

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**ULTRASSOM NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE
UVAS CULTIVAR ISABEL E CABERNET SAUVIGNON
E SUA INFLUÊNCIA NA COMPOSIÇÃO DOS SUCOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Carine Glauca Comarella

**Santa Maria, RS, Brasil.
2012**

**ULTRASSOM NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE UVAS
CULTIVAR ISABEL E CABERNET SAUVIGNON E SUA
INFLUÊNCIA NA COMPOSIÇÃO DOS SUCOS**

Carine Glaucia Comarella

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Neidi Garcia Penna

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ULTRASSOM NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE UVAS
CULTIVAR ISABEL E CABERNET SAUVIGNON E SUA INFLUÊNCIA
NA COMPOSIÇÃO DOS SUCOS**

elaborada por
Carine Glaucia Comarella

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Neidi Garcia Penna, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Carlos Eugenio Daudt, PhD. (UFMS)

Rosane da Silva Rodrigues, Dra. (UFPEl)

Santa Maria, 24 de fevereiro de 2012.

*Aos meus queridos pais
pelo amor e dedicação
e ao meu irmão
pelo carinho*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carmelino e Lorena, que se preocuparam em dar aos seus filhos a oportunidade que não tiveram. Ao meu irmão Jacson e toda a minha família, pelas orações, apoio e carinho.

A professora Neidi, minha orientadora, por acreditar na minha capacidade e confiar no meu trabalho. Obrigada pelo auxílio em todos os momentos!

A professora Cláudia Sautter, meu anjo, por me orientar diante das dúvidas, pelas palavras amigas e por ser grande incentivadora do meu trabalho. Obrigada por tudo!

Ao professor Daudt, que despertou em mim a paixão pela enologia. Obrigada pelos ensinamentos!

Aos amados amigos, Carla e Juan, pelo companheirismo em todas as horas, pelos momentos de alegria e pelas conquistas que tivemos e ainda teremos juntos.

Aos colegas da sala 109 do NIDAL, minha segunda família, não só pela dedicação e trabalho, mas também pelo carinho e amizade.

Ao Raul, Giliani, Bruna, Marcell e Renata, que tornaram mais agradável a rotina de estudos e mais do que colegas, se transformaram em grandes amigos.

A Taísa, minha querida colega e amiga, pela alegre companhia nos longos dias de trabalho.

A amiga Édina, pelo apoio, carinho e convivência.

A Aline Fogaça e Vinícolá Velho Amâncio, pelo auxílio e doação das amostras.

Ao Departamento de Química da UFSM, pelo empréstimo de equipamentos.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Velcir, Marialeni, Moisés e Magé pela cordialidade e auxílio.

Aos professores Roger Wagner e Juliano Barin pela colaboração na elaboração do projeto.

A todos os professores do PPGCTA, que ao longo desses dois anos contribuíram para a minha formação.

A Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade.

A Deus, por me permitir mais esta conquista.

“Disseram-vos que a vida é escuridão; e no vosso cansaço, repetis o que os cansados vos disseram.

E eu vos digo que a vida é realmente escuridão,
exceto quando há impulso.

E todo impulso é cego, exceto quando há saber.

E todo saber é vão, exceto quando há trabalho.

E todo trabalho é vazio, exceto quando há amor.

E quando trabalhais com amor, vós vos unis a
vós próprios, e uns aos outros, e a Deus.”

Gibran Khalil Gibran

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

ULTRASSOM NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE UVAS CULTIVAR ISABEL E CABERNET SAUVIGNON E SUA INFLUÊNCIA NA COMPOSIÇÃO DOS SUCOS

AUTORA: CARINE GLAUCIA COMARELLA

ORIENTADORA: NEIDI GARCIA PENNA

CO-ORIENTADORA: CLAUDIA KAEHLER SAUTTER

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de fevereiro de 2012.

Compostos fenólicos em plantas têm atraído grande atenção durante a última década devido à sua contribuição para a saúde humana, podendo reduzir os riscos de doenças crônicas. A uva é uma das maiores fontes dessas substâncias e assim como os demais vegetais, tem a síntese desses compostos geralmente associada a respostas de defesa contra fatores de estresse, também chamados elicitores. Mais recentemente, o ultrassom vem sendo estudado como possível elicitor abiótico de metabólitos secundários devido a estresse mecânico e microagitação induzidos por cavitação acústica. Dessa forma, este trabalho foi conduzido com o intuito de avaliar a aplicação de diferentes densidades de potência (53 e 113 W cm^{-2}) e tempos de exposição (1, 5 e 10 minutos) ao ultrassom em uvas Isabel e Cabernet Sauvignon quanto aos efeitos sobre os polifenóis totais dos sucos elaborados com as duas cultivares. As amostras também foram submetidas à determinação de antocianinas totais, taninos, sólidos solúveis totais, acidez total, pH e análise sensorial. A cultivar Isabel mostrou resultados mais significativos em resposta ao ultrassom, com elevação de até 83% nos níveis de polifenóis totais do suco, bem como, importante aumento no conteúdo de antocianinas totais e taninos. Estes resultados também foram acompanhados por um aumento nos sólidos solúveis totais e acidez total dos sucos. A aplicação do ultrassom acentuou cor, odor e sabor dos sucos de uvas Isabel, sendo os tratamentos sonicados os preferidos pelos provadores. Quanto a cultivar Cabernet Sauvignon, esta somente apresentou pequena variação na maioria dos parâmetros analisados. A densidade de potência e tempo de exposição ao ultrassom influenciaram a maioria dos parâmetros avaliados nos sucos quanto ao grau de resposta à sonicação. Tratamentos com 5 e 10 min de exposição ao ultrassom, com densidade de potência de 113 W cm^{-2} mostraram ser a combinação mais efetiva para a elicitação de compostos fenólicos mediante ativação do metabolismo secundário da planta, melhorando a qualidade dos sucos de uva Isabel.

Palavras-chave: ultrassom, elicitor, fitoalexinas, compostos fenólicos, suco de uva.

ABSTRACT

Master Course Dissertation
Post-Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

ULTRASOUND IN THE POST-HARVEST TREATMENT OF ISABEL AND CABERNET SAUVIGNON CULTIVAR GRAPES AND ITS INFLUENCE ON THE COMPOSITION OF JUICES

AUTHOR: CARINE GLAUCIA COMARELLA

ADVISER: NEIDI GARCIA PENNA

CO-ADVISER: CLAUDIA KAEHLER SAUTTER

Defense Place and Date: Santa Maria, February 24th, 2012.

Phenolic compounds in plants have attracted considerable attention during the last decade due to their contribution to human health in reduce the risk of chronic diseases. The grape is one of the largest sources of these substances and like other plants, the synthesis of these compounds is usually associated with defense responses against stress factors, also called elicitors. More recently, ultrasound has been studied as possible abiotic elicitors of secondary metabolites due to mechanical stress and microstreaming induced by acoustic cavitation. Thus, this work aimed evaluate the application of different power densities (53 and 113 W cm⁻²) and exposure times (1, 5 and 10 minutes) to ultrasound in Isabel and Cabernet Sauvignon grapes about the effects on total polyphenols of juices made from this two cultivars. The samples were also subjected to the determination of total anthocyanins, tannins, total soluble solids, total acidity, pH and sensory evaluation. The Isabel cultivar showed more significant results in response to ultrasound, an increase of up to 83% in the levels of total polyphenols of juice, as well as significant increase in the content of total anthocyanins and tannins. These results were also accompanied by an increase in total soluble solids and total acidity of the juices. The application of ultrasound emphasized color, odor and taste of the Isabel grape juice, and the sonicated treatments were preferred by tasters. About Cabernet Sauvignon cultivar, it only showed a little variation in the most parameters. Power density and exposure time to ultrasound influenced the most of parameters evaluated in juices regarding to degree of response to sonication. Treatment with 5 and 10 min of exposure to ultrasound and power density of 113 W cm⁻², is the combination that proved more effective for the elicitation of phenolic compounds by activation of plant secondary metabolism, improving the quality of the Isabel grape juice.

Keywords: ultrasound, elicitors, phytoalexins, phenolic compounds, grape juice.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1 - Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários 21
- Figura 2 - Biossíntese de compostos fenólicos a partir da fenilalanina 23

ARTIGO CIENTÍFICO

- Figura 1 - Medida da intensidade dos atributos cor, odor e sabor de suco de uvas Isabel submetidas ou não ao ultrassom, através de escala não-estruturada de 10 cm 47
- Figura 2 - Medida da intensidade dos atributos cor, odor e sabor de suco de uvas Cabernet Sauvignon submetidas ou não ao ultrassom, através de escala não-estruturada de 10 cm 49

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1-	Valores médios de polifenóis totais (PT) em sucos elaborados com uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)	39
Tabela 2-	Valores médios de antocianinas totais e taninos em amostras de suco de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)	43
Tabela 3-	Valores médios de sólidos solúveis totais (SST), acidez total (AT) e pH de sucos de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)	45
Tabela 4-	Módulo das diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação de preferência em sucos de uvas Isabel tratadas ou não com ultrassom	48
Tabela 5-	Módulo das diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação de preferência em sucos de uvas Cabernet Sauvignon tratadas ou não com ultrassom.....	50

LISTA DE ANEXOS

Anexo A - Normas para publicação de artigos científicos a serem submetidos à Revista Journal of Agricultural and Food Chemistry	64
--	-----------

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A - Modelo de ficha utilizada na avaliação sensorial de sucos de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon	83
---	-----------

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 A Vitivinicultura brasileira	16
2.2 Cultivares	17
2.2.1 Cultivar Isabel	18
2.2.2 Cultivar Cabernet Sauvignon	19
2.3 Metabólitos secundários	20
2.3.1 Compostos fenólicos	21
2.4 Elicitor	24
2.4.1 Ultrassom	25
3 ARTIGO	27
3.1 Efeito do ultrassom no tratamento pós-colheita de uvas sobre os compostos fenólicos e propriedades sensoriais dos sucos	28
Resumo	30
Introdução	31
Materiais e métodos	34
Resultados e discussão	38
Abreviações utilizadas	51
Literatura citada	51
4 CONCLUSÃO	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
6 ANEXOS	63
7 APÊNDICES	82

1 INTRODUÇÃO

A vitivinicultura é atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade no Brasil. Nos últimos anos, tem se tornado importante também na geração de emprego em grandes empreendimentos que produzem uvas de mesa e para processamento. A crescente procura por alimentos naturais e saudáveis que ofereçam, além do aspecto nutricional, benefícios à saúde do consumidor, impulsiona grandemente o comércio de produtos como a uva e seus derivados, consumidos hoje não somente por suas qualidades sensoriais, mas também por ser fonte de compostos com atividades antioxidantes.

Apenas no Rio Grande do Sul, responsável em média por 55% da produção de uvas no País, foram colhidos 707,2 milhões de quilos na safra 2011. Este recorde histórico marca um crescimento de 34,2% em relação ao ano de 2010. O maior aumento ocorreu na colheita de uvas comuns, *Vitis labrusca* ou híbridas, resultando em 624,9 milhões de quilos, enquanto as uvas viníferas somaram 82,3 milhões de quilos. Já o mercado de suco de uva cresceu 300% nos últimos sete anos no Brasil, consumindo quase metade da produção das variedades comuns (IBRAVIN, 2011a).

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas. Convincentes provas epidemiológicas demonstram que a ingestão de frutas ricas nestes compostos é, em geral, benéfica para o organismo (NETZEL et al., 2007). Os polifenóis são conhecidos por exercer efeitos antioxidantes, antiinflamatórios e inibidores de plaquetas em estudos *in vitro* e com animais (MAIER et al., 2009; PARK et al., 2003), podendo reduzir os riscos de doenças crônicas como obesidade, doenças cardíacas, diabetes e câncer (LIU, 2007). Sua química estrutural, ideal para atividades de sequestro de radicais livres, mostra uma capacidade antioxidante *in vitro* aumentada em comparação as vitaminas E e C (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997). Essas substâncias estão presentes principalmente na casca e na semente das uvas e são sintetizadas como defesa a situações adversas ou estressantes. Os vegetais possuem um metabolismo secundário que sintetiza fitoalexinas, quando ativado por elicitores, como resposta a algum tipo de estresse biótico ou abiótico sofrido pela planta. Quimicamente, segundo Taiz e Zeiger (2004), os elicitores bióticos são formados por

moléculas complexas e podem ser endógenos (porções da própria planta) ou exógenos (agentes microbianos). Os elicitores abióticos envolvem danos mecânicos, irradiação com luz ultravioleta e alguns metais pesados (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Mais recentemente, especial atenção tem sido dada às potenciais aplicações e efeitos benéficos do ultrassom, particularmente em baixos níveis de energia, em sistemas biológicos e processos biotecnológicos. O ultrassom pode criar estresses químicos e mecânicos atuando como um elicitador na resposta de defesa de plantas, de modo a estimular a síntese de metabólitos secundários em células vegetais (LIN et al., 2001; RUDOLF; RESURRECCION, 2005; SALES; RESURRECCION, 2010). Geralmente estes efeitos são atribuídos a estresse mecânico e microagitação induzidos por cavitação acústica e seus eventos hidrodinâmicos secundários como a formação de espécies reativas de oxigênio (LIN et al., 2001), conhecidas mediadoras na transdução de sinal durante a indução de fitoalexinas (APOSTOL; EINSTEIN; LOW, 1989). Embora estudado como um possível e potente elicitador abiótico, não foram encontradas informações a respeito da utilização do ultrassom em uvas e sua eventual contribuição para a melhoria das características químicas e sensoriais de produtos vitícolas.

Esta dissertação tem por objetivo avaliar o tratamento pós-colheita com ultrassom em uvas das cultivares Isabel e Cabernet Sauvignon e seu efeito sobre o conteúdo de compostos fenólicos dos sucos elaborados a partir de ambas as cultivares.

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Definir as condições de tratamento mais adequadas, quanto à intensidade e tempo de exposição ao ultrassom, para a indução de compostos fenólicos sem prejudicar a integridade da fruta.
- Elaborar sucos de uvas a partir das cultivares Isabel e Cabernet Sauvignon
- Determinar o conteúdo de polifenóis totais, antocianinas totais e taninos, bem como os valores de pH, acidez total e sólidos solúveis totais (^oBrix) dos sucos.
- Analisar sensorialmente, através de painel não treinado, sucos de uvas obtidas com e sem o tratamento de ultrassom.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A vitivinicultura brasileira

O cultivo da uva está ligado ao homem pela história, pelas religiões e especialmente para o ocidente, pela colonização das Américas, África e Austrália. Dados históricos revelam que a primeira introdução da videira no Brasil foi feita pelos colonizadores portugueses em 1532, através de Martin Afonso de Souza, na então Capitania de São Vicente, hoje estado de São Paulo. A partir deste ponto e com introduções posteriores, a viticultura expandiu-se para outras regiões do País, com cultivares (cv.) de *Vitis vinifera* procedentes de Portugal e da Espanha. Nas primeiras décadas do século XIX, com a importação das uvas americanas procedentes da América do Norte, foram introduzidas as doenças fúngicas que levaram à decadência a viticultura colonial. A cv. Isabel passou a ser plantada em diversas regiões do país, tornando-se a base para o desenvolvimento da vitivinicultura comercial nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo

A partir de meados do século XX, com o advento dos fungicidas sintéticos, as videiras européias ganharam expressão com a difusão da cv. Itália, especialmente no estado de São Paulo e com o cultivo de uvas para vinho no estado do Rio Grande do Sul. Até a década de 1960, a viticultura brasileira ficou restrita às regiões Sul e Sudeste, mantendo as características de cultura de clima temperado. Posteriormente, o cultivo da uva 'Itália' foi ampliado para a região semi-árida do Vale do Sub-Médio São Francisco, marcando o início da viticultura tropical no Brasil. A partir de 1990 surgiram novos pólos vitícolas, voltados tanto à produção de uvas de mesa como à produção de uvas para a elaboração de vinho e suco (IBRAVIN, 2011b).

Atualmente, a produção de uvas no Brasil se distribui por todo o território, mas se concentra em determinadas regiões. Em função da diversidade ambiental, existem pólos com viticultura característica de regiões temperadas, com um período de repouso hibernar definido, pólos em áreas subtropicais, onde normalmente a videira é cultivada com dois ciclos anuais definidos em função de um período de

temperaturas mais baixas e pólos de viticultura tropical onde é possível a realização de podas sucessivas, com dois e meio a três ciclos vegetativos por ano (EMBRAPA, 2010a). A produção de uvas é da ordem de 1,2 milhões de toneladas/ano. Deste volume, cerca de 43% é destinado ao processamento, para a elaboração de vinhos, sucos e outros derivados, e 57% comercializado como uvas de mesa (EMBRAPA, 2010b).

Do total de produtos industrializados, 77% são vinhos de mesa e 9% são sucos de uva, ambos elaborados a partir de uvas de origem americana, especialmente cultivares de *Vitis labrusca*, *Vitis bourquina* e híbridos interespecíficos diversos. Cerca de 13% são vinhos finos, elaborados com castas de *Vitis vinifera*; do restante dos produtos industrializados, 1% do total são outros derivados da uva e do vinho. Grande parte da produção brasileira de uvas e derivados da uva e do vinho são destinados ao mercado interno. O principal produto de exportação, em volume, é o suco de uva, sendo cerca de 15% do total destinado ao mercado externo; apenas 5% da produção de uvas de mesa é destinada à exportação e menos de 1% dos vinhos produzidos são comercializados fora do país (PÖTTER, 2009).

2.2 Cultivares

As espécies de videira cultivadas visando à produção de uvas para processamento pertencem ao gênero *Vitis*, destacando-se as espécies *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*.

