

DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS TOTAIS EM UVAS DE VINHO, SUCO E DE MESA ATRAVÉS DE MÉTODO NÃO DESTRUTIVO

DETERMINATION OF ANTHOCYANINS IN GRAPES WINE, JUICE AND TABLE THROUGH NON-DESTRUCTIVE METHOD

Giseli Rodrigues Crizel¹, Wanderson Araújo Ferreira², Cesar Valmor Rombaldi³, Patrícia Silva Ritschel⁴, Cesar Luis Girardi⁴.

¹ Doutoranda DCTA-Universidade Federal de Pelotas. E-mail: giseli.crizel@gmail.com

² Assistente- Laboratório de Pós-colheita Embrapa Uva e Vinho. E-mail: wferreira@cnpuv.embrapa.br

³ Prof. DCTA-Universidade Federal de Pelotas. E-mail: cesarvrf@ufpel.edu.br

⁴ Pesquisador Embrapa Uva e Vinho. E-mail: cesar.girardi@embrapa.br

RESUMO

No Brasil, poucos são os estudos sobre métodos não destrutivos que utilizam sensores de fluorescência, tornando-se de primordial importância desenvolver trabalhos que possibilitem acompanhar a maturação e determinar o ponto de colheita para uvas. Diante disso tem-se o objetivo de validar o novo sensor de fluorescência (Multiplex[®]3) como método não destrutivo para determinar o estágio de maturação de uvas tintas no que se concerne os teores de antocianinas. Para isso, o acúmulo destes compostos foi acompanhado durante a safra de 2012, realizando-se cinco colheitas semanais após a veraison em uvas tintas destinadas a elaboração de vinho cv. Marcelan, suco cv. Cora e mesa Arkansas 2095. Essas medições foram realizadas tanto na pré-colheita (campo) quanto na pós-colheita (trilho) com auxílio do sensor óptico de fluorescência. Nessas amostras foram avaliados o teor de SS (°Brix), pH, AT (% ác. tartárico) e diâmetro da baga. As amostras foram posteriormente congeladas a -20°C para análises de antocianinas através do método convencional. A presença de correlações entre os dois métodos foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson. Os parâmetros físico-químicos de maturação tiveram comportamento esperado com a evolução da maturação, ocorrendo o incremento dos teores de açúcares, redução da acidez e um aumento no diâmetro das bagas. Os índices de antocianinas (mV) medidos com Multiplex[®] correlacionaram significativamente na pré-colheita com o método convencional através de uma função exponencial ($r=0,90^*$ para cv. Marcelan, $r=0,52^{**}$ para cv. BRS Cora e $r=0,89^{**}$ para cv. Arkansas 2095). Na pós-colheita os dados obtidos pelo sensor Multiplex[®] correlacionaram através da função exponencial ($r=0,73^{**}$ para cv. BRS Cora e $r=0,86^{**}$ cv. Arkansas 2095). Não ocorrendo correlação para cv. Marcelan ($r=0,82^{ns}$). Esses resultados mostram que o sensor de fluorescência representa uma ferramenta rápida e não destrutiva para monitorar e determinar acúmulo antocianinas de uvas tintas.

Palavras-chave: Sensor óptico fluorescência. Maturação.

ABSTRACT

In Brazil, there are few studies on non-destructive methods using fluorescence sensors, making it of paramount importance to develop jobs that allow monitoring the maturation and determine the point of harvest for grapes. Thus has the objective of validating the new fluorescence sensor (Multiplex[®]3) as a non-destructive method to determine the stage of ripening grapes in related levels of anthocyanins. For this, the accumulation of these compounds was accompanied during the 2012, performing five weekly harvests after veraison in grapes intended for wine making cv. Marcelan, juice cv. Cora and table Arkansas 2095. These measurements were performed either preharvest (field) and postharvest (rail) with the aid of a fluorescence optical sensor. These samples were evaluated SS content (° Brix),

pH, TA (% ác. Tartaric) and berry diameter. The samples were then frozen at -20 °C for analysis by conventional analytical methods. The presence of correlation between the two methods was analyzed using the Pearson correlation coefficient. The physico-chemical maturation had expected behavior with the maturation, the increase occurring in the levels of sugars, acidity reduction and an increase in the diameter of berries. The contents of anthocyanins (mV) measured Multiplex® significantly correlated with the pre-harvest with the conventional method using an exponential function ($r = 0.90^*$ for cv. Marcelan, $r = 0.52^{**}$ for cv. BRS Cora $r = 0.89^{**}$ for cv. Arkansas 2095). In post-harvest data obtained by the sensor Multiplex® correlated by exponential function ($r = 0.73^{**}$ for cv. BRS Cora $r = 0.86^{**}$ cv. Arkansas 2095). Failing correlation for cv. Marcelan ($r = 0.82^{ns}$). These results show that the fluorescence sensor is a fast, non-destructive to monitor and determine anthocyanin accumulation grapes.

