionalmente: ___ vezes por ano
() moderadamente: ___ vezes por mês
() frequentemente: ___ vezes por semana

ANEXO C

Ficha de Avaliação de Amostras de Suco de Uva

FICHA DE AVALIAÇÃO DE AMOSTRAS DE SUCO DE UVA
Escala hedônica de atributos

NOME: _____ DATA: _____

Avalie cada amostra codificada, **da esquerda para a direita**. Use a escala abaixo para indicar o quanto você **gostou ou desgostou** de cada atributo (cor, aroma, sabor, corpo e global) em cada amostra. USE UMA FICHA PARA CADA AMOSTRA.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 –
- 7 –
- 6 –
- 5 – nem gostei / nem desgostei
- 4 –
- 3 –
- 2 –
- 1 – desgostei muitíssimo

AMOSTRA nº: _____

<i>Atributo</i>	COR	AROMA	SABOR	CORPO	GLOBAL
<i>Nota</i>					

1. Qual o atributo que MAIS gostou nesta amostra: _____
 Porque? _____

1. Qual o atributo que MENOS gostou nesta amostra: _____
 Porque? _____