A espécie *Vitis vinifera* é responsável por mais de 90 % da produção mundial de uvas, sendo comumente denominada de videira europeia ou do Velho Mundo. Destinam-se principalmente a elaboração de vinhos finos, os quais pela sua própria origem, alcançam preços mais elevados no mercado (MANFROI, 2007). Entre as variedades mais conhecidas desta espécie destacam-se as tintas Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Syrah e Tannat, e entre as brancas a Chardonnay, Prosecco e Riesling. Algumas delas se difundiram pelo mundo em virtude da sua capacidade de adaptação e pelas características dos vinhos que originam. Outras, de adaptação mais restrita, permaneceram em suas regiões de origem,

proporcionando aos seus habitantes a oportunidade de elaboração de produtos típicos e exclusivos (GUERRA et al., 2009).

A denominação "uvas rústicas" ou "uvas comuns" é utilizada no Brasil para todas as cultivares de uvas americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*), e híbridas de diferentes espécies de *Vitis*. De maneira geral, estas videiras caracterizam-se por apresentar elevada produtividade e alta resistência às doenças que atacam as cultivares de *Vitis vinifera*, como o míldio. No caso das cultivares de *Vitis labrusca*, as características de sabor e aroma da uva são determinantes da preferência de muitos consumidores, seja para consumo *in natura* seja dos vinhos e sucos elaborados. As videiras americanas apresentam resistência à filoxera, em grau variável segundo a espécie, e podem ser plantadas de pé-franco (AUGUSTINI, 2011). Entre as mais conhecidas encontram-se as cultivares Isabel, Concord, Herbemont, Bordô e Niágara.

2.2.1 Cultivar Isabel

A uva 'Isabel' é uma das principais cultivares de *Vitis labrusca*, espécie originária do sul dos Estados Unidos e de onde foi difundida para outras regiões. É também chamada de "Isabella", "Brasileira" e "Nacional", sendo uma uva híbrida natural de *V. labrusca* X *V. vinífera* (ALVES, 2006). Foi introduzida no Rio Grande do Sul entre 1839 e 1842 por Thomas Maister, através da Ilha dos Marinheiros e, na atualidade, representa aproximadamente 50% de toda a uva produzida no RS. Os principais destinos da uva Isabel são a produção de vinho tinto comum, suco de uva, vinagre, geléias e comercializada como fruta *in natura* (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000; ROMBALDI et al., 2004).

A expansão do cultivo com a cv. Isabel deu-se devido à sua fácil adaptação à variabilidade de condições edafoclimáticas, à elevada produtividade, à longevidade e à relativa rusticidade (ZANUZ, 1991; GRIGOLETTI; SÔNEGO, 1993). Apresenta cachos de tamanho médio, bagas arredondadas, de cor preta, recobertas de pruína, polpa sucosa e doce (LEÃO; SOARES, 2000). Como característica geral das variedades não viníferas, a 'Isabel' apresenta elevado teor de antranilato de metila,

substância que produz aroma forte de uva, sendo esse tipo de aroma conhecido por “foxado”, ou próprio da *Fox grape*, espécie norte-americana que deu origem à ‘Isabel’ (CAMARGO, 2003). O vinho produzido a partir da cv. Isabel conserva este aroma e gosto, no entanto, o hábito de consumo, associado às informações indicando os benefícios de pigmentos e taninos existentes nesse vinho, faz com que seja muito consumido no País e tenha grande potencial de expansão. Essa mesma lógica é válida para outros produtos derivados dessa cultivar, como, suco, vinagre, geléia e a própria uva para consumo direto (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000).

2.2.2 Cultivar Cabernet Sauvignon

A cv. Cabernet Sauvignon originou-se na região de Bordeaux, França, e difundiu-se pela maioria das regiões vitícolas do mundo. Foi introduzida no Brasil em 1921, mas somente após 1980 que seu plantio começou a se tornar expressivo na Serra Gaúcha e na fronteira oeste do Rio Grande do Sul (RIZZON; MIELE, 2002). Atualmente é uma das uvas viníferas mais cultivadas no Brasil (GIOVANNINI, 2001; POMMER; TERRA; PIRES, 2003). Resultante do cruzamento natural da Cabernet Franc com a Sauvignon Blanc é uma variedade de brotação e maturação tardia, relativamente vigorosa, com ramos novos de porte ereto, de média produção e elevada qualidade de vinificação (FREGONI, 1998; HIDALGO, 1993; WINKLER; COOK; KLIEWER, 1974). Os cachos são de tamanho médio a pequeno, com formato irregular, geralmente cônico longo, folgado a compacto. As bagas de Cabernet Sauvignon são pequenas, com muitas sementes, esféricas com pele preta, densas e muito resistentes. Esta característica faz as uvas razoavelmente resistentes à doença e capazes de suportar algumas chuvas do outono com poucos danos (RICHTER, 2008). Seu vinho, de intensa cor rubi, encorpado e de agradável buquê, é considerado um dos melhores do mundo (CATALUNHA, 1991), apresentando aromas que lembram cassis em vinhos jovens e madeira de cedro nos vinhos mais evoluídos (LAROUSSE DO VINHO, 2004).

2.3 Metabólitos secundários

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Tais substâncias são conhecidas como metabólitos secundários. Embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, estes metabólitos garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema (SIMÕES et al., 2004). Os metabólitos secundários também diferem dos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil lipídeos) por apresentarem distribuição restrita no reino vegetal, ou seja, são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas, enquanto que metabólitos primários são encontrados em todo o reino vegetal. Muitos produtos do metabolismo secundário têm função ecológica importante, tais como proteger as plantas contra os herbívoros e contra a infecção por microorganismos patogênicos, atuam como atrativos para animais polinizadores e dispersores de sementes, bem como agentes na competição planta-planta. Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados (TAIZ; ZEIGER, 2004). A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (Figura 1).

O processo celular geral e princípio regulador da biossíntese de metabólitos secundários de plantas têm início quando um sinal extracelular ou intracelular é percebido por um receptor na superfície da membrana plasmática ou endomembrana. A seguir, a percepção do sinal elicitador inicia uma rede de transdução de sinal que leva à ativação ou biossíntese *de novo* de fatores de transcrição que regulam a expressão de genes biossintéticos envolvidos no metabolismo secundário das plantas. As enzimas resultantes, então, catalisam a biossíntese de metabólitos secundários alvo (ZHAO; DAVIS; VERPOORTE, 2005).

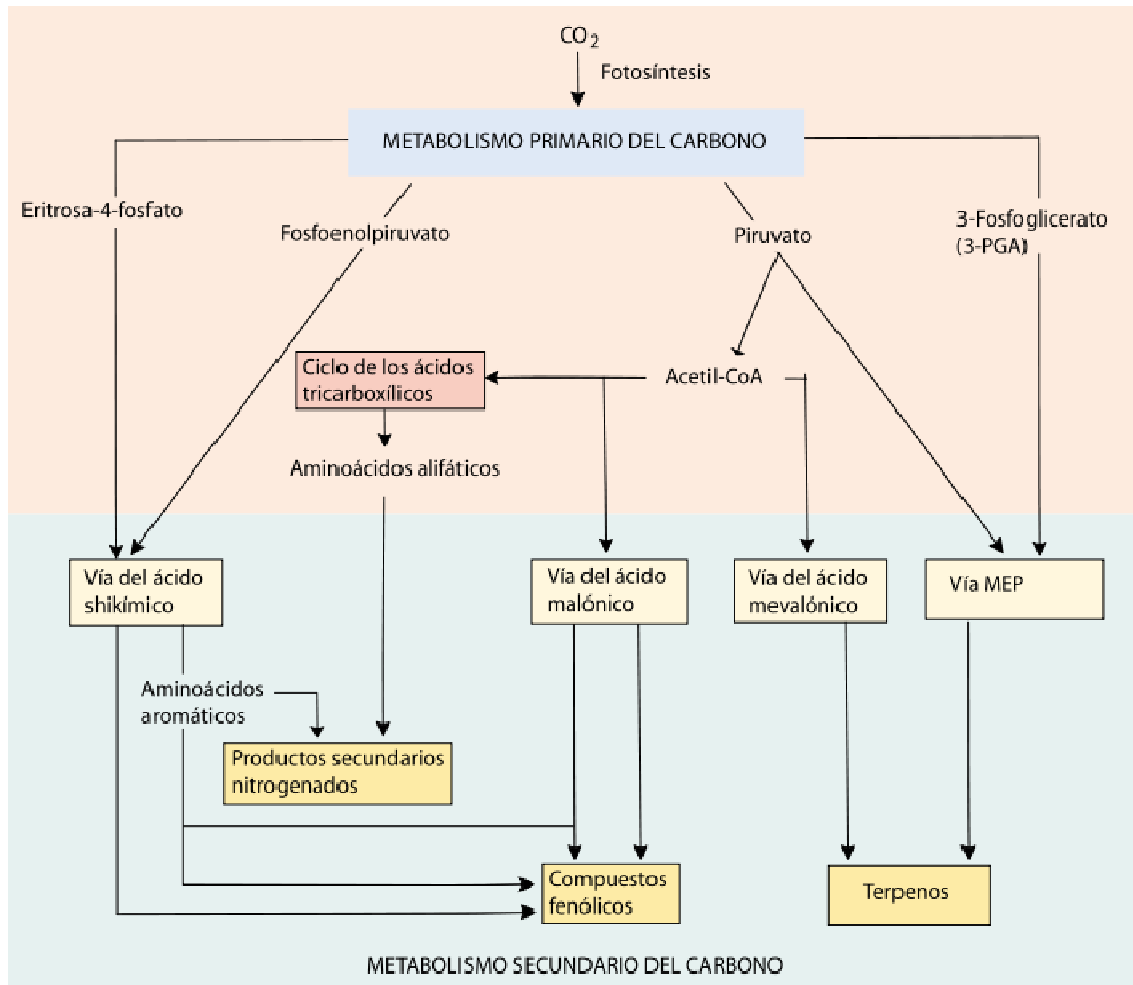


Figura 1. Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários.

Fonte: Taiz e Zeiger, 2004.

2.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são caracterizados estruturalmente por possuírem um anel aromático, contendo um ou mais substituintes hidroxila, variando de simples moléculas fenólicas a compostos altamente polimerizados. Estes compostos desempenham um importante papel no crescimento e reprodução, fornecendo proteção contra patógenos e predadores (BRAVO, 1998). Outros tem 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 de contribuírem também, para a coloração e

características sensoriais de frutas e outros vegetais (ALASALVAR et al., 2001). Há ainda outros efeitos biológicos atribuídos, no entanto, ao consumo dos compostos fenólicos, entre os quais, sua grande capacidade de recuperação de radicais livres, atividades vasodilatadora, antiaterogênica, antiinflamatória, antibacteriana, antialergênica entre outras (BENAVENTE-GARCIA et al., 1997; MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005; MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000; PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2001; SAMMAN; LIONS WALL; COOK, 1998).

Derivados de diferentes rotas, os compostos fenólicos constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas rotas metabólicas básicas estão envolvidas na síntese desses compostos, a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico. A primeira participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais. A segunda é importante fonte de produtos secundários fenólicos em fungos e bactérias, porém, é menos significativa em plantas superiores (TAIZ; ZEIGER, 2004). A classe mais abundante de compostos fenólicos secundários em plantas é derivada da fenilalanina, através da eliminação de uma molécula de amônia para a formação do ácido cinâmico (Figura 2). Essa reação é catalisada pela fenilalanina amonialiase (FAL), que pode ter sua atividade aumentada por fatores ambientais, tais como baixos níveis de nutrientes, luz e infecções por fungos.

Os compostos fenólicos são geralmente encontrados em folhas, sementes e frutos, em concentrações que variam com o órgão, cultivares e espécies. Segundo Deloire et al. (1998), a videira sintetiza polifenóis como defesa em situações de estresse, acumulando estes compostos principalmente na casca e nas suas sementes. Essa resposta se dá mediante a ativação do metabolismo secundário frente a estresses como o ataque de fungos, déficit hídrico, radiação ultravioleta ou variações de temperatura.

Os compostos fenólicos das uvas podem ser classificados em flavonóides e não-flavonóides. O primeiro grupo representa a maioria dos polifenóis encontrados nos alimentos (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000), além de serem considerados os mais potentes antioxidantes (SOBRATTEE et al., 2005). Deste, fazem parte os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (CABRITA; SILVA; LAUREANO, 2003).

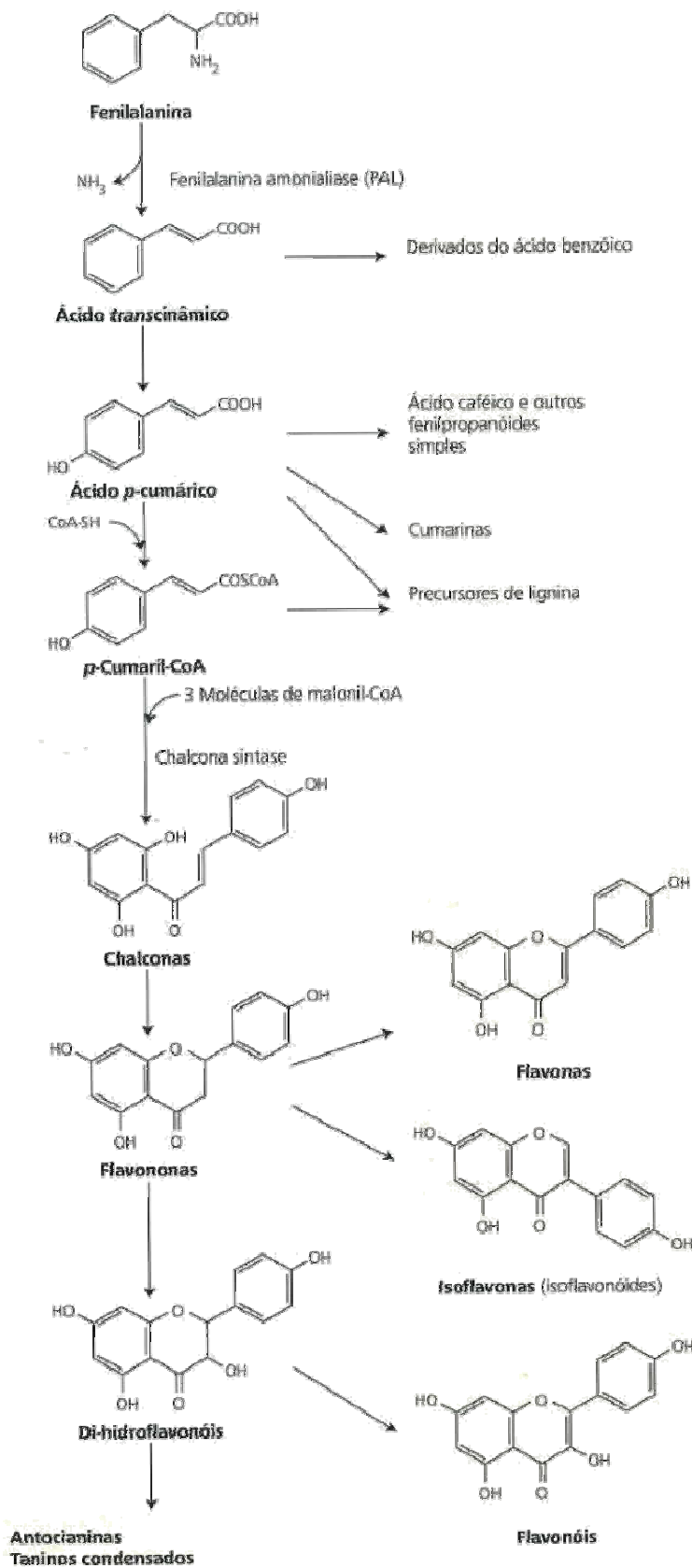


Figura 2. Biossíntese de compostos fenólicos a partir da fenilalanina.

Fonte: Taiz e Zeiger, 2004.

O metabolismo bioquímico que leva a síntese de substâncias fenólicas é favorecido pelas temperaturas amenas, principalmente as noturnas. Bakhshi e Arakawa (2006) observaram que a temperatura ótima para a síntese de ácidos fenólicos e flavonóides é de 24 °C. A temperatura influencia a planta limitando os processos biológicos; assim a dormência, florescência, fecundação, frutificação, maturação e a qualidade dos frutos dependem, cada um a seu tempo, de determinado grau de calor (LEITE, 2009). Além do fator temperatura, a concentração e composição dos compostos fenólicos nas uvas tintas variam com as espécies, cultivares, época de maturação e uma ampla série de procedimentos e condições, tais como clima, quantidade de radiação solar, técnicas de vinificação e colheita (JACKSON, 1994; MAZZA; FUKUMOTO; DELAQUIS, 1999).

2.4 Elicitor

O metabolismo secundário dos vegetais envolve a produção de fitoalexinas, substâncias tais como terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos, quando ativado por elicitores em resposta a algum tipo de estresse biótico ou abiótico sofrido pela planta. Quimicamente, segundo Taiz e Zeiger (2004), os elicitores bióticos são formados por moléculas complexas como carboidratos, glicoproteínas, polipeptídeos, enzimas ou lipídeos, podendo ser de origem endógena (porções da própria planta) ou exógena (agentes microbianos). Os elicitores endógenos são formados por fragmentos de material constituinte da parede celular da planta, liberados pela ação de enzimas. Já os elicitores exógenos, de origem microbiana, podem ser formados por estruturas intactas ou parte de fungos e células bacterianas. Por outro lado, no caso dos elicitores abióticos, a ativação do metabolismo envolve danos mecânicos, irradiação com luz ultravioleta e alguns metais pesados (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Geralmente, os elicitores desencadeiam mecanismos de oxidação complexos durante a indução de fitoalexinas. Essas reações são transduções de sinais que são mediadas pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) provenientes do estresse oxidativo (SAUTTER, 2008).