Keywords: Fluorescence optical sensor. Maturation.

1 INTRODUÇÃO

A determinação da maturação dos frutos em geral é de primordial importância para decidir o ponto ótimo de colheita, que vai influenciar a sua qualidade pós-colheita e conseqüentemente de seus produtos. Para isso, são utilizados índices de maturação, os quais compreendem os parâmetros físico-químicos (Giovannini & Manfroi, 2009).

A maturação de uvas, por exemplo, é determinada na maioria dos casos pelo teor de açúcar e medidas de acidez (maturação tecnológica) e com pouca frequência pelos teores de flavonóides e antocianinas (maturação fenólica) (Perreira et al. 2009). A análise da maturação fenólica é baseada na evolução dos compostos fenólicos presentes nas cascas e nas sementes da uva, principalmente antocianinas e taninos. As uvas terão um potencial de extração, variável conforme as diferentes condições de maturação e variedades (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Para determinar a maturação fenólica da uva geralmente são realizadas análises químicas destrutivas, por distintos protocolos laboratoriais (Giovannini & Manfroi, 2009; Gishen et al. 2005). Essas análises além de dispendiosas são demoradas, o que limita sua utilização. Diante disso, se fazem necessários, métodos mais práticos para determinar a maturação fenólica. Nesse sentido o uso de métodos não destrutivos surge como hipótese de uma boa técnica.

A técnica com sensores ópticos de fluorescência é a mais recente para avaliar a maturidade e a qualidade de frutos de forma não destrutiva (Cerović et al, 2008). Usando como principio a excitação da clorofila, por uma luz altamente energética

que ao voltar para seu estado normal emite uma luz com baixa energia captada pelo sensor (Betemps et al., 2012). Essa técnica, além de não destrutiva, possui vantagens de ser um método rápido e com possibilidades de analisar vinhedos inteiro (na pré-colheita) e uma grande quantidade de amostras na pós-colheita (Cerović et al, 2008.; Cerović et al., 2007).

O uso deste método tem sido estudado com resultados promissores (Agati et al, 2007.; Agati et al, 2008; Cerović et al, 2007; Cerović et al, 2008; Betemps et al., 2012). No entanto, se faz necessário realizar a validação do método para cada espécie e/ou cultivar a ser analisada. Diante do exposto, este trabalho visa validar o método do sensor óptico de fluorescência (Multiplex[®]3) como método não destrutivo para determinar o estágio de maturação de uvas tintas da cv. Marcelan, BRS Cora e Arkansas 2095, no que se concerne os teores de antocianinas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Foram utilizadas três cultivares (cv.) de uvas tintas provenientes da safra de 2012, cultivadas na Embrapa Uva e Vinho, latitude 29°09'44"S, longitude 51°31'50"W, altitude de 640m, sendo elas cv. Marcelan destinada à elaboração de vinho, a cv. BRS Cora para elaboração de suco e a cv. Arkansas 2095 como uva de mesa. A maturação foi acompanhada durante cinco colheitas semanais iniciadas após a veraison. Para isso, foram realizadas análises de maturação tecnológica, de maturação fenólica pelo método convencional (método destrutivo) e através do sensor óptico de fluorescência, Multiplex[®]3 (método não destrutivo).

2.2 Análises de antocianinas através do sensor óptico de fluorescência

O sensor (Multiplex[®]3) possui nove diodos emissores de luz (LED's) que irradiam o material vegetal em diferentes comprimentos de onda, o ultravioleta (360 nm), o azul (470 nm), o verde (520 nm) e o vermelho (635nm) e três detectores no comprimento de onda do amarelo (590 nm), do vermelho (685 nm) e do vermelho distante (735 nm). A combinação de sinais de fluorescência adquiridos com as

diferentes bandas de excitação fornece o índice de antocianinas através da seguinte fórmula ($ANTH = \log(FRFred/FRFgreen)$). A base teórica dessa fórmula está descrita em Agati et al, (2007).