2.4.1 Ultrassom

Recentemente, o tratamento com ultrassom (US) tem sido relatado como um meio atrativo na ciência e tecnologia de alimentos devido aos seus efeitos promissores na área de processamento e preservação. Knorr et al. (2004) revisaram o uso do US na melhoria do processamento direto de alimentos, tais como limpeza de superfícies, aumento da desidratação, secagem e filtração, inativação de microrganismos e enzimas, extração de enzimas, proteínas e compostos antioxidantes, ruptura de células, desgaseificação de alimentos líquidos e aceleração de transferência de calor. Embora muitos trabalhos tenham sido feitos nessa área, ainda são poucas as informações sobre o efeito do tratamento com US como um fator que afeta a qualidade pós-colheita em vegetais (CAO et al., 2010).

Segundo Wu e Lin (2002) e Russowski (2007), o US pode ser considerado como um dano mecânico, pois se propaga através dos meios biológicos gerando ondas, as quais se equivalem a uma agitação mecânica, produzindo efeito nos materiais biológicos de maneira não-intrusiva e, por isso, ácido salicílico e ácido jasmônico podem mediar a cascata de respostas ao US, envolvendo genes responsivos à patógenos e danos, respectivamente (MENKE et al., 1999). Nesse âmbito, apesar do US de alta intensidade, o qual é geralmente destrutivo para materiais biológicos, o interesse crescente tem sido dado para US de suave ou baixa intensidade e suas potenciais aplicações em processos biotecnológicos e sistemas biológicos (LIU et al., 2003).

Geralmente os mecanismos relacionados aos efeitos *in vivo* e *in vitro* do US são classificados como térmicos e não térmicos (WILLIAMS, 1983; NYBORG; ZISKIN, 1985). Os mecanismos térmicos são usualmente associados a elevações na temperatura em objetos sonificados devido à absorção e atenuação de energia acústica. Mecanismos não térmicos levam em maior consideração, efeitos do US em bioconversões e biossínteses em soluções enzimáticas e suspensões de células sob temperatura controlada (sem elevação significativa da temperatura). Podem incluir mecanismos mecânicos e químicos (MILLER et al., 1998), os quais, na sua maioria, são diretamente ou indiretamente ligados a cavitação acústica. Cavitação é a base primária de efeitos biológicos, bem como, de muitos efeitos físicos, químicos e aplicações de US de alta intensidade em meio líquido. Estas formações de gás, ou

bolhas de vapor, aumentam a permeabilidade da membrana, desnaturam DNA e proteína e modificam a morfologia celular, podendo ainda estimular ou inibir atividades biológicas, como as enzimáticas, bio-conversões, biossínteses celulares e alterações nas membranas e outras estruturas celulares (JOERSBO; BRUNSTEDT, 1990; SAKAKIBARA et al., 1996; LIN et al., 2001; LIU et al., 2003; CHEN et al., 2008).

Lin et al. (2001), verificaram que a exposição ao US de células de *Panax ginseng* aumentou o metabólito secundário saponina em 50% até 75% em relação ao controle durante armazenagem por 2 a 3 dias. Eles atribuíram este resultado a cavitação acústica e seus eventos hidrodinâmicos secundários, como demonstrado pela produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Produção de H₂O₂ em plantas, conhecido como explosão oxidativa, ocorre como uma resposta de defesa ao ataque de patógenos e também atua como um mensageiro secundário para sinalizar subseqüentes reações de defesa em plantas (APOSTOL; HEINSTEIN; LOW, 1989).

Em trabalho realizado por Nascimento et al. (2008), o uso do US elevou o conteúdo de compostos fenólicos em café despulpado. Já segundo Rudolf e Resurreccion (2005), em pesquisa com amendoins, este tipo de tratamento não aumentou a quantidade dos compostos fenólicos nem sua atividade antioxidante, porém, foi efetivo no aumento dos níveis de *trans*-resveratrol. Por outro lado, em estudos com a mesma leguminosa, Sales e Resurreccion (2010), observaram um maior conteúdo de antioxidantes e compostos polifenólicos em resposta ao US.

Aplicando US de baixa intensidade em uma cultura suspensa de células de *Panax ginseng*, Wu e Lin (2002) encontraram dois eventos que usualmente ocorrem no metabolismo de defesa das plantas e rotas de transdução de sinal, isto é, o aumento do fluxo de íons através da membrana e a produção de EROs.

As respostas de defesa em plantas, influxo de transmembranas e explosão oxidativa, a produção de metabólitos secundários, bem como atividade de transportadores celulares, tornam o US uma importante ferramenta em aplicações biotecnológicas.

3 ARTIGO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sobre a forma de um manuscrito, o qual se encontra em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à revista Journal of Agricultural and Food Chemistry, cujas normas estão listadas no Anexo A.

3.1 Efeito do ultrassom no tratamento pós-colheita de uvas sobre os compostos fenólicos e propriedades sensoriais dos sucos

Carine Glaucia Comarella, Cláudia Kaehler Sautter, Neidi Garcia Penna

Manuscrito a ser submetido para publicação

Efeito do Ultrassom no Tratamento Pós-Colheita de Uvas sobre os Compostos Fenólicos e Propriedades Sensoriais dos Sucos

Carine G. Comarella^{1*}, Cláudia K. Sautter¹ e Neidi G. Penna¹

¹Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima 1000, Santa Maria 97105-900, RS, Brasil.

*A correspondência deve ser enviada para:

Carine Glaucia Comarella

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima 1000, Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brasil.

Telefone: 55-55-32208254

FAX: 55-55-32208353

E-mail: carineglaucia@yahoo.com.br

RESUMO: O ultrassom (US) vem sendo estudado como um possível elicitador abiótico do metabolismo secundário de plantas capaz de promover a biossíntese de compostos fenólicos. Neste estudo, diferentes densidades de potência de US, 53 e 113 W/cm² e tempos de exposição, 1, 5 e 10 min foram testados em uvas Isabel e Cabernet Sauvignon. O efeito da sonicação sobre os polifenóis totais, antocianinas totais, taninos, sólidos solúveis totais, acidez total, pH e parâmetros sensoriais foram avaliados nos sucos elaborados a partir das duas cultivares. O US afetou significativamente todos os parâmetros avaliados nos sucos de uvas Isabel, exceto pH, apresentando expressivo poder elicitador de metabólitos secundários, com aumento de até 83% nos níveis de polifenóis totais e 159% no de antocianinas, melhorando também a qualidade sensorial dos sucos avaliados. A cultivar Cabernet Sauvignon apresentou somente pequenas variações frente aos tratamentos com US.

Palavras-chaves: ultrassom, elicitador, fitoalexinas, compostos fenólicos, suco de uva

INTRODUÇÃO

A procura por alimentos naturais e saudáveis cresce nos últimos anos e convincentes evidências epidemiológicas confirmam que o consumo de frutas e outros vegetais está geralmente associado a efeitos benéficos à saúde.¹ Tais efeitos são atribuídos principalmente à presença dos compostos fenólicos. Estas substâncias possuem grande capacidade antioxidante, promovida por suas estruturas químicas capazes de limpar e neutralizar radicais livres.²

Amplamente distribuídos no reino vegetal, os polifenóis têm entre suas principais fontes, a uva, podendo também ser encontrados em produtos como o vinho e suco. Além dos potenciais benefícios à saúde, a presença de compostos fenólicos influencia características sensoriais como flavor e a percepção do aroma retronasal desses produtos.³ Muitas pesquisas têm sido realizadas avaliando os efeitos antioxidantes dos compostos fenólicos presentes no vinho,⁴ entretanto, alguns autores verificaram atividade antioxidante importante também em suco de uva.^{5,6} O consumo de suco de uva como fonte de compostos fenólicos pode apresentar vantagem com relação ao do vinho, já que a ausência de álcool permite que seja consumido pela maioria das pessoas, inclusive crianças e portadores de doenças como hepatite.⁷ Alguns benefícios à saúde tem sido atribuídos ao consumo deste produto, como a melhora no funcionamento do endotélio, aumento da capacidade antioxidante sérica, a proteção das LDLs (lipoproteínas de baixa densidade) contra a oxidação e redução da agregação plaquetária.⁸ Mesmo o suco sendo considerado uma importante fonte de polifenóis, a quantidade e o tipo destes compostos não são necessariamente os mesmos da fruta fresca. Determinados tratamentos aos quais a uva e o mosto são submetidos durante a produção do suco tais como tipo de extração, prensagem, tratamentos térmicos e

enzimáticos, e adição de dióxido de enxofre podem interferir nos compostos presentes na bebida.^{4, 5, 9}

A síntese dos compostos fenólicos, assim como de outros metabólitos secundários, está geralmente associada a respostas de defesa da planta contra a invasão de patógenos.¹⁰ Em resposta a infecção microbiana, por exemplo, a planta sintetiza metabólitos secundários antimicrobianos, as fitoalexinas, que atuam no combate a estes organismos. Em plantas, os agentes e meios que podem ativar os mecanismos de defesa são usualmente referidos como elicitores. Além daqueles de origem biótica, como os agentes microbianos, os elicitores podem envolver vários estímulos físicos e mecânicos, sendo então denominados elicitores abióticos.

O tratamento com elicitores bióticos e abióticos vem sendo utilizado para aumentar a produção de metabólitos secundários como compostos fenólicos, alcalóides e terpenóides.¹¹⁻¹³ O ultrassom (US) é um tipo especial de estímulo físico que tem se mostrado promissor na utilização como elicitador abiótico de fitoalexinas, conforme demonstrado em estudos prévios realizados em leguminosas¹⁴⁻¹⁶ e em cultura de células.¹⁷ O US pode estimular certas atividades biológicas como bioconversões enzimáticas e microbiológicas¹⁸ e biossíntese celular.¹⁹ Além disso, um dos efeitos do US mais comumente observado é o aumento na permeabilidade da membrana celular, com conseqüente aumento da absorção de substâncias externas e liberação de produtos intracelulares. A liberação de enzimas das células para a biossíntese de metabólitos secundários deve-se ao estresse mecânico induzido por cavitação acústica a baixos níveis de intensidade de US.¹⁷ Outro fato que sustenta a hipótese do US atuar na elicitação de metabólitos secundários é a produção de peróxido de hidrogênio, uma resposta comum de células vegetais ao ataque de patógenos e tratamento elicitador. A forma como essas espécies reativas de

oxigênio (ERO) medeiam à produção de metabólitos secundários ainda não é clara, porém sabe-se que estas são capazes de induzir a expressão de muitos genes de defesa e genes da biossíntese de metabólitos secundários.¹³

Basicamente, existem dois tipos de aparelhos geradores de ondas ultrasonoras: o banho, mais utilizado para limpeza de material, e a sonda, normalmente utilizada em laboratório de microbiologia para rompimento de células. No banho, o transdutor é diretamente preso no fundo da cuba do aparelho e a energia ultrasonora é transmitida através de um líquido, normalmente água. Neste caso, há muita dispersão de energia e, conseqüentemente, menor influência nos sistemas reacionais. Já a sonda, encontra-se fixada na extremidade do amplificador do transdutor, em contato direto com o sistema reacional e, por isto, é mais eficiente.²⁰ Entretanto, na literatura, os trabalhos que descrevem os efeitos do US anteriormente citados, tratam principalmente da aplicação de US de baixa intensidade, por meio de banhos de imersão, enquanto que o uso de sondas de US, em intensidades mais altas, mesmo não sendo encontrados estudos semelhantes, é apontado como sendo, geralmente, destrutivo para materiais biológicos.¹¹

Mediante o exposto, e aliado ao fato de não terem sido encontradas na literatura informações sobre o uso do US na estimulação da biossíntese de metabólitos secundários em uvas, o intuito principal deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de US (por meio de sonda) em cultivares de uvas americanas (Isabel) e viníferas (Cabernet Sauvignon), sobre o conteúdo de compostos fenólicos totais dos sucos produzidos a partir dessas uvas, bem como, sobre as características sensoriais do produto. Adicionalmente, foi analisada a influência da sonicação sobre antocianinas totais, taninos e outros parâmetros físico-químicos dos sucos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental. Os cachos de uva foram submetidos aos tratamentos num esquema fatorial $2 \times 3 \times 2$, com três repetições, utilizando diferentes densidades de potência de US (53 e 113 W/cm^2), tempos de aplicação (1, 5 e 10 min) e cultivares de uva (Isabel e Cabernet Sauvignon). As amostras controle dos sucos foram preparadas a partir de uvas não tratadas. Todas as análises químicas foram realizadas em triplicata.

Aplicação do US. As uvas Isabel e Cabernet Sauvignon utilizadas no experimento foram colhidas nas cidades de Caxias do Sul ($29^\circ 10'$ Sul, $51^\circ 10'$ Oeste) e Dom Pedrito ($30^\circ 58'$ Sul, $54^\circ 40'$ Oeste) respectivamente, ambas no estado do Rio Grande do Sul, no ano de 2011.

As amostras coletadas foram mantidas por um período de 2 dias em câmara de refrigeração sob temperatura de 20°C para a retirada do calor de campo e estabilização do metabolismo. Para a sonicação (terceiro dia), foram utilizados processadores ultrassônicos (Sonics and Materials, Inc., Newton, USA) com potência nominal de 130 W (modelo VCX 130 PB, probe com 3 mm de diâmetro) e 750 W (modelo VC 750, diâmetro de probe de 13 mm), com amplitude de onda de 70% e densidade de potência resultante de 113 W/cm^2 e 53 W/cm^2 , respectivamente, sob frequência constante de 20 kHz. Os cachos foram imersos em água destilada, em recipiente de vidro (capacidade para 3,75 L; altura: 15 cm; diâmetro superior: 21,5 cm e inferior: 15 cm) e as sondas introduzidas a uma profundidade de 1,5 cm. Para cada cultivar de uva, foram utilizados tratamentos com densidades de potência de 53 W/cm^2 e 113 W/cm^2 e três tempos de exposição, 1, 5 e 10 minutos de irradiação, resultando em 6 tratamentos, os quais foram

identificados como: T1 (53 W/cm² por 1 min); T2 (53 W/cm² por 5 min), T3 (53 W/cm² por 10 min), T4 (113 W/cm² por 1 min), T5 (113 W/cm² por 5 min) e T6 (113 W/cm² por 10 min). Durante a sonicação manteve-se o controle da temperatura das amostras em 20 °C. Os tratamentos foram conduzidos em triplicata, com peso médio amostral de 1kg. Após a sonicação, as amostras tratadas juntamente com a controle foram armazenadas em câmara frigorífica a 20 °C por um período de incubação de 5 dias. Decorrido este tempo, as mesmas foram congeladas à -20 °C até processamento do suco.

Elaboração do Suco. Para o preparo do suco, utilizou-se o processo de maceração sulfurosa à frio, denominado Flanzzy.²¹ As uvas foram lavadas e esmagadas, acondicionadas em garrafas de vidro de 500 mL, e então aquecidas em banho-maria a 85 °C por 15 minutos. Depois de resfriadas naturalmente seguiu-se a sulfitagem (260 ppm de metabissulfito de potássio) e posterior remontagem por três dias a 25 °C. Após a prensagem do mosto, o suco obtido foi novamente armazenado em garrafas, aquecido a 50 °C e então filtrado por bomba de vácuo. A estabilização do bitartarato de potássio foi feita resfriando o suco a 5 °C por uma semana. No final deste período, os sucos foram trasfegados para outro recipiente e mantidos em refrigeração até a realização da análise sensorial, enquanto que alíquotas destinadas às análises químicas seguiram para o congelamento.

Análise dos Polifenóis Totais. A concentração de polifenóis totais (PT) nas amostras de suco de uva foi medida através da reação com reagente de Folin Ciocalteau e leitura da absorbância em comprimento de onda de 765 nm (Espectrofotômetro Femto[®] 600) conforme o método descrito por Singleton e Rossi.²² A análise foi realizada em triplicata para todas as amostras e soluções padrões. Os polifenóis totais foram expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG

mg/L) calculados a partir da equação de regressão 1 da curva padrão do ácido gálico

$$PT \text{ (mg EAG/L)} = [(Abs - b)/a] \times FD \quad (1)$$

onde a = inclinação da reta; b = intercepção da curva; Abs = absorvância lida em 765 nm e FD = fator de diluição.

Análise de Antocianinas Totais. A medida de antocianinas totais foi realizada pela leitura da absorvância em 533 nm para os sucos da cultivar Isabel e 540 nm para os sucos da cultivar Cabernet Sauvignon. Os comprimentos de onda foram determinados após varredura do espectro de absorção conforme Di Stefano et al.²³ As amostras de suco foram diluídas com uma solução de etanol/ ácido clorídrico/ água destilada, na proporção de 70/1/30 (v/v/v). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Femto[®] 600) utilizando como branco água destilada diluída na solução alcoólica ácida.

Os resultados foram expressos em mg/L de cloreto de malvidina e obtidos através da equação 2

$$\text{Antocianinas totais} = E_{(1 \text{ cm}, \lambda \text{ máx vis})} \times 19,9 \times FD \quad (2)$$

onde $E_{(1 \text{ cm}, \lambda \text{ máx vis})}$ (C= 1%) = absorvância e FD = fator de diluição.

Análise de Taninos. A determinação de taninos presentes nos sucos seguiu a metodologia de Ribéreau-Gayon e Stonestreet.²⁴ Em dois tubos de ensaio foram adicionados 2 mL de suco diluído 1/50, 1 mL de água destilada e 3 mL de ácido clorídrico (12 N). Um dos tubos foi aquecido a 100 °C em banho-maria por 30 min e então, juntamente com a amostra não aquecida, foram adicionados 1 mL de etanol

95%. A diferença de absorvância em 550 nm, $\Delta \text{Abs} = \text{Abs}_2 - \text{Abs}_1$, entre as duas amostras foi determinada em cubeta de caminho ótico de 10 mm (Espectrofotômetro Femto[®] 600). Para o cálculo da concentração de taninos, seguiu-se a fórmula 3

$$\text{Taninos (g/L)} = 19.33 \times \Delta \text{Abs} \quad (3)$$

Análise de pH. A determinação foi realizada através de método potenciométrico em medidor de pH (DM 21 Digimed[®]) calibrado com soluções tampão (Merck[®]) pH 4,0 e 7,0 a uma temperatura constante de 20 °C.

Análise de Acidez Total. Para a medida utilizou-se titulometria com solução de hidróxido de sódio 0,1 N e indicador fenolftaleína até pH 8,2 (medidor de pH DM 21 Digimed[®]).

A acidez total (AT) é expressa em g% de ácido tartárico e calculada pela fórmula 4

$$\text{AT} = \frac{V \times N \times 75 \times 100}{1000 \times V^a} \quad (4)$$

onde V = volume de hidróxido de sódio gasto; N = normalidade do hidróxido de sódio e V^a = volume da amostra.

Análise de Sólidos Solúveis Totais. As amostras foram analisadas para sólidos solúveis totais (SST) em refratômetro portátil (Carlzeiss Jena[®] 338909, 0 a 30%) através de leitura direta observando-se o valor em graus Brix (°Brix) em sala climatizada a 20 °C.

As análises de pH, Acidez Total e Sólidos Solúveis Totais seguiram a metodologia descrita por Amerine e Ough.²⁵

Análise sensorial. Três amostras de suco elaboradas a partir de uvas sonicadas (T3, T5, T6) juntamente com amostra de suco de uvas controle foram submetidas à avaliação sensorial por painel constituído de 43 provadores não-treinados. As amostras foram selecionadas segundo os resultados de PT obtidos, tomando como critério amostras com os resultados mais expressivos e/ou estatisticamente diferentes entre si. Os sucos foram analisados em dias diferentes para cada cultivar. O primeiro teste consistiu na avaliação dos parâmetros cor, odor e sabor através de escala não-estruturada de 10 cm, onde o julgador deveria indicar com um traço na escala correspondente a intensidade do atributo avaliado.²⁶ Um segundo teste, de ordenação, avaliou a preferência global dos provadores os quais escalaram, em ordem crescente de sua preferência, as quatro amostras de suco recebidas.²⁷ A pesquisa e seus procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria.

Análise Estatística. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias através do teste de Tukey a um nível de 5% de significância, utilizando o software Statistica, versão 9.0. Os resultados apresentados nas tabelas representam os valores médios \pm o desvio padrão ($n = 3$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Polifenóis Totais. Os dados apresentados na Tabela 1 demonstram que o US afetou significativamente ($p < 0,05$) o conteúdo de PT do suco de uvas Isabel. Todos os tratamentos testados apresentaram elevação nos seus níveis de compostos fenólicos em relação à amostra controle, representando um acréscimo na ordem de 31% a 83% no conteúdo de PT. Sob uma densidade de potência de 113

W/cm² e tempo de exposição de 5 min (T5), as condições para a eliciação de polifenóis parecem estar mais favoráveis, indicando também que, para a cultivar Isabel, a resposta ao US encontra-se na dependência das variáveis densidade de potência e tempo de exposição ao US.

Tabela 1. Valores médios de polifenóis totais (PT) em sucos elaborados com uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)

Tratamento	Densidade de Potência de US	Tempo de exposição (min)	PT (mg EAG/L)		
			Isabel	Cabernet Sauvignon	
Controle	0	0	549.8 ± 19.0 e*	2314.3 ± 161.5 a	
T1	53 W/cm ²	1	872.1 ± 51.4 abc	2181.3 ± 188.7 a	
T2		5	721.7 ± 16.3 d	1938.4 ± 130.3 a	
T3		10	768.9 ± 2.7 cd	1760.6 ± 15.1 b	
T4	113 W/cm ²	1	841.1 ± 79.0 bcd	1904.5 ± 190.2 a	
T5		5	1007.2 ± 74.1 a	1985.8 ± 210.1 a	
T6		10	984.5 ± 51.6 ab	2027.0 ± 31.3 a	
			F	27.50	3.29
			p	<0.0001	0.0419

*Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Nenhuma comparação com a literatura foi possível devido à falta de dados em trabalhos com a mesma espécie vegetal, porém, em estudos prévios realizados com amendoins,^{15, 28} o uso do US também levou a um aumento nos compostos fenólicos e antioxidantes desta leguminosa. Nesses mesmos trabalhos, a densidade de potência e o tempo de exposição ao US não mostraram afetar de forma significativa os níveis de polifenóis, diferentemente dos nossos resultados, bem como, dos apresentados por Wu e Lin.²⁹ Neste estudo, o aumento na densidade de potência de 14 para 61 mW/cm³, também elevou a produção de compostos fenólicos

em cultura de células de *Panax ginseng* tratadas com US. Os autores atribuíram o efeito a um aumento na atividade enzimática necessária para a biossíntese destes compostos.

A cultivar Cabernet Sauvignon mostrou um comportamento distinto ao apresentado pela Isabel em resposta às diferentes doses de US utilizadas (Tabela 1). A quase totalidade dos tratamentos não resultou em variação nos valores de PT em relação ao encontrado para a amostra controle. Um maior tempo de exposição ao US (10 min) em densidade de potência de 53 W/cm² demonstrou ter ação negativa sobre o conteúdo fenólico das uvas, decorrendo em níveis menores de PT ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos.

O aumento no conteúdo de compostos fenólicos observado nos sucos de uvas Isabel pode ser resultado da indução do metabolismo de defesa celular da fruta em resposta ao uso do US. Conforme trabalhos anteriores, mesmo utilizando intensidades mais baixas, o US foi capaz de estimular a síntese de metabólitos secundários como compostos fenólicos totais e resveratrol em amendoins^{15, 28} e saponina,²⁹ shikonina³⁰ e taxol^{31, 32} em cultura de células.

Embora não totalmente elucidados, segundo Lin e Wu,³⁰ os mecanismos específicos pelos quais o US é capaz de ativar respostas de defesa de células vegetais em meio líquido estão provavelmente relacionados a efeitos biológicos, sendo esses, na sua maioria, atribuídos ao estresse mecânico (resultante do movimento dos fluidos) e eventos hidrodinâmicos, particularmente cavitação acústica e microagitação induzidos pelo US. O processo de cavitação, o qual envolve a formação de gases ou bolhas de vapor, aumentam a permeabilidade da membrana, desnaturam DNA e proteínas e modificam a morfologia da célula.¹⁶ Neste mesmo trabalho, a aplicação de US em cultura de células de *Panax ginseng*

levou ao aparecimento de dois dos principais eventos comumente observados no metabolismo de defesa vegetal e rotas de transdução de sinal, o aumento do fluxo de íons através da membrana e a produção de EROs como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A produção de H_2O_2 em plantas, conhecida como explosão oxidativa, ocorre como uma resposta de defesa ao ataque de patógenos e também atua como um mensageiro secundário para sinalizar subseqüentes reações de defesa em plantas.¹³ Estes fatos fortalecem as evidências de que o US pode estimular o metabolismo secundário de plantas desencadeando uma série de reações de defesa que incluem o acúmulo de metabólitos secundários defensivos como é o caso dos polifenóis.

Quanto ao comportamento apresentado pela uva Cabernet Sauvignon, sabe-se que a concentração e composição dos compostos fenólicos nas uvas tintas variam com as espécies, cultivares, época de maturação e uma ampla série de procedimentos e condições, tais como condução do vinhedo, clima, quantidade de radiação solar e grau de maturação.^{33, 34} Diferentemente da Isabel, conduzida em sistema latada e proveniente da região da Serra Gaúcha, onde as chuvas costumam ser excessivas exatamente na época que antecede a colheita (período crucial à maturação das uvas), a cultivar Cabernet Sauvignon, foi colhida na região da Campanha, com condições climáticas melhores que às da Serra, maior número de horas de sol, além de ser conduzida sob o sistema de espaldeira, o qual proporciona uma maior insolação dos cachos, o que leva a crer que houveram melhores condições de maturação no momento da vindima, proporcionando à Cabernet Sauvignon um melhor desenvolvimento de seu potencial fenólico ainda em campo, não respondendo mais a estímulos posteriores como os causados pelo emprego do US. Da mesma forma, o fato desta já possuir naturalmente uma alta concentração

de PT, conforme observado na amostra controle (Tabela 1), pode estar refletindo na baixa resposta da Cabernet Sauvignon ao tratamento com US, levando a um forte combate das EROs produzidas durante a sonicação, dificultando o estabelecimento de uma dose efetiva.

Antocianinas e Taninos. Todos os tratamentos com US resultaram em acréscimo significativo ($p < 0,05$) de antocianinas nos sucos da cultivar Isabel (Tabela 2). O aumento máximo observado foi de até 159% nos níveis dessas substâncias. O padrão de resposta obtido em relação às doses de US empregadas foi muito semelhante àquele observado nos níveis de PT da mesma cultivar, com a faixa de doses nos tratamentos T5 e T6, se mostrando mais efetiva na promoção de antocianinas. Entretanto, os demais tratamentos também contribuíram sobremaneira na elevação desses pigmentos, visto que a menor resposta, ainda assim, representou um aumento de cerca de 63% em relação à amostra controle. Já o observado para a cultivar Cabernet Sauvignon, apesar das maiores quantidades de antocianinas terem sido apresentadas por amostras sonicadas, estas não diferiram estatisticamente da amostra controle (Tabela 2). Em determinados tratamentos (T2, T3) as doses utilizadas levaram a efeitos deletérios, de modo a diminuir significativamente os níveis de antocianinas.

Os taninos das amostras sonicadas de uvas Isabel foram encontrados em quantidades até 75% (5.7 g/L) superiores em relação ao controle (3.5 g/L), o qual mostrou-se inferior a todos os demais tratamentos (Tabela 2). Ao contrário do observado para as amostras de Isabel, tanto o maior (7.6 g/L) quanto o menor conteúdo (4.5 g/L) de taninos nos sucos de Cabernet Sauvignon são provenientes de uvas sonicadas. A dose T5, até então entre as mais eficazes

em promover a biossíntese de compostos fenólicos, incluindo antocianinas, levou a um decréscimo de até 26% no conteúdo de taninos em relação à amostra controle.

Tabela 2. Valores médios de antocianinas totais e taninos em amostras de suco de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)

Tratamento	Densidade de Potência de US	Tempo de exposição (min)	Isabel		Cabernet Sauvignon	
			Antocianinas totais ^a	Taninos ^b	Antocianinas totais ^a	Taninos ^b
Controle	0 (controle)	0	154.3 ± 5.8 d*	3.5 ± 0.0 c	519.7 ± 38.9 ab	6.1 ± 0.2 bc
T1	53 W/cm ²	1	349.9 ± 32.4 ab	5.1 ± 0.0 ab	537.0 ± 23.1 a	7.6 ± 0.3 a
T2		5	251.5 ± 7.5 c	5.0 ± 0.3 ab	417.6 ± 42.7 bc	5.9 ± 0.1 bc
T3		10	313.2 ± 19.7 bc	4.6 ± 0.4 b	401.2 ± 27.9 c	6.6 ± 0.0 b
T4	113 W/cm ²	1	309.3 ± 22.4 bc	5.3 ± 0.4 ab	551.7 ± 9.1 a	5.8 ± 0.2 bc
T5		5	392.7 ± 13.9 a	5.3 ± 0.5 ab	525.4 ± 26.7 ab	4.5 ± 0.3 d
T6		10	399.9 ± 10.7 a	5.7 ± 0.3 a	485.1 ± 31.5 abc	5.8 ± 0.1 c
			F 55.53	12.76	8.40	49.32
			p < 0.0001	0.0002	0.0028	0.0000

*Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

^a valores em mg de cloreto de malvidina/L

^b valores em g/L

Além dos benefícios fisiológicos atribuídos principalmente à capacidade antioxidante de antocianinas e taninos, a presença desses fitonutrientes em produtos alimentares também está intimamente ligada às suas características sensoriais. A cor é um atributo importante relacionado com o apelo visual e qualidade do produto, e em suco de uva é devida principalmente à presença de antocianinas.³ Porém, a estabilização da cor do produto ao longo do tempo é garantida principalmente pela condensação entre antocianinas e taninos,³⁵ de forma que um aporte suficiente de taninos também é importante para a formação de pigmentos mais estáveis. Apesar de a Isabel ser uma das principais cultivares utilizada para a produção de suco de uva no Brasil, comumente necessita de

correções de cor através do corte com outras cultivares, como Concord e Bordô. Com a utilização do US, a necessidade de realizar correções no suco poderia ser minimizada. Além de sua contribuição à cor, os taninos também são determinantes para o sabor, visto que conferem amargor e adstringência ao alimento, em menor ou maior grau, conforme quantidade e seu grau de polimerização.³⁶ Dessa forma, alterações nas concentrações desses polifenóis, como as ocasionadas pelo US, podem influenciar sobremaneira nas características sensoriais do produto.

Como demonstrado anteriormente, o US levou a um aumento significativo nos níveis de PT nos sucos de uvas Isabel por estimular reações envolvidas no processo de defesa da fruta com consequente produção de metabólitos secundários. Os taninos e, sobretudo as antocianinas, se concentram em grande parte na casca da uva, primeiro e maior órgão a sofrer o impacto do US, podendo assim resultar numa maior biossíntese dessas fitoalexinas.

As eventuais perdas nos níveis de antocianinas observadas em algumas amostras de Cabernet Sauvignon podem estar relacionadas a reações de oxidação que levam a degradação dessas substâncias. Não atingindo a dose eficaz para o estímulo da biossíntese de compostos fenólicos, a produção de peróxido de hidrogênio, causador de descoloração em antocianinas,³⁷ pode também estar envolvido na deterioração desses flavonóides. O mesmo pode ter ocorrido com os taninos do tratamento T5 da cultivar Cabernet Sauvignon, o qual apresentou redução significativa nos seus valores em relação à amostra controle.

Sólidos Solúveis Totais, Acidez Total e pH. A Tabela 3 demonstra que a aplicação do US não levou a alterações nos valores de pH dos sucos de ambas cultivares testadas, bem como, nos teores de SST da cultivar Cabernet Sauvignon. A variedade vinífera possui uma maior concentração de SST e um maior valor de pH

comparada a variedade americana Isabel, fato característico para essas cultivares. A irradiação das uvas Isabel provocou um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de SST dos sucos, com os maiores valores correspondendo aos tratamentos T5 e T6.

Tabela 3. Valores médios de sólidos solúveis totais (SST), acidez total (AT) e pH de sucos de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon submetidas a diferentes doses de ultrassom (US)

Tratamento	Densidade de Potência de US	Tempo de exposição (min)	Isabel			Cabernet Sauvignon		
			SST ^a	AT ^b	pH	SST ^a	AT ^b	pH
Controle	0 (controle)	0	10.1 ± 0.2 b*	0.57 ± 0.0 c	3.2 ± 0.0	23.1 ± 0.7	0.28 ± 0.0 ab	4.1 ± 0.1
T1	53 W/cm ²	1	11.7 ± 0.5 a	0.76 ± 0.0 ab	3.3 ± 0.0	21.8 ± 0.3	0.27 ± 0.0 ab	4.1 ± 0.0
T2		5	12.0 ± 0.5 a	0.74 ± 0.0 ab	3.3 ± 0.1	20.7 ± 0.6	0.26 ± 0.0 b	4.0 ± 0.0
T3		10	12.0 ± 0.0 a	0.73 ± 0.1 ab	3.2 ± 0.0	21.5 ± 0.7	0.30 ± 0.0 a	4.0 ± 0.0
T4	113 W/cm ²	1	12.2 ± 0.7 a	0.70 ± 0.0 bc	3.2 ± 0.1	21.8 ± 0.0	0.28 ± 0.0 ab	4.1 ± 0.1
T5		5	13.1 ± 0.7 a	0.84 ± 0.0 a	3.4 ± 0.2	21.0 ± 1.5	0.28 ± 0.0 ab	4.1 ± 0.0
T6		10	13.0 ± 0.4 a	0.83 ± 0.0 a	3.2 ± 0.1	21.2 ± 1.0	0.29 ± 0.0 a	4.0 ± 0.0
			F 9.83	14.49	1.57	2.54	3.95	2.13
			p 0.0003	<0.0001	0.2261	0.0798	0.0180	0.1140

*Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

^a °Brix

^b valores em g% de ácido tartárico

Apesar do efeito, a densidade de potência e o tempo de exposição não acarretaram diferenças entre os tratamentos nos valores de SST.

Quanto a AT dos sucos, esta se mostrou mais elevada nas amostras Isabel provenientes de sonicção. O controle apresentou uma AT de 0,57g%, enquanto a análise das amostras irradiadas indicou um aumento mínimo de 23% na AT, e uma máxima concentração de 0,84 g% para o tratamento T5, o que representa 47% de acréscimo. Para as amostras de Cabernet Sauvignon, não houve variação na AT entre o controle e as amostras sonicadas, apenas algumas diferenças entre os tratamentos com US.