A intensidade da fluorescência da clorofila está relacionada com a quantidade de luz de excitação que atinge a clorofila na superfície do fruto. Como as antocianinas se localizam na camada epidérmica da casca após a clorofila, cobrindo parte da luz de excitação, reduzindo, assim, o sinal de fluorescência da clorofila de forma proporcional à sua concentração (Betemps et al., 2012).

Através do sensor óptico de fluorescência foram realizadas duas formas de análise: na pré-colheita e na pós-colheita. A avaliação na pré-colheita se deu pelas medições dos teores de antocianinas sem retirar o cacho de uva da planta. Foram avaliados cinco cachos, sendo realizadas duas leituras em cada cacho para cada cultivar. Estes foram coletados e submetidos à mesma análise com o sensor óptico na pós-colheita. A análise na pós-colheita, foi realizada em um trilho, próprio do equipamento, onde foi retirada as bagas do engaço para fazer as leituras. As bagas foram dispostas no trilho e se realizou três leituras ao decorrer do trilho por três vezes. A metodologia foi realizada da mesma forma para as distintas cultivares.

2.3 Análises físico-químicas

Para acompanhar a maturação tecnológica, nas mesmas amostras analisadas na pré e na pós-colheita pelo sensor óptico de fluorescência, foram realizadas as análises citadas a seguir.

Sólidos Solúveis (SS): foi obtido através de refratômetro digital, que consiste em medir o índice de refração da amostra, o resultado foi expresso em ° Brix.

Potencial Hidrogeniônico (pH): Determinado através de método eletrométrico, com o auxílio de um potenciômetro (pHmêtro) da marca Quimis modelo Q400A (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Acidez Titulável (AT): foram utilizadas 10 mL do suco da fruta adicionadas a 90 mL de água destilada. Após, a titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 N até atingir o ponto de viragem (pH 8,1). Em uvas, um dos

ácidos orgânicos predominantes é o tartárico. Desta forma, a acidez titulável será expressa em gramas de ácido tartárico por litro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Diâmetro das bagas: para medição foi utilizado um paquímetro digital medindo a região equatorial das bagas de 30 bagas para cada cultivar.

Posteriormente, as amostras foram armazenadas a temperatura de - 20 °C até o momento da análise de antocianinas totais.

2.4 Determinação antocianinas totais através do método convencional (ITV)

Para determinação das antocianinas totais foi utilizada somente a casca (pericarpo) das uvas, as mesmas foram trituradas em moinho de bolas em presença de nitrogênio líquido para evitar a degradação da amostra. Foi seguida a metodologia descrita por Ribereau-Gayon et al., (1971) com algumas modificações.

A presença de correlações entre o método convencional (ITV) e o sensor óptico de fluorescência foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (utilizando o programa Assistat).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises Físico-Químicas

No que se concerne os parâmetros físico-químicos de maturação (Fig. 1), foi verificado um comportamento adequado com a evolução da maturação tecnológica, ocorrendo o incremento dos teores de açúcares, redução da acidez e um aumento no diâmetro das bagas. Esta diminuição dos ácidos orgânicos ocorre com os processos metabólicos da maturação das frutas em decorrência do seu uso como substrato no processo respiratório ou de sua conversão em açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