Em pesquisa sobre as principais alterações ocorridas na parede celular de uvas Isabel tratadas com métodos alternativos de descontaminação de frutas,³⁸ foi demonstrado, através de microscopia luminosa, que 5 min de exposição em sonda ultrassônica de 600 W (20 kHz) e amplitude de onda de 80%, levou a ligeira compressão do epicarpo, plasmólise de células subepidérmicas e colapso do mesocarpo. Isto leva a crer que a elevação nos níveis de SST do presente trabalho possivelmente seja decorrência do dano mecânico causado pelo processo de cavitação durante a propagação das ondas de US, ocasionando prejuízos à complexa mistura de polissacarídeos e outros polímeros que constituem a parede celular das bagas, aumentando o conteúdo de açúcares, pectinas, ácidos e outras moléculas livres no meio.

Em relação ao aumento da AT, segundo Zhao et al.,¹³ durante a ativação do metabolismo secundário, o elicitor promove uma acidificação citoplasmática, sendo não somente um resultado mas também um processo regulatório, o qual medeia outras respostas celulares. No entanto, é pouco provável que esta acidificação tenha sido significativa no aumento da AT, visto que o citosol representa cerca de 5 a 10% do volume total da célula. O dano mecânico inicial causado nas paredes celulares, pode ter iniciado ao longo dos 5 dias de incubação, uma resposta fisiológica que levou a produção de etileno e ao aumento da atividade das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase. A consequente quebra de moléculas de pectina e a liberação de ácido galacturônico pode ter elevado a AT das uvas. Apesar do acréscimo na acidez, o pH manteve-se inalterado nos sucos, resultado do efeito tamponante exercido pelos ácidos majoritários presentes na uva, sobretudo o ácido tartárico.

Estes resultados reforçam a hipótese do US atuar como um elicitador abiótico capaz de promover a biossíntese de metabólitos secundários a partir do estresse mecânico gerado, visto que as maiores concentrações de PT encontradas nos sucos de uvas Isabel pertencem à amostras que também apresentaram os maiores valores de SST e AT (T5 e T6).

Análise Sensorial. A avaliação dos atributos sensoriais cor, odor e sabor dos sucos de uvas Isabel está exposta na Figura 1. Neste teste, a análise do quesito cor indicou que, de maneira geral, as amostras provenientes de sonicação apresentaram coloração característica mais intensa em relação ao controle ($p < 0,05$). A amostra submetida a 10 min de exposição ao US a uma densidade de potência de 113 W/cm^2 (T6) foi apontada pelos provadores como a de cor mais intensa entre as avaliadas. Este fato demonstra que a maior concentração de pigmentos antocianinas na amostra T6 (Tabela 2), influenciou significativamente a coloração do suco, permitindo a identificação pelos julgadores.

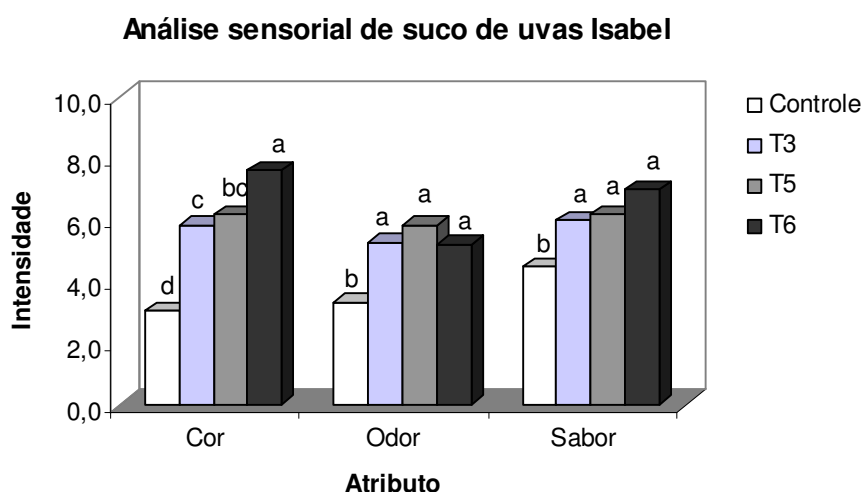


Figura 1. Medida da intensidade dos atributos cor, odor e sabor de suco de uvas Isabel submetidas ou não ao ultrassom, através de escala não-estruturada de 10 cm (colunas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey).

Nos parâmetros odor e sabor, as distintas doses de US não refletiram em diferenças perceptíveis pelos provadores, porém a intensidade dos atributos nas amostras sonicadas foi significativamente superior ao do controle. Os sucos indicados como tendo maior intensidade de odor (T5) e sabor (T6), também são as amostras mais expressivas em conteúdo de PT, conforme observado na Tabela 1.

Através do teste de ordenação (Tabela 4), a amostra T6 foi apontada pelo painel de avaliadores como a preferida entre os sucos de uvas Isabel. Entretanto, o somatório obtido pela melhor colocada, não diferiu significativamente do alcançado pelas demais amostras sonicadas, sendo estas distintas somente da amostra controle.

Estes resultados demonstram que o acréscimo promovido pelo US no conteúdo de antocianinas, taninos e compostos fenólicos de maneira geral, afetou diretamente as características sensoriais dos sucos de uvas Isabel de forma a melhorar a qualidade do produto e obter a preferências dos provadores.

Tabela 4. Módulo das diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação de preferência em sucos de uvas Isabel tratadas ou não com ultrassom

Amostra	Controle (C)	T3	T5	T6
Somatório total ^a	74 b	114 a	112 a	128 a
Diferença x C		40*	38*	54*
Diferença x T3			2	14
Diferença x T5				16
T = 4				
P = 43				
Valor crítico tabelado = 31				

*significativo ao nível de 5% se a diferença entre as somas das ordens de duas amostras diferirem por um valor maior ou igual ao valor crítico tabelado (tabela de Newel – Macfarlane)

^a maior somatório corresponde a maior preferência

T = tratamentos

P = provadores

A análise sensorial realizada nas amostras de suco de uvas Cabernet Sauvignon revelou diferença significativa somente quanto ao atributo sabor (Figura 2)

sob um nível de significância de 10%. A amostra T6, mesmo não diferindo do controle, mostrou a maior intensidade de sabor, sendo também apontada como a preferida pelo teste de ordenação (Tabela 5).

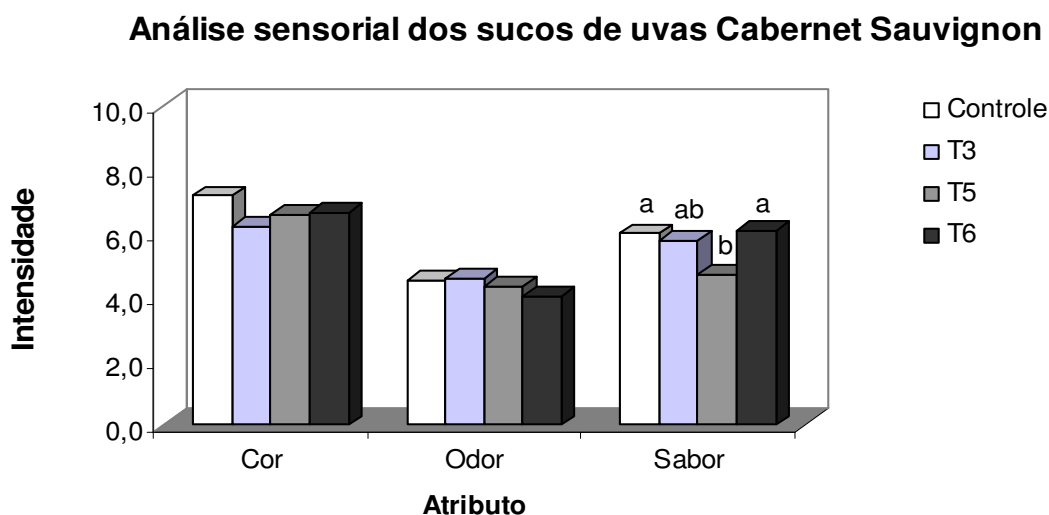


Figura 2. Medida da intensidade dos atributos cor, odor e sabor de suco de uvas Cabernet Sauvignon submetidas ou não ao ultrassom, através de escala não-estruturada de 10 cm (colunas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 10% de significância pelo teste de Tukey).

Os parâmetros avaliados pelas análises físico-químicas nas amostras de Cabernet, também não apontaram grandes diferenças em relação ao controle, tal como o resultado da análise sensorial, porém, a amostra T5, última na preferência dos julgadores, também foi a que apresentou redução de 26% no teor de taninos, fato que pode ter influenciado significativamente na qualidade final do produto.

Como conclusão geral podemos afirmar que a aplicação do US causou aumento significativo no teor de PT do suco de uvas Isabel, onde variações nas doses de US também acarretaram diferenças na concentração de polifenóis. O conteúdo de antocianinas totais e taninos dos sucos da cultivar Isabel foram mais elevados ($p < 0,05$) em amostras sonicadas, não sendo encontradas diferenças

Tabela 5. Módulo das diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação de preferência em sucos de uvas Cabernet Sauvignon tratadas ou não com ultrassom

Amostra	Controle (C)	T3	T5	T6
Somatório total ^a	98	111	96	115
Diferença x C ^{ns}		13	2	17
Diferença x T3 ^{ns}			15	4
Diferença x T5 ^{sn}				19
T = 4				
P = 43				
Valor crítico tabelado = 31				

^{ns} não significativo ao nível de 5% se a diferença entre as somas das ordens de duas amostras diferirem por um valor menor ao valor crítico tabelado (tabela de Newel – Macfarlane)

^a maior somatório corresponde a maior preferência

T = tratamentos

P = provadores

muito expressivas quanto a estes parâmetros em sucos de uvas Cabernet Sauvignon. SST e AT também foram influenciadas pelo uso do US, principalmente na cultivar Isabel que apresentou um aumento significativo desses valores nas amostras irradiadas. O US melhorou as características sensoriais dos sucos, sendo as amostras sonicadas, as preferidas pelos julgadores. De maneira geral, tempos de exposição de 5 e 10 min de US em densidade de potência de 113 W/cm² foram mais eficazes em estimular a síntese de compostos fenólicos em sucos de uvas Isabel, resultando também em melhorias na qualidade sensorial do produto.

ABREVIÇÕES UTILIZADAS

Abs = absorbância

AT = acidez total

EAG = equivalentes de ácido gálico

ERO= espécies reativas de oxigênio

FD = fator de diluição

PT = polifenóis totais

SST = sólidos solúveis totais

US = ultrassom

AGRADECIMENTOS

À Vinícola Velho Amâncio pela doação das amostras.

LITERATURA CITADA

- (1) Netzel, M.; Netzel, G.; Kammerer, D. R.; Schieber, A.; Carle, R.; Simons, I.; Bitsch, I.; Bitsch, R.; Konczak, I. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* **2007**, 8, 365–372.
- (2) Puértolas, E.; Hernández-Orte, P.; Sladaña, G.; Álvarez, I.; Raso, J. Improvement of winemaking process using pulsed electric fields at pilot-plant scale. Evolution of chromatic parameters and phenolic content of Cabernet Sauvignon red wines. *Food Res. Int.* **2010**, 43, 761–766.
- (3) Tiwari, B. K.; Patras, A.; Brunton, N.; Cullen, P. J.; O'Donnell, C. P. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice *Ultrason. Sonochem.* **2010**, 17, 598-604.
- (4) Shahidi, F.; Naczk, M. In *Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications*. Lancaster: Technomic. Publ. Co. 1995; 331 p.
- (5) Frankel, E. N.; Bosanek, C. A.; Meyer, A. S.; Silliman, K.; Kirk, L. L. Commercial grape juice inhibits the *in vitro* oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 834-838.
- (6) Vinson, J. A.; Jang, J.; Yang, J.; Dabbagh, Y.; Liang, X.; Serry, M.; Proch, J.; Cai, S. Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful *in vitro* antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their

- oxidative resistance after ex vivo spiking in human plasma. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 2502-2504.
- (7) Romero-Perez, A. I. et al. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 20, 1533-1536.
- (8) Dávalos, A.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chem.* **2005**, 93, 325-330.
- (9) Sistrunk, W. A.; Gascoigne, H. L. Stability of color in Concord grape juice and expression of color. *J. Food Sci.* **1983**, 48, 430-435.
- (10) Ebel, J.; Mithöfer, A. Early events in the elicitation of plant defense. *Planta*, **1998** 206, 335–348.
- (11) Rezaei, A.; Ghanati, F.; Behmanesh, M.; Mokhtari-Dizaji, M. Ultrasound-potentiated salicylic acid–induced physiological effects and production of taxol in hazelnut (*Corylus avellana L.*) cell culture. *Ultrasound Med. Biol.* **2011**, 37, 11, 1938–1947.
- (12) Qian, Z. G.; Zhao, Z. J.; Xu, Y. F.; Qian, X. H.; Zhong, J. J. Novel chemically synthesized salicylate derivative as an effective elicitor for inducing the biosynthesis of plant secondary metabolites. *Biotechnol Progr.* **2006**, 22, 331–333.
- (13) Zhao, J.; Davis, L. C.; Verpoorte, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol. Adv.* **2005**, 23, 283–333.
- (14) Sales, J. M.; Resurreccion, A. V. A. Maximizing phenolics, antioxidants and sensory acceptance of UV and ultrasound-treated peanuts. *Food Sci. Technol.* **2010**, 43, 1058-1066.

- (15) Rudolf, J. R.; Resurreccion, A. V. A. Elicitation of Resveratrol in Peanut Kernels by Application of Abiotic Stresses. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 10186-10192.
- (16) Rudolf, J. L.; Resurreccion, A. V. A. Optimization of *trans*-resveratrol concentration and sensory properties of peanut kernels by slicing and ultrasound treatment, using response surface methodology. *J. Food Sci.* **2007**, 72, 7, 450-462.
- (17) Lin, L.; Wu, J.; Ho, K-P.; Qi, S. Ultrasound-induced physiological effects and secondary metabolite (saponin) production in *Panax ginseng* cell cultures. *Ultrasound Med. Biol.* **2001**, 27, 8, 1147–1152.
- (18) Sakakibara, M.; Wang, D.; Takahashi, R.; Takahashi, K.; Mori, S. Influence of ultrasound irradiation on hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase. *Enzyme Microb. Tech.* **1996**, 18, 444–448.
- (19) Joersbo, M.; Brunstedt, J. Sonication: a new method for gene transfer to plants. *Physiol. Plant.* **1992**, 85, 230–234.
- (20) Barboza, J. C. S.; Serra, A. A. Ultra-som(l): Influência do ultra-som na química. *Quim. Nova.* **1992**, 15, 302-316.
- (21) Sautter, C. K. Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2005**, 154p.
- (22) Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, 16, 3, 144-158.
- (23) Di Stefano, R.; Cravero, M. C.; Gentilini, N. Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini. *L'Enotecnico.* **1989**, 83-89.

- (24) Ribéreau-Gayon, P.; Stonestreet, E. Le dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Anal.* **1966**, 48, 188-192.
- (25) Amerine, M.A.; Ough, C.S. *Methods for the analysis of musts and wine*. New York: John Wiley and Sons., **1987**. 341p.
- (26) Anzaldia-Morales, A. Las pruebas sensoriales. In *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y La práctica*. Editorial Acribia: Zaragoza, España, 2005; 198 p.
- (27) Instituto Adolfo Lutz. Análise sensorial. In *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, edição IV (versão eletrônica); Zenebon, O., Pascuet, N. S., Tiglea, P. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, Brasil, 2008; 1020 p.
- (28) Sales, J. M.; Resurreccion, A. V. A. Maximizing phenolics, antioxidants and sensory acceptance of UV and ultrasound-treated peanuts. *Food Sci. Technol.* **2010**, 43, 1058-1066.
- (29) Wu, J.; Lin, L. Elicitor-like effects of low-energy ultrasound on plant (*Panax ginseng*) cells: induction of plant defense responses and secondary metabolite production. *Applied Microbiol. Biotechnol.* **2002**, 59, 51-57.
- (30) Lin, L.; Wu, J. Enhancement of shikonin production in single and two-phase suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon* cells using low-energy ultrasound. *Biotechnol Bioeng.* **2002**, 78, 81–88.
- (31) Wang, J. W.; Zheng, L. P.; Wu, J. Y.; Tan, R. X. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide.* **2006**, 15, 351–358.

- (32) Wu, J.; Ge, X. Oxidative burst, jasmonic acid biosynthesis, and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus chinensis* cell suspension cultures. *Biotechnol Bioeng.* **2004**, 85, 714–721.
- (33) Jackson, R. S. In *Wine Science. Principles and applications*. Ed. Academic Press: Canada, 1994; 474p.
- (34) Mazza, G.; Fukumoto, L.; Delaquis, P. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 4009-4017.
- (35) Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. Evolution of phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. ageing in bottle. *Food Chem.* **2005**, 95, 405-412.
- (36) Vidal, S.; Francis, L.; Noble, A.; Kwiatkowski, M.; Cheynier, V.; Waters, E. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 1, 57–65.
- (37) Malacrida, C. R.; Motta, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, **2006**, 24, 1, 59-82.
- (38) Fava, J.; Hodara, K.; Nieto, A.; Guerrero, S.; Alzamora, S. M.; Castro, M. A. Structure (micro, ultra, nano), color and mechanical properties of *Vitis labrusca* L. (grape berry) fruits treated by hydrogen peroxide, UV–C irradiation and ultrasound. *Food Res. Int.* **2011**, 44, 2938–2948.

Nota: Agradecimento à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão de bolsa de mestrado.