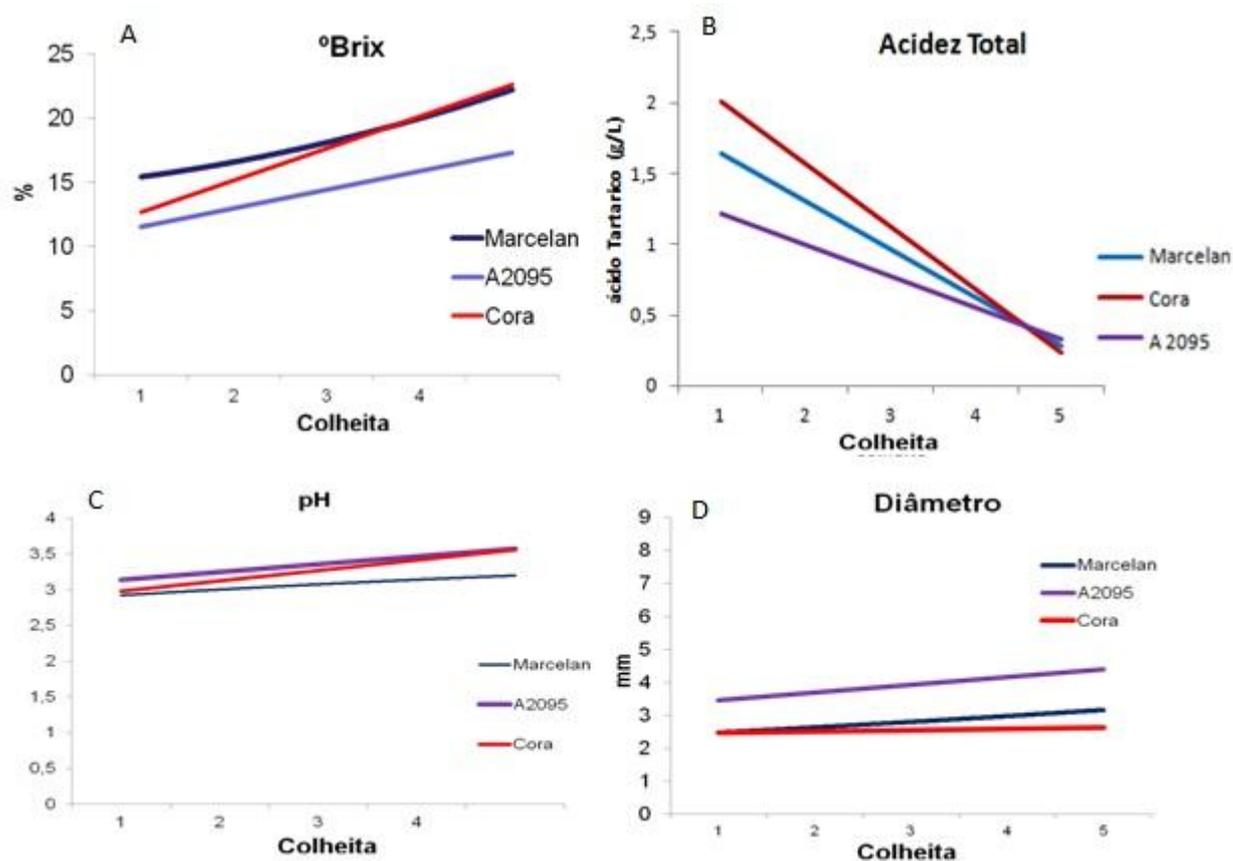


Figura 1- Linha de tendência para as análises de sólidos solúveis (°Brix), acidez total em % de ácido tartárico, Potencial hidrogeniônico e Diâmetro das bagas.

3.2 Índice de antocianinas e Antocianinas Totais

Os índices de antocianinas avaliados na pré e na pós-colheita através do sensor (Multiplex[®] 3), apresentaram um incremento das antocianinas ao decorrer das colheitas para BRS Cora e Arkansas 2095 (Fig. 2 A e B). Resultados esses que estão de acordo com Ribéreau-Gayon et al., (2006), que afirma que o incremento dos teores de antocianina total da casca da uva ocorre durante a maturação até atingir um valor máximo e depois diminui com a senescência.

Para cv. Marcelan avaliada na pré-colheita ocorreu um incremento nos teores de antocianinas, porém na pós-colheita demonstrou uma redução na terceira colheita voltando a aumentar nas colheitas posteriores, fato este, provavelmente causado por um problema de amostragem (Fig. 2 A). Quando avaliado os teores de antocianinas totais pelo método convencional houve o acúmulo desses compostos ao decorrer das colheitas para todas as cvs. estudadas (Fig. 2 C).