4 CONCLUSÃO

O estudo sobre a utilização do US no tratamento pós-colheita de uvas permitiu as seguintes conclusões:

- A sonicação causou um aumento expressivo nos níveis de polifenóis totais, antocianinas totais e taninos dos sucos de uvas Isabel.
- Para a cv. Cabernet Sauvignon, a maioria dos tratamentos com US não acarretou em alteração no conteúdo de polifenóis totais e antocianinas, havendo pequena variação no teor de taninos dos sucos.
- Ocorreu aumento de sólidos solúveis totais e acidez total dos sucos de uvas Isabel em decorrência da sonicação.
- Sensorialmente, os parâmetros cor, odor e sabor foram significativamente mais acentuados em relação ao controle em suco de amostras sonicadas de uvas Isabel, conseqüentemente estes sucos obtiveram a preferência dos provadores.
- Para a maioria dos parâmetros analisados, as alterações em resposta ao US, mostraram-se dependentes da dose irradiada.
- De maneira geral, os tempos de exposição de 5 e 10 minutos numa densidade de potência de 113 W/cm^2 foram mais eficientes em promover o aumento de compostos fenólicos e a melhoria da qualidade sensorial dos sucos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALASALVAR, C.; GRIGOR, J. M.; ZHANG, D.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1410–1416, 2001.

ALVES, A. O. **Presença de trans-resveratrol em geléias de uva e sua relação com a radiação UV**. 2006. 142f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

APOSTOL I.; HEINSTEIN P. F.; LOW P. S. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells. Role in defense and signal transduction. **Plant Physiology**. v. 90, n.1 p. 109–116, 1989.

AUGUSTINI, B. C. **Caracterização de vinhos de uvas *Vitis labrusca* por meio do seu conteúdo em aminoácidos e amins bioativas**. 2011. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

BAKHSI, D.; ARAKAWA, O. Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. **Journal of Applied Horticulture**. v. 8, n. 2. p. 101-104, Jul/Dec., 2006.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J., MARIN, F. R., ORTUNO, A.; DEL RIO, J. A. Uses and properties of citrus flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 45, p. 4505–4515, 1997.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**. v. 56, p. 317–333, 1998.

CABRITA, M. J.; SILVA, R. S.; LAUREANO, J. Os compostos fenólicos das uvas e dos vinhos. In: Seminário Internacional de Vitivinicultura 1., 2003, Ensenada , **Anais**. Cidade do México, 2003.

CAMARGO, H. A. Porta-enxertos e cultivares – Sistema de Produção 2, Versão Eletrônica, janeiro/2003. Uvas Americanas e Híbridas para Processamento em Clima Temperado. **EMBRAPA Uva e Vinho**, 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaAmericanaHibridaClimaTemperado/cultivar.htm>. Acesso em: 18 Out. 2011.

CAO, S.; HU, Z.; PANG, B.; WANG, H.; XIE, H.; WU, F. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. **Food Control**. v. 21, p. 529-532, 2010.

CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. 3. ed. São Paulo: Globo, 1991. 215 p.

CHEN, B.; HUANG, J.; WANG, J.; HUANG, L. Ultrasound effects on the antioxidative defense systems of *Porphyridium cruentum*. **Colloid Surface B: Biointerfaces**. v. 61. p. 88–92. 2008.

DELOIRE, A.; KRAEVA, E.; DAI, G. H.; RENAULT, A. S.; ROCHARD, J.; CHATELAIN, C.; CARBONNEAU, A.; ANDARY, C. Les mécanismes de défense de la vigne. Des utilisations possibles pour lutter contre les pathogènes. **Phytoma**, v. 510, p. 46-51, 1998.

EMBRAPA, Uva e vinho. **A Vitivinicultura Brasileira: realidades e perspectivas**. 2010a. Disponível em: < <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura/>> Acesso em: 03 Dez. 2011.

EMBRAPA, Uva e vinho. **A Vitivinicultura Brasileira: panorama 2010**. 2010b. Disponível em: < <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/prodvit2010.pdf>> Acesso em: 04 Dez. 2011.

FREGONI, M. **Viticultura di qualità**. Lungodige Galtorossa: Informatore Agrário, 1998. 707 p.

GIOVANNINI, E. **Uva agroecológica**. Porto Alegre: Renascença, 2001. 136p.

GUERRA, C. C.; MANDELLI, F.; TONIETTO, J.; ZANUS, M. C.; CAMARGO, U. A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. 2009. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/documentos/doc048.pdf>>. Acesso em: 13 Dez. 2011.

GRIGOLETTI Jr., A.; SÔNEGO, O.R. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV. **Circular Técnica 17**, 37p., out. 1993.

HIDALGO, L. **Tratado de viticultura general**. Madrid: Mundi-Prensa, 1993. 983 p.

IBRAVIN, Instituto Nacional do Vinho. 2011a. **Notícias**. Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/int_noticias.php?id=762&tipo=N> Acesso em: 18 jul. 2011.

IBRAVIN, Instituto Nacional do Vinho. 2011b. **A Viticultura Brasileira**. Disponível em:, <http://www.ibravin.org.br/brasilvitivinicola.php>> Acesso em: 18 jul. 2011.

JACKSON , R. S. **Wine Science. Principles and applications**. Canada: Ed. Academic Press. 1994, 474p.

JOERSBO, M.; BRUNSTEDT, J. Protein synthesis stimulated in sugar beet cells and protoplasts. **Ultrasound in Medicine & Biology**. v.16, p. 719–724, 1990.

KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D. U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, p. 261–266, 2004.

LAROUSSE DO VINHO. Consultoria Charlotte Marc e Ricardo Castilho. São Paulo: Larousse do Brasil, 2004. 381 p.

LEÃO, P. C. S.; SOARES, J. M. **A Viticultura do Semi-Árido Brasileiro**. EMBRAPA Semi-Árido, Petrolina, 2000. 366p.

LEITE, T. T. **Tratamento pós-colheita em uvas e seus efeitos nos vinhos das variedades Chardonnay e Cabernet Sauvignon**. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2009.

LIN, L. D.; WU, J. Y.; HO, K. P.; QY, S. Y. Ultrasound-induced physiological effects and secondary metabolite (saponin) production in *Panax ginseng* cell cultures. **Ultrasound Medicine and Biology**. v. 27, p. 1147-1152, 2001.

LIU, Y.; TAKATSUKI, H.; YOSHIKOSHI, A.; WANG, B.; SAKANISHI, A. Effects of ultrasound on the growth and vacuolar H1-ATPase activity of aloe arborescens callus cells. **Colloid Surface B: Biointerfaces**. v. 32, p. 105–116, 2003.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, p. 207–219, 2007.

MAIER, T.; SCHIEBER A.; KAMMERER D.R.; CARLE R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**. v. 112, p. 551–559, 2009.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinions in Lipidology**. v. 16, p. 77–84, 2005.

MANFROI, V. **Taninos enológicos e goma arábica na composição de qualidade sensorial do vinho Cabernet Sauvignon**. 2007. 132f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2007.

MAZZA, G.; FUKUMOTO, L.; DELAQUIS, P. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 47, n. 10, p. 4009-4017, 1999.

MENKE, F. L. H.; PARCHAMANN, S.; MUELLER, M. J.; KIJNE, J.W.; MEMELINK, J. Involvement of the octadecanoid pathway and protein phosphorylation in fungal elicitors-induced expression of terpenoid indole alkaloid biosynthetic gene in *Catharanthus roseus*. **Plant Physiology**. v. 119, p. 1289-1296, 1999.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**. v. 52, p. 673–751, 2000.

MILLER, D. L.; WILLIAMS, A. R.; MORRIS, J. E.; CHRISLER, W. B. Sonoporation of erythrocytes by lithotripter shock waves in vitro. **Ultrasonics** v. 36, p. 947–952. 1998.

NASCIMENTO, L. C.; LIMA, L. C. O.; PICOLLI, R. H.; FIORINI, J. E.; DUARTE, S. M. S.; SILVA, J. M. S. F.; OLIVEIRA, N. M. S.; VEIGA, S. M. O. M. Ozônio e ultra-som:

processos alternativos para o tratamento do café despulpado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 282-294, abr.-jun., 2008.

NETZEL M.; NETZEL G.; KAMMERER D.R.; SCHIEBER A.; CARLE R.; SIMONS L.; BITSCH I.; BITSCH R.; KONCZAK I. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 8, p. 365–372, 2007.

NYBORG WL, ZISKIN MC. **Biological effects of ultrasound**. New York: Churchill Livingstone Inc., p. 12-33. 1985.

PARK Y.K.; PARK E.; KIM J.; KANG M. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. **Mutation Research**. v. 529, p. 77–86, 2003.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATHI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. Pompéia: Ceres, 1995. cap. 22, p. 417-453.

POMMER, C. V.; TERRA, M. M.; PIRES, E. J. P. Cultivares de videira. In: POMMER, C. V. Ed. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 109-294, 2003.

PÖTTER, G. H. **Efeito da desfolha e do armazenamento de cachos em câmara fria antes do esmagamento em uvas e vinhos Chardonnay e Cabernet Sauvignon da Região da Campanha, RS**. 2009. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2009.

PUUPPONEN-PIMIÄ , R.; NOHYNEK, L.; MEIER, C.; KÄHKÖNEN, M.; HEINONEN, M.; HOPIA, A., et al. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of Applied Microbiology**. v. 90, p. 494–507, 2001.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**. v. 2, n.4, p. 152-159, 1997.

RICHTER, G. T. **Nitrogênio total em pecíolo de videiras e nitrogênio amoniacal, assimilável e total em uvas e mostos**. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2008.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.1, p.115-121, 2000.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Cabernet Sauvignon para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.22, n. 2, p. 192-198, 2002.

ROMBALDI, C. V.; BERGAMASQUI, M.; LUCCHETTA, L.; ZANUZO, M.; SILVA, J. A. Produtividade e qualidade de uva, cv. Isabel, em dois sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 89-91, 2004.

RUDOLF, J. R.; RESURRECCION, A. V. A. Elicitation of Resveratrol in Peanut Kernels by Application of Abiotic Stresses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 10186-10192, 2005.

RUSSOWSKI, D. **Produção de Valepotriatos em Culturas Líquidas de Plantas de *Valeriana glechomifolia* Meyer (Valerianaceae)**. 2007. 157f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

SALES, J. M.; RESURRECCION, A. V. A. Maximizing phenolics, antioxidants and sensory acceptance of UV and ultrasound-treated peanuts. **Food Science and Technology**. v. 43, p. 1058-1066, 2010.

SAKAKIBARA, M.; WANG, D.; TAKAHASHI, R.; TAKAHASHI, K.; MORI, S. Influence of ultrasound irradiation on hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase. **Enzyme and Microbial Technology**.v.18, p. 444–448. 1996.

SAMMAN, S.; LYONS WALL, P. M.; COOK, N. C. Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives. In C. A. Rice-Evans & L. Packer (Eds.), **Flavonoids in health and disease**. New York: Marcel Dekker. p. 469–482, 1998.

SAUTTER, C. K. **Indução pós-colheita da síntese de resveratrol e de resistência de frutos a podridões**. 2008. 79f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2008.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SIMÕES, M. O.; GUERRA, M. P. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. 2004. 1102 p.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMAA, A.; ARUOMAB, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, n. 1, p. 200-213, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

WILLIAMS, A. R. **Ultrasound: Biological effects and potential hazards**. London: Academic Press, 1983. 93 p.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIOWER, W. N. **General viticulture**. Berkeley: University of California Press, 1974. 710 p.

WU, J.; LIN, L. Elicitor-like effects of low-energy ultrasound on plant (*Panax ginseng*) cells: induction of plant defense responses and secondary metabolite production. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 59, p. 51-57, 2002.

ZANUZ, M.C. **Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva**. 1991. 177p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.

ZHAO, J.; DAVIS, L.C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**. v. 23, p. 283-333, 2005.

6 ANEXOS

Anexo A - Normas para publicação de artigos científicos a serem submetidos à Revista Journal of Agricultural and Food Chemistry

Scope, Policy, and Instructions for Authors

(Revised January 2012)

Contents (click on the topic)

Submission of Manuscripts | Journal Scope | Manuscript Types | Ethics, Conflict of Interest | Editorial Peer Review Process |

Manuscript Preparation – Title and Authorship – Abstract and Keywords – Introduction – Materials and Methods – Results and Discussion – Abbreviations and Nomenclature – Safety – Acknowledgment – Literature Cited – Tables and Artwork – Table of Contents Graphics – Supporting Information – Currently Acceptable Word-Processing Packages – Word-Processing Details

Revisions and Resubmissions | Journal Publishing Agreement | Proofs and Reprints | Reporting Specific Data

IMPORTANT MANUSCRIPT SUBMISSION REQUIREMENTS

Manuscripts and revised manuscripts must be submitted via the ACS Paragon Plus Web site (<http://paragonplus.acs.org/login>). E-mailed submissions and hardcopy submissions will not be processed. An overview of and complete instructions for the Web submission process are available at the ACS Paragon Plus Web site.

The Paragon Plus Web site employs state-of-the-art security mechanisms to ensure that all electronically submitted papers are secure. These same security mechanisms are also utilized throughout the peer-review process, permitting access only to editors and reviewers who are assigned to a particular paper.

When submitting, please be aware of the following requirements.

- All manuscripts must be accompanied by a **cover letter** that includes an **explanation of the manuscript's significance**, including its originality, its contribution to new knowledge in the field, and its relevance to research in agricultural and food chemistry.
- The system requires authors to supply the names, e-mail addresses and affiliations of at least four recommended reviewers. The recommended reviewers should not be anyone who is or, in the previous two years, has been a former adviser/advisee, colleague in the same institution, research collaborator, and/or coauthor of papers and patents or in any other way has a conflict of interest.
- The author's preference for manuscript category is indicated during the submission process. However, the final decision on the category under which the manuscript will be listed lies with the Editor.
- The manuscript abstract and text must appear in a single, double-spaced column; lines in the abstract and text must be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left.

- All coauthors listed on the title page of the manuscript must be entered into the Paragon Plus System at step 2 in the manuscript submission process. Only one corresponding author is allowed for each manuscript in Paragon Plus. Additional corresponding authors may be designated on the manuscript title page.
- Authors selecting the *Just Accepted* manuscript option when submitting should be sure that the form of author and coauthor names as entered into the Paragon Plus System matches the form on the manuscript title page.
- References must be numbered in the order in which they appear in the text.
- All of the text (including the title page, abstract, all sections of the body of the paper, figure captions, scheme or chart titles and footnotes, and references) and tabular material should be in one file, with the complete text first followed by the tabular material.
- A separate conclusion section is not to be used. Conclusions should be incorporated into the results and discussion section. Complete instructions for manuscript preparation and a Journal Publishing Agreement form are available at the *Journal's* Web site. Please conform to these instructions when submitting manuscripts.

Authors whose manuscripts are published in the *Journal* will be expected to review manuscripts submitted by other researchers from time to time.

JOURNAL SCOPE

The *Journal of Agricultural and Food Chemistry* publishes high-quality, cutting edge original research representing complete studies and research advances dealing with the chemistry and biochemistry of agriculture and food. The *Journal* also encourages papers with chemistry and/or biochemistry as a major component combined with biological/sensory/nutritional/toxicological evaluation related to agriculture and/or food. As a general rule, manuscripts dealing with herbal remedies or those testing specific compounds in cell-based assays related to disease states (e.g., "anticancer" activity) will no longer be considered within the scope of the *Journal* and should be submitted elsewhere. Manuscripts describing properties of extracts, without detailing the chemical composition of the extracts responsible for the described properties, will generally not be accepted for review.

The *Journal* is organized into the following sections:

Analytical Methods
Bioactive Constituents
Biofuels and Bioproducts Chemistry
Chemical Aspects of Biotechnology/Molecular Biology
Chemical Aspects of Food Safety
Chemical Changes Induced by Processing/Storage
Chemical Composition of Foods/Feeds
Crop and Animal Protection Chemistry
Environmental Chemistry
Flavors and Aromas/Chemosensory Perception
Food Chemistry/Biochemistry

MANUSCRIPT TYPES

Research articles must report **original research that is expected to have a definable impact on the advancement of science and technology, incorporating a significant component of innovative chemistry.** Originality will be documented by novel experimental results, theoretical treatments, interpretations of data, and absence of prior publications on the same/similar topics. Fragmentation of work into an incremental series of manuscripts is not acceptable.

Expedited Handling. There is no separate Rapid Communications, Notes, or Letters section. However, manuscripts describing results deemed to be highly important and urgent in a field of research will be considered for expedited processing and review. **Only manuscripts reporting complete research, as opposed to preliminary results, will be considered.** A request for expedited handling, along with justification for the request, must be included in the cover letter accompanying the manuscript.

Review articles will be considered that summarize information in a field in which the literature is scattered and/or treat published data or other information so as to provide a new approach or stimulate further research. Authors considering the preparation of a review **should submit a synopsis to the Editor** before submission to establish whether the manuscript will meet these guidelines.

Perspectives, which explore needs and opportunities in agricultural and food chemistry in a less technical format than a review article, will be considered. Authors should **contact the Editor** to outline the area to be covered before submitting a Perspectives manuscript. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 7587–7592.

Comments related to published papers will be considered from readers if the correspondence is **received within six months of the date of publication of the original paper**; the authors of the original paper will be given the **opportunity to reply** to such comments within two months, if they so desire. Both comments and replies should not exceed 1000 words each, including citations, and will be published consecutively in the same issue of the *Journal* after peer review. For examples, see *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7213–7214 and *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7215–7216.

Symposia or Topical Collections. The Editor will consider publication of a series of manuscripts reporting or synthesizing original research that are presented in a symposium or otherwise clustered around a single topic. Prospective organizers should **contact the Editor well in advance** to determine whether the subject matter conforms to the *Journal's* goals, criteria, and available space and to obtain specific instructions for submission of the manuscripts. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5983–6184. Each manuscript will be subject to the normal peer-review process.

Additions/Corrections. Corresponding authors wishing to submit a correction to a paper already published in print should submit the item via the Paragon Plus Web site. In your cover letter, include the manuscript number of the paper to be corrected. In the correction document, include the full title of the original publication, all author names, the volume and page numbers of the print publication, the original manuscript number, and a brief description of the correction(s) needed. If a figure is to be corrected, please include the figure in the correction document. Please note that the Editor has final approval as to whether an addition/correction will be published.

ETHICS, CONFLICT OF INTEREST

Authors and coauthors are responsible for the integrity of their manuscripts. The Editor may impose a two year submission moratorium on authors and coauthors that are found to be in violation of the ethical guidelines.

Authors and coauthors should familiarize themselves by reading the entire *Ethical Guidelines to Publication of Chemical Research*, which is available at the *Journal's* Web site.

A statement describing any financial conflicts of interest or lack thereof is published with each manuscript. During the submission process, the corresponding author must provide this statement on behalf of all authors of the manuscript. The statement should describe all potential sources of bias, including affiliations, funding sources, and financial or management relationships, that may constitute conflicts of interest (please see <http://pubs.acs.org/ethics>, ACS Ethical Guidelines). The statement will be published in the final paper. If no conflict of interest is declared, the following statement will be published in the paper: "The authors declare no competing financial interest."

EDITORIAL PEER REVIEW PROCESS

Peer review is used to help ensure the **highest possible quality** in published manuscripts. For a discussion of this, see "The Importance of Peer Review" by H. L. Wheeler and W. B. Wheeler, *J. Agric. Food Chem.* (Editorial) **2006**, *54*, 8983–8983. Scientists with expertise in the subject matter being treated will evaluate the manuscript for validity of the experimental design and results, originality, significance, and appropriateness to the *Journal*. **The Editors may exercise their prerogative to decline a manuscript without peer review if that paper is judged to be outside the scope of the *Journal* (lacks significant chemistry/biochemistry), poorly written or formatted, fragmentary and marginally incremental, or lacking in significance.** Manuscripts describing properties of extracts, without detailing the chemical composition of the extracts responsible for the described properties, will generally not be accepted for review.

All manuscripts submitted are reviewed and handled by the Editor-in-Chief or assigned to one of the Associate Editors. The Associate Editor and Editorial Assistant are then responsible for the assigned manuscripts, including evaluating the content and format of the paper, selecting reviewers, monitoring the progress of the review process, evaluating the comments of reviewers and forwarding them to the authors for their response, communicating ultimate acceptance or rejection to the corresponding author, and carrying out a final check of accepted manuscripts for appropriate format and style.

Typically, three reviewers are selected per paper on the basis of the subject matter, available expertise, and the Editor's knowledge of the field. Potential reviewers for each paper are identified by various means, including a computerized search of the subject area. Authors must submit the names and addresses (including e-mail addresses) of at least four potential reviewers who do not have conflicts of interest with the authors or manuscript content; however, the Editors are under no obligation to use specific individuals. Reviewers are normally asked to provide their assessments within two to three weeks. Anonymous copies of the reviews and the Editor's decision regarding the acceptability of the manuscript are sent to the corresponding author. If the reviewers' evaluations of the manuscript disagree, or if reviewer's and Editor's comments are not satisfactorily addressed by the authors, the Editor may reject the manuscript or select additional reviewers.

These additional reviews are used by the Editor to assist in reaching the final decision regarding disposition of the manuscript.

The obligations of the Editors and Reviewers are outlined in the *Ethical Guidelines*. Aids for reviewers titled “A Guide to a Review” and “Components of a Manuscript to be Considered in a Review” are available at the Reviewer Information Web site (<http://pubs.acs.org/4authors>).

Just Accepted Manuscripts. *Just Accepted* manuscripts are peer-reviewed, accepted manuscripts that are published on the ACS Publications Web site prior to technical editing, formatting for publication, and author proofing—usually within 30 minutes to 24 hours of acceptance by the editorial office. During the manuscript submission process, authors can choose to have their manuscript published online as a *Just Accepted* manuscript. Authors choosing this option must ensure that all intellectual property/patent issues are resolved. To ensure rapid delivery of the accepted manuscript to the Web, authors must adhere carefully to all requirements in the journal’s Scope, Policy, and Instructions for authors. For further information, please refer to the *Just Accepted* FAQ, at <http://services.acs.org/pubshelp/passthru.cgi?action=kb&item=244>. Note that publishing a manuscript as *Just Accepted* is not a means by which to comply with the NIH Public Access Mandate.

ASAP Publication. Accepted manuscripts will be published on the “Articles ASAP” page on the *Journal’s* Web site as soon as page proofs are corrected and all author concerns are resolved. Publication on the Web usually occurs within 4 working days of receipt of page proof corrections, and this can be anywhere from 2 to 6 weeks in advance of the cover date of the issue. Manuscripts assigned to a special issue often remain published ASAP for several months. Authors should take this schedule into account when planning intellectual and patent activities related to a manuscript. The date on which an accepted paper is published on the Web is recorded on the Web version of the manuscript and on the first page of the PDF version.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscript Format. Manuscripts must be prepared using accepted word-processing software, and all parts must be double-spaced. All pages must be numbered consecutively starting with the title page and including tables and figures. **Lines in the abstract and text should be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left. Do not put line numbers on pages with tables or figures.** A standard font, in a size of 12 points or greater, must be used. The *Journal* requires authors to stay within a **20 typed page limit**, not including references, tables, and figures.

Standard American English usage is required. Authors who are not familiar with standard American English are urged to seek assistance; deficiencies in grammar may be a serious hindrance during the review process.

The ACS Style Guide (3rd ed., 2006; ISBN 0-8412-3999-1), available from Oxford University Press, Order Department, 201 Evans Road, Cary, NC 27513, provides a detailed treatment of the fundamentals of manuscript preparation. Refer to a current issue of the *Journal* for general style.

The various sections of the manuscript should be assembled in the following sequence:

Title and authorship (single page)

Abstract and keywords (single page)

Introduction
Materials and Methods
Results /Discussion
Abbreviations Used
Safety
Acknowledgment
Supporting Information description
Literature Cited
Figure captions
Tables
Figures
Graphic for table of contents

TITLE AND AUTHORSHIP

The title, authorship, and institutional affiliations should be included on a single page.

Title. The title should be specific, informative, and concise. Keywords in the title assist in effective literature retrieval. If a plant is referred to in the title or elsewhere in the text by its common or trivial name, it should be identified by its scientific name in parentheses immediately following its first occurrence. This term should also be provided as one of the keywords. If trade names are mentioned, give generic names in parentheses.

Authorship. Be consistent in authorship designation on the manuscript and on all correspondence. **First name, middle initial, and last name** are generally adequate for correct identification, but omit titles. Give the complete mailing address of all institutions where work was conducted and identify the affiliation of each author. If the current address of an author is different, include it in a footnote on the title page. The name of the author to whom inquiries about the paper should be addressed must be marked with an asterisk; provide the telephone and fax numbers and e-mail address of this correspondent.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Abstract. Authors' abstracts are used directly for *Chemical Abstracts*. The abstract should be a clear, concise (100–150 words), one-paragraph summary, informative rather than descriptive, giving scope and purpose, experimental approach, significant results, and major conclusions. Write for literature searchers as well as journal readers.

Keywords. Provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval. The keywords are published immediately before the text, following the abstract.

INTRODUCTION

Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. Use of *Chemical Abstracts/Scifinder* and other appropriate databases is encouraged to ensure that important prior publications or patents are cited and that the manuscript does not duplicate previously published work. **The purpose or reason for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated.**

Do not include or summarize current findings in this section.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus, reagents, and biological materials used in the study should be incorporated into a general section. List devices of a specialized nature or instruments that may vary in performance, such that the model used may affect the quality of the data obtained (e.g., spectroscopic resolution).

List and describe preparation of special reagents only. Reagents normally found in the laboratory and preparations described in standard handbooks or texts should not be listed.

Specify the source, vendor [city and state (or city and country if non-U.S.)], and availability of special equipment, reagents, kits, etc. Do not include catalog numbers. Biological materials should be identified by scientific name (genus, species, authority, and family) and cultivar, if appropriate, together with the site from which the samples were obtained. Specimens obtained from a natural habitat should be preserved by deposit of samples in an herbarium for plants or in a culture collection for microorganisms, with a corresponding collection or strain number listed.

Manuscripts describing studies in which live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines and **also name the institutional committee that approved the experiments. Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office or official.** (See Reporting Specific Data: Animal or Human Studies.) Manuscripts reporting data from inhumane treatment of experimental animals will be rejected.

Specific experimental methods should be sufficiently detailed for others to repeat the experiments unequivocally. Omit details of procedures that are common knowledge to those in the field. Brief highlights of published procedures may be included, but details must be left to the Literature Cited, and verbatim repeat of previously published methods, even if done by the authors, will not be permitted unless a quotation from a published work is included, and placed in quotation marks, with the reference to the source included at the end of the quotation. Describe pertinent and critical factors involved in reactions so the method can be reproduced, but avoid excessive description. For information on the reporting of certain types of data see Reporting Specific Data.

Describe statistical design and methods in this section.

RESULTS/DISCUSSION

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results in the most lucid fashion without redundancy. Be complete but concise in discussing findings, comparing results with previous work and proposing explanations for the results observed.

All data must be accompanied by appropriate statistical analyses, including complete information on sampling, replication, and how the statistical method employed was chosen.

Avoid comparisons or contrasts that are not pertinent, and avoid speculation unsupported by the data obtained.

A separate summary or conclusion section is not to be used; any concluding statements are to be incorporated under Results and Discussion.

ABBREVIATIONS AND NOMENCLATURE

Standard abbreviations, without periods, should be used throughout the manuscript.

Refer to *The ACS Style Guide* for the preferred forms of commonly used abbreviations. Specialized abbreviations may be used provided they are placed in parentheses after the word(s) for which they are to substitute at first point of use and are again defined in this section. Avoid trivial names and “code” abbreviations (e.g., NAR for naringenin) unless such codes are in common usage (e.g., MTBE for methyl *tert*-butyl ether).

If trade names are used, define at point of first use. If nomenclature is specialized, include a “Nomenclature” section at the end of the paper, giving definitions and dimensions for all terms. Use SI units insofar as possible. Refer to *The ACS Style Guide* for lists of SI units and a discussion of their use.

Write all equations and formulas clearly and number equations consecutively. Place superscripts and subscripts accurately; avoid superscripts that may be confused with exponents. Identify typed letters and numbers that might be misinterpreted, such as “oh” for zero or “ell” for one. Chemistry numbering requiring primes should be identified as such (i.e., 3,3′-dihydroxy-), not by an apostrophe (e.g., 3,3'-dihydroxy-). It is the authors' responsibility to provide correct nomenclature. Structures should be included for uncommon chemicals, particularly when the systematic or common name is too complex or unclear to readily denote the structure. Such structures should be included as a figure or table. All nomenclature must be consistent and unambiguous and should conform with current American usage. Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstracts Service, the International Union of Pure and Applied Chemistry, and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. *Chemical Abstracts* (CA) nomenclature rules are described in Appendix IV of the *Chemical Abstracts Index Guide*. For CA nomenclature advice, consult the Manager of Nomenclature Services, Chemical Abstracts Service, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012. A name generation service is available for a fee through CAS Client Services, 2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3343, Columbus, OH 43210-0334 [telephone (614) 447-3870; fax (614) 447-3747; e-mail answers@cas.org]. In addition, the ACS Web site has links to nomenclature recommendations at <http://chemistry.org>.

SAFETY

Authors are required to call special attention in their manuscripts to safety considerations such as explosive tendencies, special precautionary handling procedures, and toxicity.

ACKNOWLEDGMENT

Include essential credits but hold to an absolute minimum. Omit academic and social titles. Meeting presentation data and acknowledgment of financial support of the work should not be included here; give these instead in a note following the Literature Cited. It is the responsibility of the corresponding author to notify individuals named in the Acknowledgment.

LITERATURE CITED

Consult *The ACS Style Guide* and current issues of the *Journal* for examples of reference format.

Authors should cite all prior published work directly pertinent to the manuscript. However, extensive bibliographies that go beyond a direct connection with the manuscript are discouraged. Prior work can often be covered by citation of a few

leading references or of review articles. As a general guideline, authors should attempt to limit the literature cited to approximately 50 or fewer citations.

Authors are responsible for the accuracy of their references. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source.

References should be listed on a separate page and numbered in the order in which they are cited in the text.

References should be cited in the text by superscript numbers, for example, ^{1,2-5}, etc.

Give complete information, using the last name and initials of the author, patentee, or equivalent; do not use "Anonymous".

Follow *Chemical Abstracts Service Source Index* for abbreviations of journal titles. Because subscribers to the Web edition of the *Journal* are now able to click on the "Chemport" or other tag following each reference to retrieve the corresponding abstract from various Web resources, reference accuracy is critical.

Typical references follow the styles given below.

For journals:

1. Brown, J.; Jones, M.; Green, D. Article title. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, *28*, 1–4. (Use issue number only if each issue of the periodical begins with page 1.)

For books:

2. Smith, L; Caldwell, A. Chapter title. In *Book Title*, edition no.; Keys, F., Park, G., Eds.; Publisher: City, State (or Country if non-U.S.), Year; Vol. no., pp.

For Web pages:

3. Black, A.; White, B. Page title. URL (<http://etc.>) (most recent access date).

Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material "in press" is discouraged. Reference to the authors' own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript. **If pertinent references are "in press" or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions for review-only Supporting Information. "In press" references should include the Digital Object Identifier (DOI) assigned by the potential publisher.**

TABLES AND ARTWORK

The tables and graphics (illustrations) should be inserted in the manuscript file after the Literature Cited section. Do not upload tables and graphics which are to be published in the manuscript as Supporting Information files.

Tables and figures should be carefully designed to maximize presentation and comprehension of the experimental data with superfluous information

excluded. Useful information not directly relevant to the discussion may be included under Supporting Information.

Tables. Tables may be created using a word processor's text mode or table format feature. The table format feature is preferred. Ensure each data entry is in its own table cell. If the text mode is used, separate columns with a single tab and use a line feed (enter) at the end of each row.

Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and should be grouped after the Literature Cited section. Footnotes in tables should be given letter designations and be cited in the table by italic superscript letters. The sequence of letters should proceed by row rather than by column. Each table should be provided with a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the type area of the journal page (17.8 × 25.4 cm), and the column width (8.5 cm), and to make tables conform to the limitations of these dimensions. **Arrangements that leave many columns partially filled or that contain much blank space should be avoided.** Conversely, arrangements that include >20 columns should be broken into two tables if possible. If *significance of values* is to be indicated, use a lower case letter, on line, one space after the value.

Figures and Artwork. Insert the illustrations into the word-processing file following the Literature Cited. Artwork should be sequentially numbered using Arabic numbers. Schemes and charts may have titles and footnotes; figures should have captions.

For bar charts, bars with hatching patterns generally reproduce well. Bars that range in shading from light to dark gray to black can usually be reproduced successfully, although we do not recommend any more than two shades of gray. A legend needs to be included within the figure itself rather than the patterns or shades included in the caption.

For manuscripts containing gel patterns, use of a high-resolution digital scanner is recommended. Only high-quality digital reproductions will allow reviewers to correctly verify the experimental results. For an example of gel patterns see *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5717–5723, Figures 2 and 3.

Only readable and accurately represented images are acceptable; the **Editors reserve the option to reject images that do not satisfactorily support points made in the manuscript or that are not of satisfactory quality for publication.**

The quality of the illustrations published in the *Journal* largely depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the journal production staff. Contrast is important. Each figure or photograph should be properly labeled.

Illustrations must fit a one- or two-column format on the journal page. **For efficient use of journal space, single-column illustrations are preferred.**

	single (preferred)	double
width		
minimum		10.5 cm (4.13 in.)
maximum	8.25 cm (3.25 in.)	17.78 cm (7 in.)
maximum depth	24 cm (9.5 in.)	24 cm (9.5 in.)

For best results, submit illustrations in the actual size at which they should appear in the journal. Illustrations that do not need to be reduced to fit a single or double column will yield the best quality. Lettering should be no smaller than 4.5 points. (Helvetica or Arial type works well for lettering.) Lines should be no thinner than 0.5 point. Lettering and lines should be of uniform density. Avoid the use of very large and very small lettering within the same figure.

If artwork that must be reduced will be submitted, use larger lettering and thicker lines so that, when reduced, the artwork meets the above-mentioned parameters.

Avoid using complex textures and shading to achieve a three-dimensional effect. To show a pattern, choose a simple crosshatch design.

Color illustrations should be submitted **only** if they are essential for clarity of communication. Reproduction of color illustrations will be provided at no cost to the author. Do not submit color prints to be printed in black and white.

Structural Formulas. Structural formulas should be included for all new chemicals and for existing chemicals for which chemical nomenclature and/or trivial names do not convey the structure adequately. Structural formulas are valuable in expressing concisely the precise nature of the compounds under discussion and revealing the essence of the subject to readers unfamiliar with the topic, without their necessary recourse to reference materials. The use of chemical names without accompanying structures may cause readers to overlook the significance of the paper.