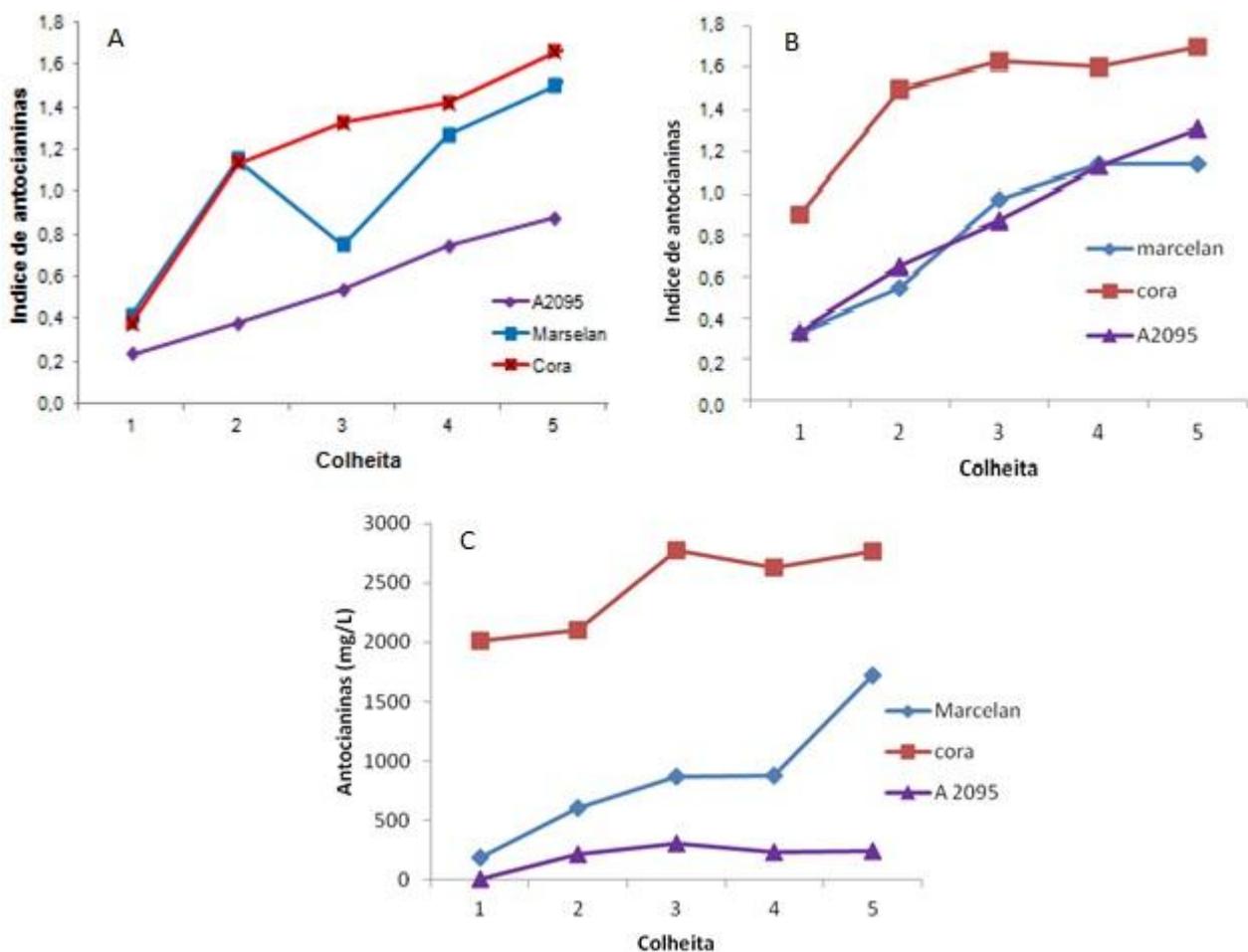


Figura 2- Índices de multiplex para antocianinas na pré-colheita (A), na pós-colheita (B) e teor de antocianinas pelo método convencional (C).

3.3 Método convencional versus sensor óptico de fluorescência

Os dados obtidos pelo sensor (Multiplex[®]3) para cv. Marcelan na pré-colheita não correlacionaram com os dados obtidos pelo método convencional ($r = 0,82^{ns}$). No entanto, quando avaliada pelo equipamento na pós-colheita os resultados correlacionaram com o método convencional através da função exponencial de $r =$

0,90*. Foi observada uma forte correlação entre os dados obtidos com o sensor na pré e na pós-colheita através da função exponencial de $r = 0,90^{**}$ (Tabela 1).

TABELA 1 – Correlações entre as variáveis: Ac – Antocianinas Campo; At – Antocianinas trilho; ITV – método convencional.

Marcelan			
	At	Ac	ITV
At	1	0,90 **	0,90 *
Ac		1	0,82 ^{ns}
ITV			1

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Para cultivar BRS Cora foi observada correlação positiva significativa para os teores de antocianinas obtidos pelo método convencional (ITV) e pelo índice de antocianinas pelo método do Multiplex[®] na pré-colheita através de uma função exponencial de $r = 0,52^{**}$ e na pós-colheita através da função exponencial $r = 0,73^{**}$ (Tabela 2). Foi observada uma forte correlação entre os dados obtidos com o sensor na pré e na pós-colheita através da função exponencial de $r = 0,88^{**}$. Indicando que para essa cultivar a medida de antocianinas pelo método do sensor óptico de fluorescência (Multiplex[®] 3) equivale ao método convencional, tanto para medidas realizadas na pré-colheita quanto na pós-colheita.

TABELA 2 – Correlações entre as variáveis: Ac – Antocianinas Campo; At – Antocianinas trilho; ITV – método convencional;

BRS Cora			
	At	Ac	ITV
At	1	0,88**	0,73 **
Ac		1	0,52*
ITV			1

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Para cv. Arkansas 2095 as antocianinas expressas em índice de Multiplex[®] (mV) correlacionaram com os resultados obtidos pelo método convencional (ITV) através

de uma função exponencial $r=0,89^{**}$ na pré-colheita e na pós-colheita através da função exponencial $r=0,73^{**}$. Foi observada uma forte correlação entre os dados obtidos com o sensor na pré e na pós-colheita através da função exponencial de $r=0,90^{**}$ (Tabela 3). Resultados esses que mostram ser possível utilizar o método não destrutivo como forma de verificar o acúmulo de antocianinas ao decorrer da maturação.

TABELA 3 – Correlações entre as variáveis: Ac – Antocianinas Campo; At – Antocianinas trilha; ITV – método convencional;

Arkansas 2095			
	At	Ac	ITV
At	1	0,90 **	0,86**
Ac		1	0,89**
ITV			1

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Através deste estudo foi possível verificar que o sensor óptico de fluorescência pode ser tão eficiente para determinar ao acúmulo de antocianinas durante a maturação quanto às análises convencionais para as cultivares Marcelan, BRS Cora e Arkansas 2095.

A determinação da maturação fenólica pelo método não destrutivo não visa substituir a maturação tecnológica, uma vez que esta representa o principal subsídio para decidir a data da colheita, por ser de fácil aplicação. Porém, conhecer o potencial antociânico da uva auxilia além de estabelecer o ponto adequada para a colheita (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006), a direcionar o processo fermentativo para o melhor aproveitamento de suas características (GONZÁLEZ-NEVES et al, 2004), no caso do vinho.

4 CONCLUSÃO

O sensor óptico de fluorescência representa uma ferramenta eficiente para monitorar e determinar acúmulo de antocianinas em uvas tintas das cultivares Marcelan, BRS Cora e Arkansas 2095. O sensor traz uma nova opção que poderá

ajudar a cadeia produtiva da uva a tomar decisões mais precisas sobre a colheita seletiva de uma forma rápida e rentável.

5 REFERÊNCIAS

- AGATI G., MEYER S., MATTEINI P. et al. Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a non-invasive chlorophyll fluorescence method. **J Agric Food Chem.** v.55, p.1053–1061, 2007.
- AGATI G, TATTINI M. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. **New Phytol.** v.186, p. 786–793, 2010.
- BETEMPS, D. L.; FACHINELLO, J. C.; GALARÇA, S. P. et al. Non-destructive evaluation of ripening and quality traits in apples using a multiparametric fluorescence sensor. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** v. 92, n. 9, p. 1855-64, 2012.
- CEROVIC, Z.G., MOISE, N., AGATI, G., et al. New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. **J. Food Comp.** v. 21, p. 650-654, 2008.
- CEROVIC, Z.G., MOISE, N., AGATI, G. et al. New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. In: **Precision Agriculture '07**, Stafford, J.V. (Ed.) Wageningen Academic Publishers, Wageningen, pp. poster 035, p. 031-036, 2007.
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 223S–229S, 2005.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia manuseio.** 2.ed. Lavras: ESALQ/FAEPE, 2005, 785p.
- GIOVANNINI, Eduardo; MANFROI, Vitor, **Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros.** 1 ed. Bento Gonçalves, 2009.
- GISHEN, M.; DAMBERGS, R.G.; COZZOLINO, D. Grape and wine analysis enhancing the power of spectroscopy with chemometrics. A review of some applications in the Australian wine industry. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 11, p. 296–305, 2005.

- GONZÁLEZ-NEVES, G.; BARREIRO, L.; GIL, G. et al. Anthocyanic composition of tannat grapes from the south region of Uruguay. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 1, p.197-202, 2004.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1ª Edição Digital.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A. et al. **Handbook of Enology** – v. 2: The Chemistry of Wine. 2 ed. John Wiley and Sons, p. 451, 2006.
- RIBÉREAU-GAYON, P. et al. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. **Chimie analytique**, v. 52, n. 6, p. 627-631, 1971.
- RÍO SEGADE, S.; ROLLE, L.; GERBI, V. et al. Phenolic ripeness assessment of grape skin by texture analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 644– 649, 2008.
- PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C.; MANFROI, L. Viticultura e enologia. . In: SOARES, J. M; LEÃO, P. C. de S (Eds.) **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro** . Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2009, p. 677-724.