Structures should be produced with the use of a drawing program such as ChemDraw. Structure drawing preferences (preset in the ACS Stylesheet in ChemDraw) are as follows:

as drawing settings select...

chain angle	120°
bond spacing	18% of width
fixed length	14.4 points (0.508 cm, 0.2 in.)
bold width	2.0 points (0.071 cm, 0.0278 in.)
line width	0.6 point (0.021 cm, 0.0084 in.)
margin width	1.6 points (0.056 cm, 0.0222 in.)
hash spacing	2.5 points (0.088 cm, 0.0347 in.)

as text settings select...

font	Arial or Helvetica
size	10 points

under preferences choose...

units	points
tolerances	3 pixels

under page setup choose...

paper	US Letter
scale	100%

Using the ChemDraw ruler or appropriate margin settings, create structure blocks, schemes, and equations having maximum widths of 11.3 cm (one-column format) or 23.6 cm (two-column format). Note: if the foregoing preferences are selected as cm values, the ChemDraw ruler is calibrated in cm. Also note that a standard sheet of paper is only 21.6 cm wide, so all graphics submitted in two-column format must be prepared and printed in landscape mode.

Use boldface type for compound numbers but not for atom labels or captions.

Authors using other drawing packages should, as far as possible, modify their program's parameters to reflect the above guidelines.

TABLE OF CONTENTS GRAPHICS

Authors of research articles, perspectives, and reviews are required to include a suitable graphic for publication in the table of contents (TOC) in the Web edition of the *Journal*. Submission of this graphic is mandatory. This graphic should capture the reader's attention and, in conjunction with the manuscript's title, give the reader a quick visual impression of the type of chemistry described. Structures should be constructed as specified under Structural Formulas above. The TOC graphic may be up to 4.7 in. (12.0 cm) wide and 1.8 in. (4.6 cm) tall. (See detailed instructions at the Paragon Plus Web site.) Text should be limited to labels for compounds, reaction arrows, and figures. The use of color to enhance the scientific value is encouraged. The TOC graphic should be inserted on a separate page at the end of the manuscript file.

SUPPORTING INFORMATION

Extensive tables, graphs, spectra, calculations, and other material beyond a modest content in the published paper may be included in the Web edition of the *Journal*. These will **not** be part of the published article but can be accessed separately on the Web by readers.

Supporting Information must be submitted at the same time as the manuscript and uploaded separately to the ACS Paragon Plus environment. A list of acceptable file types is available on the Web. All Supporting Information files of the same type should be prepared as a single file (rather than submitting a series of files containing individual images or structures). For example, all Supporting Information available as PDF files should be contained in one PDF file.

The material should be described in a paragraph inserted between the Acknowledgment and the Literature Cited sections, using the following format: "Supporting Information Available: Description. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>."

Components of the Supporting Information should be clearly labeled.

DO NOT UPLOAD FIGURES AND TABLES THAT ARE TO BE PUBLISHED IN THE ARTICLE INTO THE SUPPORTING INFORMATION FILE. Figures and tables that will appear in the published article are to be inserted in the manuscript directly after the Literature Cited section.

CURRENTLY ACCEPTABLE WORD-PROCESSING PACKAGES

Refer to the Paragon Plus environment Web site for acceptable software packages.

LaTeX users should follow the guidelines given on the Web.

REVISIONS AND RESUBMISSIONS

For all revisions:

- Clearly identify the manuscript as a revision; reference the manuscript number.
- Include an itemized list of changes, with a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.
- Be aware that the manuscript may be sent for additional review, to the same or additional reviewers, at the discretion of the Editor.
- Please upload the signed Journal Publishing Agreement or fax it to the assigned Editor.

For all resubmissions:

- Clearly identify all resubmissions; reference the previous manuscript number.
- Include an itemized list of changes, including a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.
- Please upload the signed Journal Publishing Agreement or fax it to the assigned Editor.

JOURNAL PUBLISHING AGREEMENT

A properly completed and signed Journal Publishing Agreement (JPA) must be submitted for each manuscript. ACS Paragon Plus provides an electronic version of the JPA that will be available on the **My Authoring Activity** tab of the Corresponding Author's Home page once the manuscript has been assigned to an Editor. A PDF version of the Agreement is also available, but **authors are strongly encouraged to use the electronic JPA**. If the PDF version is used, **all pages of the signed PDF JPA must be submitted**. If the corresponding author cannot or should not complete either the electronic or PDF version for any reason, another author should complete and sign the PDF version of the form. Forms and complete instructions are available at <http://pubs.acs.org/page/copyright/journals/index.html>. **For questions about the form or about signing the form, contact the ACS Copyright Office at (202) 872-4368 or -4367.**

Note: Authors who are not U.S. Government employees or bona fide agents should sign Part A of the form only. If ALL of the authors were employees or bona fide agents of the U.S. Government when the paper was prepared, the work is a work of the U.S. Government and only Part B, "U.S. Government Employees", should be signed if BOTH of the following circumstances apply:

- ALL authors are or were bona fide officers or employees of the U.S. Government when the paper was prepared.
- The work is a work of the U.S. Government, prepared by an officer/employee of the U.S. Government as part of official duties.

If the work was prepared under a U.S. Government contract or is coauthored by a non-U.S. Government employee, the work is not a work of the U.S. Government; **DO NOT SIGN PART B**. Sign only Part A of the form. Call the ACS Copyright Office at the above telephone number for assistance.

PROOFS AND REPRINTS

Proofs. The corresponding author of an accepted manuscript will receive e-mail notification and complete instructions when page proofs are available for review via a secure Web site. It is the responsibility of the corresponding author to ascertain that all coauthors agree with the corrections before the corrections are returned. Corrections should be designated by galley proof line number. Galley proof corrections should be returned within 48 h of receipt to ensure timely publication of the manuscript. Routine rephrasing of sentences or additions are not permitted at the page proof stage. Alterations should be restricted to serious changes in interpretation or corrections of data. Extensive or important changes on page proofs, including changes to the title or list of authors, are subject to Editorial review.

ACS Policies for E-prints and Reprints. Under the ACS Articles on Request policy, the Society will provide (free of charge) to all contributing authors a unique URL within the ACS Web site that they may e-mail to colleagues or post on external Web sites. These author-directed links are designed to facilitate distribution of an author's published work to interested colleagues in lieu of direct distribution of the PDF file by the author. The ACS Articles on Request policy allows 50 downloads within the first year after Web publication and unlimited access via the same author-directed links 12 months after Web publication.

The ACS AuthorChoice option establishes a fee-based mechanism for authors or their research funding agencies to sponsor the open availability of their articles on the Web at the time of online publication. Under this policy, the ACS as copyright holder will enable unrestricted Web access to a contributing author's publication from the Society's Web site in exchange for a fixed payment from the sponsoring author. ACS AuthorChoice will also enable participating authors to post electronic copies of published articles on their own personal Web sites and institutional repositories for noncommercial scholarly purposes and allow immediate open access to an article as soon as it is published on the ACS Web site.

When authors are sent the proof of their paper, they will receive a link to a Web site where they may order author reprints. They may also call Cierant Corporation, (866) 305-0111, from 9 a.m. to 5 p.m. EST. Reprints will be shipped within two weeks after the issue publication date. Neither the Editors nor the Washington ACS Office keeps a supply of reprints; requests for single copies of papers should be addressed to the corresponding author of the paper concerned.

REPORTING SPECIFIC DATA

Bioactivity. Manuscripts reporting on bioactivity of plant-derived or other extracts must also include identification and characterization of individual chemicals responsible for the observed bioactivity.

Gas Chromatographic Methods. For manuscripts in which gas chromatographic methods are used, see "Reporting of Gas Chromatographic Methods", by Morton Beroza and Irwin Hornstein [*J. Agric. Food Chem.* **1973**, *21*, 7A (located at the back of the January 1973 issue or as a link from the *Journal's* Author Information page)]. Consult recent issues for examples of GC, LC, and other instrument parameter descriptions.

Spectroscopic Data. This is a guide only; in certain cases different methods of data presentation may be more suitable. Authors are encouraged to consult examples of data presentation published in recent issues of the *Journal* for appropriate style and format. **Complete infrared, NMR, mass, or other spectra will be published only if novel or necessary to substantiate points made under the Results or Discussion sections.** Such presentations take up valuable space, and essentially the same information can frequently be put into a much more compact form by simply listing the position and intensity of the maxima. It is usually not necessary to list all of the maxima in the spectra to provide an adequate description. Report the type of instrument used (e.g., in mass spectrometry, whether magnetic, quadrupole, etc.) and also the type of cell, the solvent (if any), and the state of the sample (whether liquid, gas, solution, etc.).

Mass Spectra. List the molecular ion and about 10 of the major ions with their intensities in parentheses, or more preferably use the method outlined by H. S. Hertz, R. A. Hites, and K. Biemann (*Anal. Chem.* **1971**, *43*, 681–691). This method involves dividing the spectrum into consecutive regions of 14 mass units starting at m/z 6 (i.e., 6–19, 20–33, 34–47, 48–61, etc.). The two most intense ions in each region are then listed. Intensities, relative to the most intense ion, the intensity of which is taken as 100, are shown in parentheses immediately following the m/z value; for example: hexanal, mass spectrum found (70 eV, two most intense ions each 14 mass units above m/z 34): 43 (86), 44 (100), 56 (86), 57 (65), 71 (28), 72 (33), 82 (18), 85 (5), 97 (2), 100 (2). If the molecular ion does not appear in this presentation, the author should indicate it separately.

Nuclear Magnetic Resonance (¹H NMR or ¹³C NMR) Spectra. The frequency used, the solvent, and also temperature (if other than ambient) are first specified. The type of unit used (δ or τ) is then stated, followed by the position of the center of gravity of the sharp line, broad line, or spin–spin multiplet in these units. This is then followed by information in parentheses which (1) describes the type of splitting, that is, singlet as s, doublet as d, triplet as t, quadruplet as qd, multiplet as m; (2) gives the value of the number of protons the area represents; (3) gives the coupling constant J ; and (4) gives the part of the molecule connected with the particular absorption with the protons involved underlined.

An example would be ¹H NMR for ethanol (60 MHz, CCl₄): δ 1.22 (t, 3, J = 7 Hz, CH₂CH₃), 2.58 (s, 1, OH), 3.70 (qd, 2, J = 7 Hz, OCH₂CH₃).

Other Spectra. In general, list position and intensity of the maxima. In some cases it may be desirable to list points of inflection.

A brief explanation should be given for any abbreviations not in common use.

Examples:

- Reporting liquid chromatography (HPLC) and HPLC/MS: “Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three *Pouteria* Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography–Mass Spectrometry”, by Jun Ma et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5873–5878.
- Reporting data in detail, including UV shifts and IR spectra: “Characterization of Vegetable Oils: Detailed Compositional Fingerprints Derived from Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry”, by Zhigang Wu et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5322–5328.

Novel Compound Characterization. For a discussion of the *Journal's* expectations for compound characterization, please read “Compound Identification: A *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Perspective” by R. J. Molyneux and P. Schieberle. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4625–4629 (DOI: 10.1021/jf070242j). It is essential that novel compounds, either synthetic or isolated from natural sources, be characterized rigorously and unequivocally. Supporting data normally include physical form, melting point (if solid), UV/IR spectra if appropriate, ¹H and ¹³C NMR, mass spectrometric data, and optical rotation (when compounds have chiral centers).

Examples:

- Reporting X-ray data: “Racemic and Enantiopure Synthesis and Physicochemical Characterization of the Novel Taste Enhancer *N*-(1-Carboxyethyl)-6-(hydroxymethyl)pyridinium-3-ol Inner Salt”, by Renaud Villard et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *51*, 4040–4045.
- Reporting data in detail, including UV shifts: “Novel Flavonol Glycoside, 7-*O*-Methyl Mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and Its Antioxidant Effect”, by Shin-Kyo Chung et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4664–4668.
- Reporting data for previously known compounds: “Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of *Wendita calysina* Leaves (Burrito), a Folk Paraguayan Tea”, by Anna Lisa Piccinelli et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5863–5868.

Flavor Constituents. Manuscripts reporting on flavor constituents should conform to the recommendations made by the International Organization of the Flavor Industry [for details, see the Editorial in the October 1996 issue of *J. Agric. Food Chem.* (*44*, 2941–2941)]. In brief, any identification of a flavoring substance must pass scrutiny of the latest forms of available analytical techniques. **In practice, this means that any particular substance must have its identity confirmed by at least two methods, for example, comparison of chromatographic and spectrometric data (which may include GC, MS, IR, and NMR) with those of an authentic sample.** If only one method has been applied (MS data alone or retention index or Kovats index alone), the identification shall be labeled “tentative”. In addition, authors are encouraged to include at least semiquantitative data on the concentration of an identified component in the original source, for example, foodstuff or plant part. Ranges such as <1 µg/kg, 1–10 µg/kg, and 10–100 µg/kg are acceptable.

Flavor is evoked by smell (aroma) and taste. A good example showing the correct characterization of taste compounds is the study by Czepa and Hofmann (*J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3865–3873). A good example for aroma compound identification is the study by Milo and Grosch (*J. Agric. Food Chem.* **1996**, *48*, 2366–2371).

The use of reference compounds is a must, if data on sensory properties of single compounds are reported. Odor, which is perceived during sniffing of a food extract at a certain retention index, may be indicative of the presence of a given compound, but not conclusive unless substantiated by chromatographic and/or spectrometric data and comparison with an authentic reference compound.

Soil Classification. Soils used in research should be described down to the family level according to the soil classification scheme given in *Soil Taxonomy, A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*, 2nd ed.

(Agricultural Handbook 436; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1999) (available on-line at <http://soils.usda.gov/technical/classification/taxonomy/>). Also give series name if known.

This requirement is to allow comparison and extrapolation to other work giving similar soil classifications, as published in journals such as the *Journal of Soil Science*, *Soil Science Society of America Journal*, *Journal of Environmental Quality*, and *Geoderma*. If information is unavailable to classify the soils at the desired family level, classification should be described or estimated at least to the great group level in the same classification system.

Statistics. Manuscripts reporting analytical, biological activity, composition, and related data must include relevant statistical information to support discussion of differences or similarities in data sets. Refer to a standard statistics reference such as *Statistical Methods*, 8th ed.; Snedecor, G. W., Cochran, W. G., Eds.; University Press: Ames, IA, 1989.

Animal or Human Studies. Manuscripts describing studies in which the use of live animals or human subjects is involved must include under Materials and Methods a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines, and also name the institutional committee that approved the experiments. For experiments with human subjects, a statement that informed consent was obtained from each individual must be included and the consent forms made available to the *Journal* on request. Reviewers of manuscripts involving animal or human experiments will be asked to comment specifically on the appropriateness and conformity to regulations of such experiments. **Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office of official.**

Animal Subjects. The use of animals in a study should be employed only when there are no alternative methods for investigating the fundamental questions of the study. In such cases, it is the ethical responsibility of all authors to ensure that the care of animals is of the highest possible order, that pain and/or distress is minimized, and that the numbers involved are strictly limited to those essential to fulfill the experimental design. In the United States the care and use of laboratory animals is regulated by the U.S. Department of Agriculture (USDA) under the Animal Welfare Act. Links to the regulations and other information are available at http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/links.shtml. It is recognized that researchers in other countries may be governed by different laws and regulations. In such cases, experiments should be designed to conform either to the above USDA regulations or to the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (1985), available at http://www.cioms.ch/publications/guidelines/1985_texts_of_guidelines.htm.

Human Subjects. The use of human subjects in experimental studies requires informed consent. Such consent requires that the subjects be informed completely not only about the procedures involved but also about the aims, design, and expected outcomes of the study. Consent must be obtained not only when subjects are involved directly in the study but also when samples (tissue, blood, plasma, etc.) are required for in vitro experiments. In the United States the protection of human research subjects is regulated by the U.S. Department of Health and Human Services (HHS). Regulations are available at <http://www.hhs.gov/ohrp/>. Laws and regulations governing researchers in other countries must be observed, but experiments should be designed to conform to the intent of the HHS regulations as far as possible.

In relation to the subject matter of the *Journal*, experiments involving taste and food quality evaluation and consumer acceptance are exempt from the above regulations [CFR 46.101 (b) (6)]. However, it should be noted that this would not exempt studies in which extracts, isolates, pure compounds, etc., obtained from conventional food sources are subjected to such evaluation.

The *Journal* will reject any manuscript for which there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary pain or distress or when informed consent of human subjects is absent or incomplete.

Editor Contact Information:

James N. Seiber, Editor
Journal of Agricultural and Food Chemistry
Department of Environmental Toxicology
University of California
One Shields Avenue
Davis, California 95616
U.S.A.
Telephone (530) 754-7005
E-mail jafc@jafc.acs.org

7 APÊNDICES

Apêndice A – Modelo de ficha utilizada na avaliação sensorial de sucos de uvas Isabel e Cabernet Sauvignon

Data: / /

Sexo: () Masculino () Feminino

Idade: () 16-25 () 26-35 () 36-45 () Acima de 45

Grau de Instrução: () Ensino Fundamental () Ensino Médio () Superior Incompleto

() Superior Completo () Pós-Graduação

Você está recebendo seis amostras de suco de uva codificadas. Avalie cada uma segundo a intensidade do atributo específico, assinalando com um traço vertical as escalas abaixo:

AMOSTRA 324	
Cor:	_____
	Fraca Forte
Odor:	_____
	Fraca Forte
Sabor:	_____
	Fraca Forte

AMOSTRA 612	
Cor:	_____
	Fraca Forte
Odor:	_____
	Fraca Forte
Sabor:	_____
	Fraca Forte

AMOSTRA 867	
Cor:	_____
	Fraca Forte
Odor:	_____
	Fraca Forte
Sabor:	_____
	Fraca Forte

Data: / /

Sexo: () Masculino () Feminino

Idade: () 16-25 () 26-35 () 36-45 () Acima de 45

Grau de Instrução: () Ensino Fundamental () Ensino Médio () Superior Incompleto
() Superior Completo () Pós-Graduação

Você está recebendo quatro amostras de suco de uva codificadas. Ordene cada uma, colocando-as em ordem crescente de sua preferência.

Menos preferida

Mais preferida

Comentários: