

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

**Aplicação de metil jasmonato em uvas (*Vitis labrusca* L.) visando
enriquecimento dos frutos quanto aos compostos fenólicos,
flavonoides e estilbenos**

Laís Moro

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Purgatto

São Paulo
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Versão Original

**Aplicação de metil jasmonato em uvas (*Vitis labrusca* L.) visando
enriquecimento dos frutos quanto aos compostos fenólicos,
flavonoides e estilbenos**

Laís Moro

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Purgatto

São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Moro, Laís
M867a Aplicação de metil jasmonato em uvas (*Vitis labrusca* L.)
visando enriquecimento dos frutos quanto aos compostos fenólicos,
flavonoides e estilbenos / Laís Moro. -- São Paulo, 2019.
129p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental.
Orientador: Purgatto, Eduardo

1. Alimento : Composto fenolico : Ciencia dos alimentos. 2.
Bromatologia. I. T. II. Purgatto, Eduardo, orientador.

641 CDD

Laís Moro

Aplicação de metil jasmonato em uvas (*Vitis labrusca* L.) visando enriquecimento dos frutos quanto aos compostos fenólicos, flavonoides e estilbenos

Comissão julgadora para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Eduardo Purgatto

1º Examinador

2º Examinador

3º Examinador

4º Examinador

São Paulo, _____ de 2019

Aos meus pais, Domingos e Mari, pelo incentivo,

Amor e carinho.

A Giovani, pelo amor, incentivo e paciência.

A minha família e amigos.

Dedico e Ofereço

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Eduardo Purgatto, pela oportunidade, acreditar no projeto, paciência e amizade ao longo destes anos;

A toda equipe do Núcleo Tecnológico EPAMIG Uva e Vinho de Caldas, aos maravilhosos bolsistas de Iniciação Científica, e especialmente a Dra. Renata Vieira da Mota, pelo auxílio, troca de conhecimento e amizade.

A Departamento de Nutrição e Qualidade de Alimentos da Fundação Edmund Mach (FEM), a maravilhosa equipe do Prof. Fúlvio Mattivi, em especial a Panagiotis Arapitsas, meus sinceros agradecimentos e admiração.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pela oportunidade cedida à realização deste doutorado e a todos os funcionários; em especial aos professores e funcionário do departamento de Alimentos.

Agradeço a CAPES pela bolsa de estudos concedida no início do doutorado. À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo concedimento da bolsa e apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho, processo FAPESP 2016/08423–6 e 2017/20413–9.

A todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, aos amigos e colegas, muito obrigada!

Moro, L. **Aplicação de metil jasmonato em uvas (*Vitis labrusca* L.) visando enriquecimento dos frutos quanto aos compostos fenólicos, flavonoides e estilbenos.** Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil. 129p, 2019.

Resumo

As uvas (*Vitis. Sp*) são particularmente ricas em compostos fenólicos, como flavonóis, antocianinas e estilbenos. Estudos relacionados aos efeitos benéficos sobre a saúde exercidos por estes compostos, incentivam pesquisas que visem proporcionar o aumento em sua concentração nos frutos. Dentre o arcabouço de possibilidades para atingir tal resultado, alguns hormônios vegetais, e seus derivados como o metil-jasmonato (MeJa), tem mostrado resultados promissores em diversos frutos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo induzir o aumento no conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e estilbenos em uvas (*Vitis labrusca. L.*), através da aplicação de MeJa no período de pré-colheita. Foi realizada a otimização da aplicação do tratamento em uvas *Concord* e *Isabel Precoce* na região Sul durante as vindimas de 2015 e 2016. Os melhores resultados foram observados a partir da aplicação de MeJa em 2 períodos (*véraison* e 2 semanas pré-colheita). Houve aumento de *trans-resveratrol* especialmente em uvas *Isabel Precoce* em relação a frutos não tratados, e o perfil de compostos voláteis apresentou vias biosintéticas responsivas ao MeJa em ambas vindimas. A identificação de antocianinas demonstrou não haver modificação no perfil, sendo observadas diferenças apenas entre cultivares. Posteriormente, o tratamento foi avaliado em ambas cultivares nas regiões Sul (Bento Gonçalves, RS) e Sudeste (Caldas, MG) durante as vindimas de 2017 e 2019. Estas uvas foram processadas, e o suco foi avaliado quanto aos estilbenos durante o armazenamento (6 meses). Foi observado aumento do conteúdo de estilbenos nas uvas, e o suco elaborado com estas uvas, em comparação ao elaborado a partir de uvas não tratadas. Visando compreender o efeito de modo mais amplo, nas modificações proporcionadas pelo MeJa, em vias metabólicas que não sejam o alvo de nosso projeto, realizou-se um estudo metabolômico, nas uvas e suco de uvas cultivadas nas regiões Sul e Sudeste após aplicações do MeJa, durante a vindima de 2017. De modo geral, foram detectados como fortes marcadores estilbenos, antocianinas, ácidos fenólicos e flavonoides. O presente estudo demonstrou o potencial do MeJa na indução de compostos bioativos, com potencial na promoção da saúde, visto que marcadores presentes nas uvas se mantiveram após o processo térmico utilizado para a elaboração do suco.

Palavras-chave: uva, *Vitis labrusca*, metil jasmonato, estilbenos, metabolomica

Moro, L. **Methyl jasmonate application in grapes (*Vitis labrusca* L.) aiming to improve fruits phenolic compounds, flavonoids and stilbenes.** Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brazil. 129p, 2019.

Abstract

Grapes (*Vitis* sp.) are considered a major source of phenolic compounds, such as flavonols, anthocyanins and stilbenes. Studies related to the beneficial effects exerted by these compounds on health, have encouraged researches that aimed to increase their concentration in fruits. Among the framework of possibilities to achieve these results, some plant growth regulators and its volatile ester methyl-jasmonate (MeJa), have shown promising results in many fruits. On this context, the present work aimed induce phenolic compounds, flavonoids and stilbenes on grapes (*Vitis labrusca* L.), through pre harvest MeJa application. Treatment application optimization was performed on Concord and Isabel Precoce grapes on Brazilian south region on 2015 and 2016 harvest. Our best results were observed with MeJa application at 2 periods (*véraison* and 2 weeks before harvest). An increase of *trans*-resveratrol was observed specially for Isabel Precoce grapes in comparison with non-treated group, volatile compounds profile present biosynthetic pathways responsive to MeJa treatment on both harvests. Anthocyanin identification didn't display profile changes, being observed only differences between cultivars. Following, the treatment was evaluated on the same cultivars, on south (Bento Gonçalves, RS) and southeast (Caldas, MG) regions on 2017 and 2019 harvests. These grapes were processed and the juice evaluated regarding stilbenes content during storage (6 months), in comparison to non-treated grapes. In order to better understand the modifications promoted by MeJa treatment besides the target by our project, we performed a metabolomic study on grape and grape juice grown on south and southeast regions after MeJa treatment on 2017 harvest. In summary, we detect as strong markers stilbenes, anthocyanins, flavonoids and phenolic acids. The present study evidence the treatment with MeJa in inducing bioactive compounds, with potential on health promotion, since markers detected on grapes were detected even after thermal processing used for grape juice extraction.

Key words: grapes, *Vitis labrusca*, methyl jasmonate, stilbenes, metabolomics

Sumário

1. Introdução	10
2. Objetivo	19
Considerações finais	28

1. Introdução

A fruticultura de clima temperado, apesar de possuir uma área de produção inferior em relação às espécies de clima tropical e subtropical, destaca-se no cenário nacional, seja na produção dos frutos para consumo *in natura*, muitas vezes associado ao agroturismo, como para o aproveitamento pela indústria. Dentre as frutas mais produzidas destaca-se a uva, por representar 45% da produção total e 64% das exportações brasileiras das frutas de clima temperado (Fachinello et al., 2011). As uvas cultivadas no Brasil, são classificadas como europeias (*Vitis vinifera* L.), denominadas finas, e americanas ou híbridas (cruzamento entre europeias e americanas), denominadas comuns. Entre as cultivares americanas ou híbridas estão a *Vitis labrusca* L., *Vitis bourquina* L. e híbridos envolvendo várias espécies americanas e também *Vitis vinifera* L.

As cultivares americanas e seus híbridos, são muito utilizadas para a produção de vinhos comuns de mesa, sucos e também para o consumo *in natura*. Geralmente apresentam alta produtividade e são mais resistentes às doenças fúngicas, adaptando-se bem às condições ambientais brasileiras. Estas cultivares representam aproximadamente 80% das uvas processadas, sendo as cultivares Ives, Isabel, Concord e Niágara, responsáveis por 50% da produção total de uvas no Brasil (Giovannini, E. 2005; Lona, A. 2009; Toaldo et al., 2015).

Destacam-se as regiões vitícolas sul e sudeste brasileiro pelo potencial enológico e diversidade climática (Granato et al., 2016; Toaldo, et al. 2015; Regina et al., 2011). Na região Sul, o estado do Rio Grande do Sul (RS) é responsável pela produção de 90% das uvas brasileiras, possui quatro indicações de procedência (IP), que demarcam a origem das uvas e da produção, sendo: Altos Montes, Monte Belo, Pinto Bandeira e Farroupilha. Além disso, possui a única Denominação de Origem no Brasil, composta pelos municípios de Bento Gonçalves (61,07%), Garibaldi (33,49%) e Monte Belo do Sul (5,44%), no Vale dos Vinhedos (Tonietto et al., 2013). Conforme a classificação de Köppen, a região de Bento Gonçalves (RS) é classificada como *Cfa*, (subtropical) com uma temperatura média, no mês mais gelado abaixo de 18°C e a temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C. A pluviosidade no mês mais seco, é superior a 40mm (Alvares et al., 2013). O estado de Minas Gerais (MG), apresenta características únicas, que possibilitam a intervenção no ciclo da videira, desviando a colheita para um período mais seco, bem definido, cujas características

favorecem o amadurecimento das uvas (Tonietto et al., 2006; Regina et al., 2011). De acordo com a classificação de Köppen o clima da região de Caldas (MG) é do tipo *Cwb*, temperado quente (mesotérmico), sendo a temperatura média do mês mais frio entre 18°C e - 3°C, enquanto a temperatura média do mês mais quente é inferior a 22°C. Durante a época mais seca, o inverno, pelo menos um mês apresenta precipitação com média inferior a 60mm (Tonietto et al., 2006).

As uvas (*Vitis. Sp*) são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos, pois contém um grande número de classes de metabolitos secundários, possuindo uma composição de polifenóis muito rica tanto qualitativa como quantitativamente. Já foi bem demonstrada a associação de benefícios a saúde com o alto teor de compostos fenólicos, os quais incluem, o resveratrol, os flavonoides quercitina, catequinas, procianidinas, antocianinas entre outros. A grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado ao conteúdo e ao perfil dos polifenóis (Toaldo, et al., 2015; Xia, et al; 2010; Abe, et al., 2007).

O resveratrol (3, 5, 4'-trihidroxiestilbeno) é uma fitoalexina, cuja síntese em plantas está associada a resposta aos estresses bióticos e abióticos. Sua biossíntese tem como precursor a fenilalanina (Figura 1), substrato para a fenilalanina amonialiase (PAL) (EC 4.3.1.5) formar ácido cinâmico, que por sua vez, através da catálise da cinamato-4-hidroxilase (C4H) (EC 1.14.13.11), origina o ácido *p*-cumárico. Após a catálise da coumaroil-CoA ligase (4CL) (EC 6.2.1.12), forma-se a *p*-coumaroil-CoA que, junto a 3 moléculas de manoil-CoA, formam o *trans*-resveratrol, esta reação é catalisada pela estilbeno sintase (STS) (EC 2.3.1.95) (Stuart et al., 2013).

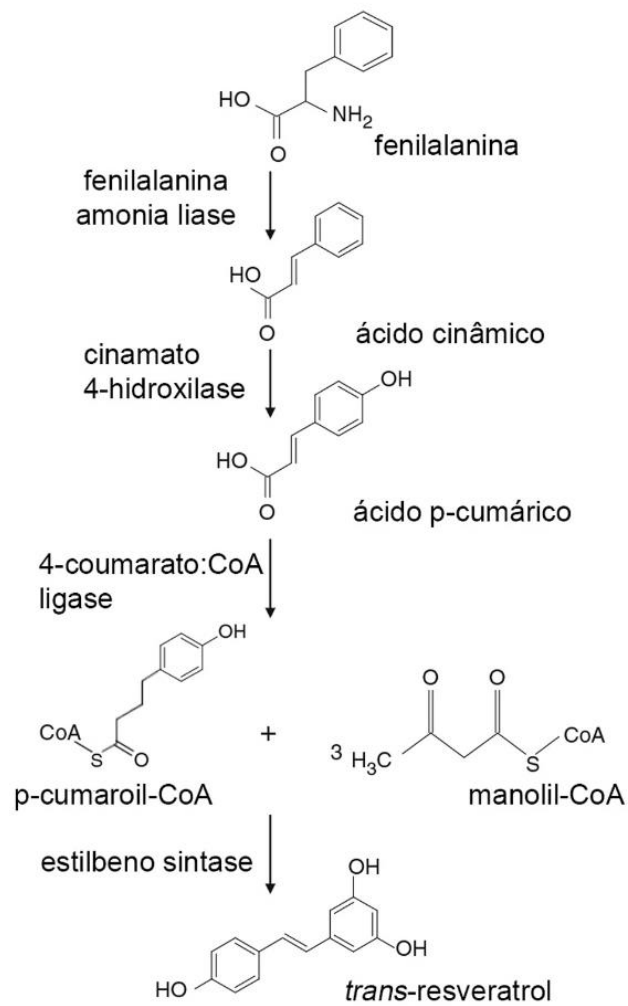


Figura 1. Via biosintética do resveratrol. Adaptado de Stuart, et al., (2013).

Visando facilitar o armazenamento, translocação e a proteção contra a degradação oxidativa, a glicosilação do *trans*-resveratrol forma o *piceid*. Além deste, o *trans*-resveratrol pode ser convertido a compostos como pterostilbeno e viniferina, através de metoxilação e oligomerização oxidativa, respectivamente (Figura 2).

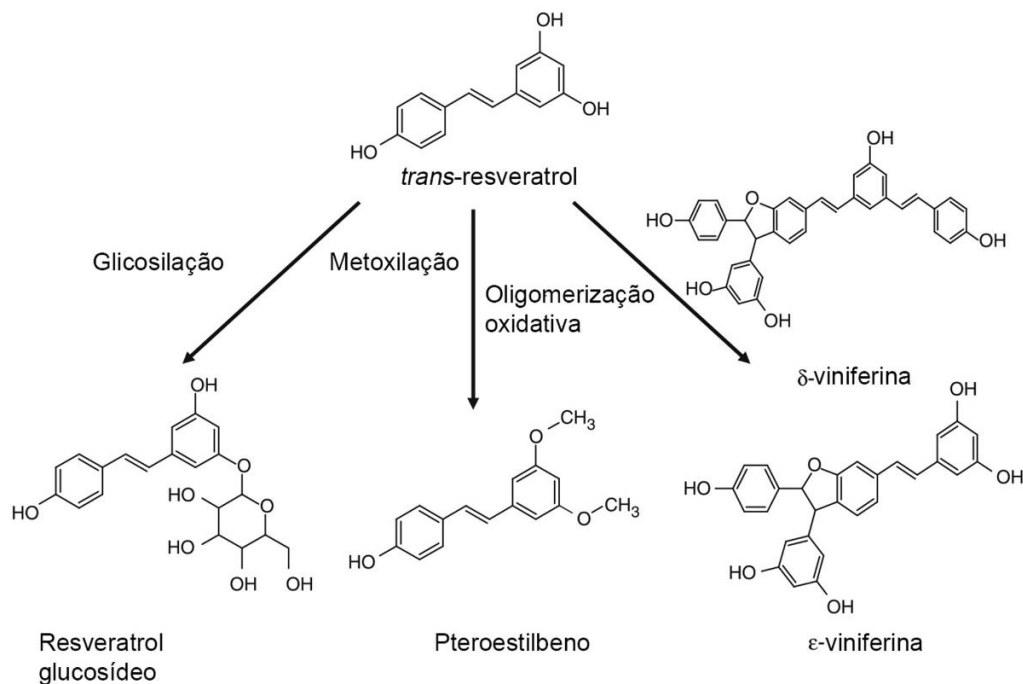


Figura 2. Derivados do *trans-resveratrol*. Adaptado de Stuart, et al., (2013).

Desde sua descoberta em 1940, o resveratrol tem recebido bastante atenção da comunidade científica. Os estudos relacionados aos efeitos na saúde da ingestão de vinho ou suco de uva tornaram-se mais frequentes, e colocaram em destaque o que foi denominado de “paradoxo francês”. Este sugere que os indivíduos franceses têm uma incidência relativamente baixa de doenças coronárias (cardio-circulatórias), apesar de suas dietas ricas em gorduras saturadas, devido ao consumo regular de vinho, que contém compostos antioxidantes, tais como antocianinas, taninos e especialmente resveratrol, que possui a capacidade de reduzir os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) séricas (Wang et al., 2015; Sautter et al., 2005; Renaud et al., 1992). Também há registros de estudos que atribuem ao resveratrol atividades anti-inflamatória, antiobesidade, antidiabetes e neuroprotetivas (Stuart & Robb, 2013; Xia et al., 2010). As mais recentes e promissoras pesquisas indicam que o resveratrol é capaz de mimetizar os efeitos de uma dieta de baixas calorias, cujos efeitos incluem o aumento da longevidade em animais de laboratório, através da ativação de diferentes formas de proteínas da família das sirtuínas (Guarente, L. 2017). Muitos estudos estão sendo realizados no sentido de identificar se o mesmo pode ocorrer em seres humanos. Além disso, alguns derivados de resveratrol, apresentam atividades biológicas similares as encontradas neste composto, podendo

apresentar maior biodisponibilidade *in vivo* que o próprio resveratrol (Stuart et al., 2017).

Em função dos resultados obtidos dos efeitos benéficos do resveratrol e seus derivados sobre a saúde, diversas propostas vêm sendo apontadas para aumentar os níveis de estilbenos na uva e, por conseguinte, em seus subprodutos como o vinho e o suco. Os vinhos brasileiros apresentam-se como uma boa fonte de estilbenos (Vitrac et al., 2005), mas ainda há possibilidades para aumentar as concentrações destes compostos na bebida. Estudos demonstraram que a suplementação de resveratrol em vinho tinto até 200 mg/L, não altera a palatabilidade do produto e os níveis do estilbeno permanecem estáveis (Gaudette et al., 2011). Vinhos e sucos enriquecidos com resveratrol tornam-se meios efetivos de aumentar o consumo de estilbenos na dieta. Contudo, esta é uma alternativa que pode encarecer o preço final do produto tornando-o, assim, pouco atraente para os consumidores.

Estratégias que independam da obtenção de culturas geneticamente modificadas ou mesmo da seleção de clones com variação genética natural, podem ser empregadas em campo ou na pós-colheita, com o intuito de aumentar a concentração de compostos do metabolismo secundário. Neste aspecto, diversos tratamentos com reguladores de crescimento vegetal têm sido propostos para aumentar o teor de compostos bioativos em frutos e hortaliças e, assim, aumentar o valor nutricional dos produtos hortícolas e sua atração para um público cada vez mais informado e exigente no que tange sua saúde.

Dentre os hormônios vegetais que vem sendo estudados para esta finalidade, estão os jasmonatos. Esta classe hormonal desempenha um importante papel como regulador intracelular de diversos processos de desenvolvimento e respostas de defesa (Vezzuli et al., 2007).

O ácido jasmônico (AJ) é sintetizado nas plantas a partir do ácido linolênico que é liberado principalmente das membranas dos plastídeos e convertido ao produto final na via dos octodecanóides (Taiz & Zeiger, 2004; Kerbauy, 2004). Especificamente, a oxigenação do ácido linolênico, pela enzima lipoxigenase (LOX; EC 1.13.11.12), que gera o ácido 13-hidroxi-linolênico, o qual é convertido pela aleno-óxido sintase (AOS; EC: 4.2.1.92), a enzima passo-limitante da biossíntese do AJ (Soto, et al., 2012).

O ácido jasmônico é catabolizado formando vários conjugados no citosol, dentre os quais, o éster volátil metil-jasmonato (MJ), que é produto da ação de uma carboxi-metil transferase (EC: 2.1.1.141), sendo a reação reversa catalisada pela metil-jasmonato esterase.

O metil-jasmonato ocorre naturalmente nas plantas, está presente na maioria das frutas e tem um histórico seguro de exposição alimentar, sendo considerado um agente flavorizante não tóxico pela FAO/WHO. Além disso, é classificado pela *Food Drug and Administration* (FDA) como substância “*Generally Recognized as Safe* (GRAS)”. Este hormônio vegetal é indutor de resistência sistêmica adquirida (SAR-indutor), desencadeando respostas de defesa, ajudando a proteger a planta contra ataques de insetos, fungos e bactérias (Pfeife, et al., 2013). Este mecanismo de aumento da resistência pode proporcionar efeitos direto e indireto, como a expressão gênica e síntese de fenólicos, fitoalexinas como quitinases e β , 1,3, glucanases, diversos compostos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, inibidores de proteases, alcaloides, e aumentando compostos aromáticos que são desagradáveis para patógenos ou possuem atividade bactericida ou fungicida (Asghari, M., 2019).

Diversos estudos indicam que AJ aumenta a biossíntese de compostos fenólicos em diversas plantas (Figura 3) através da ativação da via do shikimato e ativando diversos sinais para a expressão gênica e atividade de enzimas como a fenilalanina amônia liase (PAL; EC 4.3.1.24); chalcona sintase (CHS; EC 2.3.1.74) e estilbeno sintase (STS; EC: 2.3.1.95), proporcionando um aumento significativo na síntese de estilbenos e flavonoides como antocianinas e taninos condensados (Fig 3).

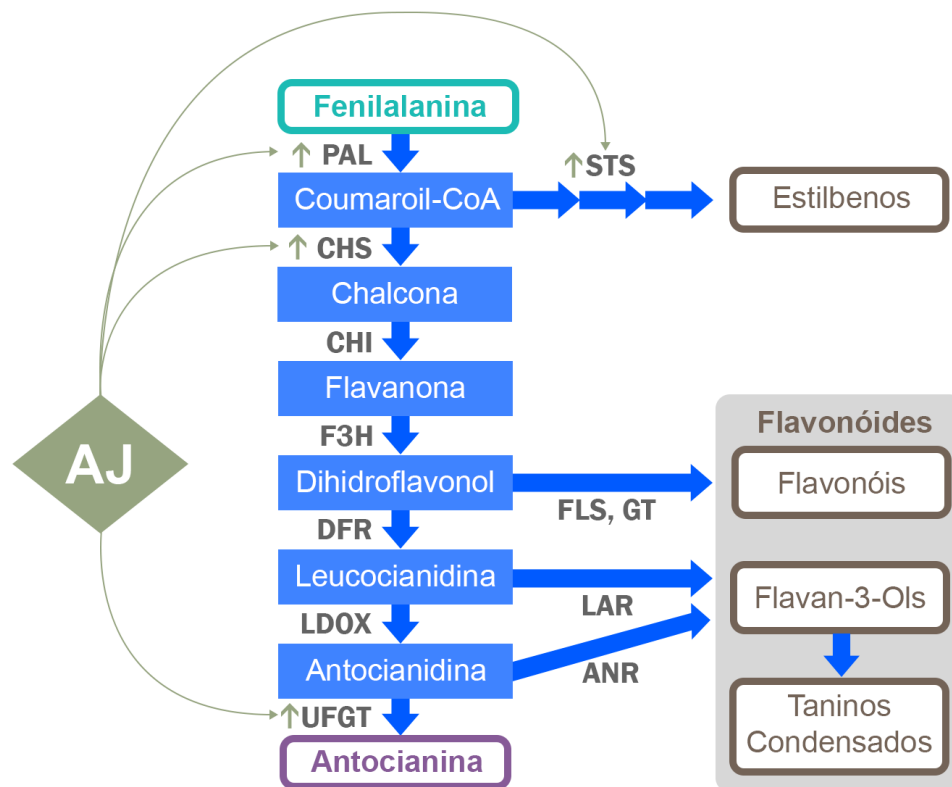


Figura 3. Mecanismo de aumento da biossíntese de fenólicos através de jasmonatos. Adaptado de Asghari, M (2019). CHI - chalcona isomerase; F3H – flavanona 3-hidroxilase; DFR – dihidroflavonol redutase; LDOX: leucocianidina dioxygenase; UFGT - UDP glicose: flavonóide-3-O-glicosiltransferases. GT – glicosiltransferases; FLS – flavonol sintase; LAR – leucoantocianidina redutase; e ANR – antocianidina reductase;

Aplicações repetidas de metil-jasmonato em vinhas *V. vinifera* em desenvolvimento, aumentaram substancialmente os níveis de *trans*-resveratrol e viniferina nas bagas (Larronde et al. 2003; Vezzulli et al. 2007). Em cultura de células de videiras, o metil-jasmonato estimulou a síntese de estilbenos (Portu et al., 2016; Young et al., 2014). Vezzulli e colaboradores (2007) observaram aumento na síntese de *trans*-resveratrol após a aplicação de 10 mM MJ (dissolvido em 100% etanol) em *V. vinifera* cv. Barbera, durante o amadurecimento através de três aspersões nos cachos em intervalos de 48 horas na mudança da cor dos frutos, sendo coletadas as amostras no 8º dia após os tratamentos.

Contudo, devido a sua complexidade, poucos estudos com aplicação de MJ em uvas são realizados a campo, sendo em sua maioria, realizados *in vitro* (cultura celular), ou em casas de vegetação em ambientes controlados. O destaque do estudo aqui proposto foi avaliar a viabilidade de sua utilização em um ambiente com a

complexidade de variáveis como variações meteorológicas, interação com outras plantas e outros fatores. Além disso, os estudos desenvolvidos até o momento foram realizados com cultivares de *Vitis vinifera* L., visando o enriquecimento de uvas e a elaboração de vinhos. No entanto, no Brasil aproximadamente 80% das uvas processadas são *Vitis labrusca* L. originando vinhos de mesa, geleias, e especialmente suco.

Destaca-se o suco de uva brasileiro, por ser elaborado com estas uvas e apresentar as características de aroma e sabor apreciados pelos consumidores nacionais e de vários outros países. Observa-se nos últimos anos, um aumento na elaboração de suco de uva, decorrente da crescente demanda (Gráfico 1).

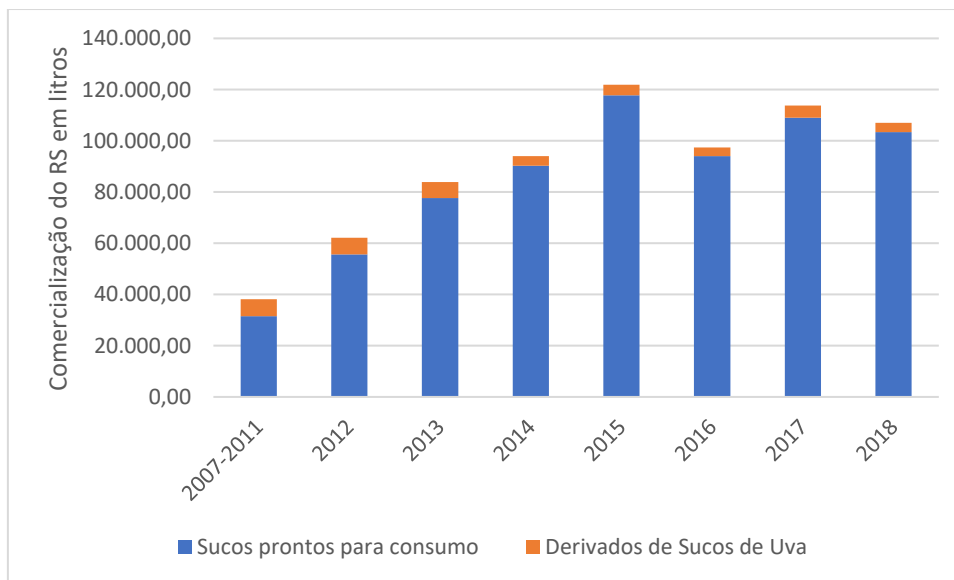


Gráfico 1. Evolução da comercialização de suco de uva no Rio Grande do Sul, dados: IBRAVIN (2019)

Do total do suco elaborado na vindima de 2018, 92,6% apresenta-se na forma natural/ integral, seguido por reprocessado/reconstituído (5,4%), polpa de uva (1,51) e mosto de uva (0,12) (IBRAVIN, 2019).

Este acréscimo na elaboração de suco de uva, recebeu um incentivo nos últimos anos, decorrente do aumento de consumo. Neste último ano (2017/2018) o consumo de suco de uva aumentou 23,28% (IBRAVIN, 2019). Além deste, houve a inclusão do suco de uva nas refeições das escolas públicas, através da Lei Nº 13.247, de 08 de setembro de 2009 do estado do Rio Grande do Sul e Lei Promulgada Nº 14.995, de 16 de dezembro de 2009 do estado de Santa Catarina. Disponibilizando um produto mais saudável para crianças e estimulando o setor vitícola, especialmente

pequenos produtores e agronegócios familiares (Dachery et al., 2016). Em todo país, um grande número de pequenos empreendimentos familiares (cerca de 50.000 produtores), elaboram o suco pelo sistema de panela extratora por arraste de vapor (Figura 4) (Guerra et al., 2016).

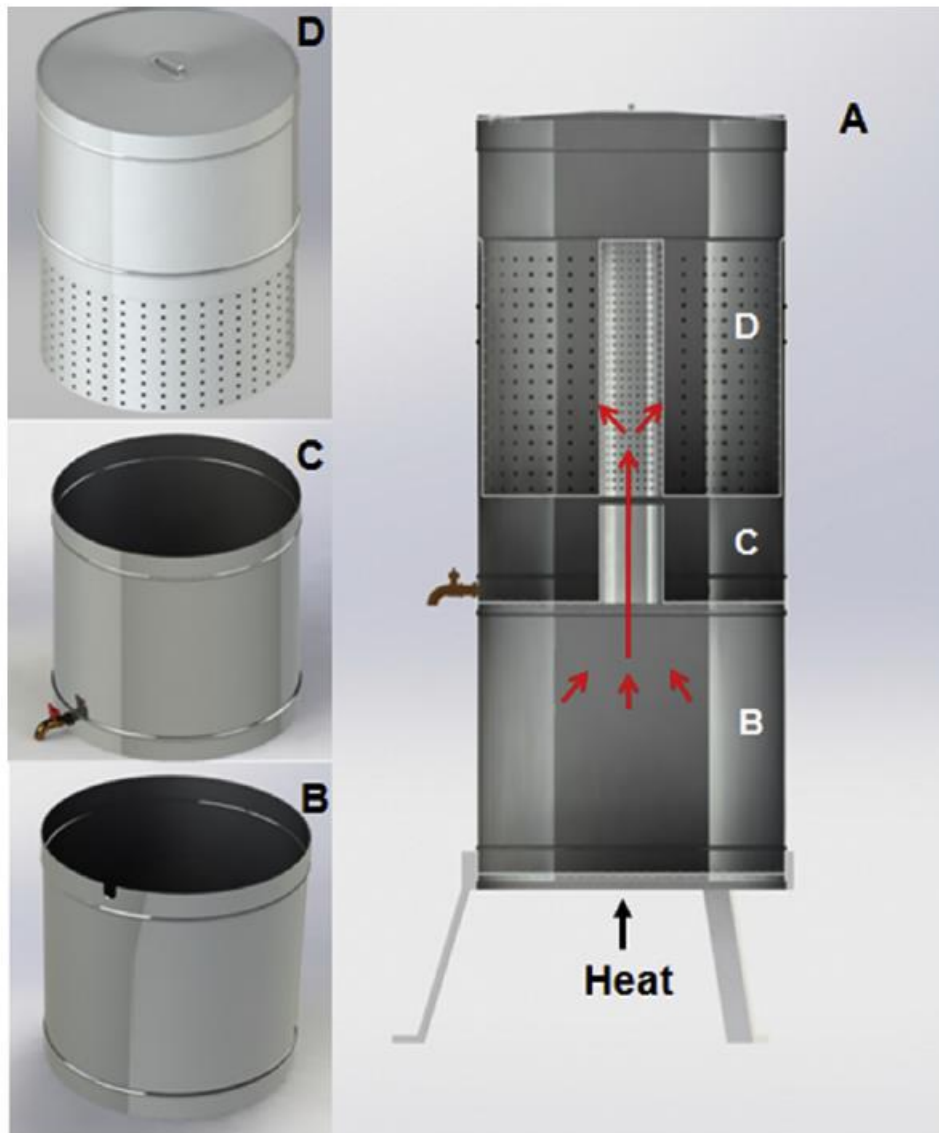


Figura 4. Sistema de Extração de arraste de Vapor. Adaptado de Dachery et al., (2017). A - Visualização interna da panela extratora. B - Reservatório de água; C - coletor do suco; D – armazenamento das uvas.

Este sistema consiste de uma fonte de calor (caldeira, fornalha, vaso de aquecimento ou queimador a gás ou a óleo Diesel), que aquece um recipiente (panela) contendo água potável (Figura 4 - B). Na parte superior está acoplada uma segunda

panela (Figura 4 - D), com pequenos orifícios em sua parte inferior, a qual contém a uva desgranada e intacta. O vapor d'água formado pela fervura, sobe e passa através das bagas de uva, amolecendo-as. Desse modo, o suco das bagas amolecidas é liberado e recolhido (Figura 4 - C). O suco assim obtido pode ser imediatamente engarrafado, ainda quente, ou ser resfriado para a decantação das borras para mais tarde sofrer pasteurização (o suco é colocado de volta na panela e aquecido) e envase (Guerra et al., 2016; Dachery et al., 2017).

Em estudos da ingestão de suco de uva elaborado com *V. labrusca* L., foi observado que 1 hora após o consumo de suco foi suficiente para determinar um aumento do status antioxidante. Os rápidos efeitos verificados no plasma, neste estudo, foram associados a capacidade dos compostos presentes no suco, como compostos fenólicos, de modular mecanismos oxidativos enzimáticos e não enzimáticos, sem afetar o status glicêmico (Toaldo et al., 2015). Também foi observado um efeito protetivo do consumo de suco de uva, contra peroxidação lipídica, através da limpeza de radicais peroxil na membrana fosfolipídica das células (Toaldo et al., 2016).

Em um cenário no qual os consumidores estão priorizando dietas mais saudáveis e aumentando seu conhecimento sobre procedência, qualidade e segurança de alimentos, uvas enriquecidas em seus compostos bioativos, assim como seus produtos derivados, como o suco de uva, se destacam perante o mercado consumidor. O suco de uva apresenta-se como uma boa fonte natural de polifenóis com efeitos bioativos para a população, particularmente para crianças, jovens e adultos que não consomem bebidas alcoólicas.

2. Objetivo

Através de aplicação do hormônio vegetal metil-jasmonato no período de pré-colheita em uvas (*Vitis labrusca* L.), aumentar nas bagas os níveis de estilbenos, dentre os quais o resveratrol, assim como outros compostos fenólicos, levando a obtenção de produto com maior potencial bioativo, quando comparado aos frutos não tratados.

References

- Alves Filho, E. G., Silva, L. M. A., Ribeiro, P. R. V., de Brito, E. S., Zocolo, G. J., Souza-Leão, P. C., et al. (2019). ¹H NMR and LC-MS-based metabolomic approach for evaluation of the seasonality and viticultural practices in wines from São Francisco River Valley, a Brazilian semi-arid region. *Food Chemistry*, 289(October 2018), 558–567. doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.103
- Antonio, M., Jocimar, M., Callili, D., Luiz, J., & Fernandes, M. (2020). Scientia Horticulturae Yield of white and red grapes , in terms of quality , from hybrids and *Vitis labrusca* grafted on different rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 259(July 2019), 108846. doi:10.1016/j.scienta.2019.108846
- Arapitsas, P., Corte, A. Della, Gika, H., Narduzzi, L., Mattivi, F., & Theodoridis, G. (2016). Studying the effect of storage conditions on the metabolite content of red wine using HILIC LC-MS based metabolomics. *Food Chemistry*, 197, 1331–1340. doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.084
- Arapitsas, P., Guella, G., & Mattivi, F. (2018). The impact of SO₂ on wine flavanols and indoles in relation to wine style and age. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13. doi:10.1038/s41598-018-19185-5
- Arapitsas, P., Speri, G., Angeli, A., Perenzoni, D., & Mattivi, F. (2014). The influence of storage on the “chemical age” of red wines. *Metabolomics*, 10(5), 816–832. doi:10.1007/s11306-014-0638-x
- Arapitsas, P., Ugliano, M., Perenzoni, D., Angeli, A., Pangrazzi, P., & Mattivi, F. (2016). Wine metabolomics reveals new sulfonated products in bottled white wines, promoted by small amounts of oxygen. *Journal of Chromatography A*, 1429, 155–165. doi:10.1016/j.chroma.2015.12.010
- Asghari, M. (2019). Impact of jasmonates on safety, productivity and physiology of food crops. *Trends in Food Science and Technology*, 91(January), 169–183. doi:10.1016/j.tifs.2019.07.005
- Bavaresco, L., Lucini, L., Busconi, M., Flamini, R., & de Rosso, M. (2016). Wine resveratrol: From the ground up. *Nutrients*, 8(4). doi:10.3390/nu8040222
- Biasoto, A. C. T., Netto, F. M., Marques, E. J. N., & Da Silva, M. A. A. P. (2014). Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. *Food Research International*.

- doi:10.1016/j.foodres.2014.03.052
- Camarão, A., Biasoto, T., Netto, F. M., José, E., Marques, N., Aparecida, M., et al. (2014). Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. *FRIN*, 62, 456–466.
doi:10.1016/j.foodres.2014.03.052
- Chong, J., Soufan, O., Li, C., Caraus, I., Li, S., Bourque, G., et al. (2018). MetaboAnalyst 4.0: Towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W486–W494.
doi:10.1093/nar/gky310
- Cox, E. D., & Cook, J. M. (1995). The Pictet-Spengler Condensation: A New Direction for an Old Reaction. *Chemical Reviews*, 95(6), 1797–1842.
doi:10.1021/cr00038a004
- da Mota, R. V., Glória, M. B. A., de Souza, B. S., Peregrino, I., Pimentel, R. M. de A., Dias, F. A. N., et al. (2018). Bioactive compounds and juice quality from selected grape cultivars. *Bragantia*, 77(1), 62–73. doi:10.1590/1678-4499.2016369
- da Silva, M. J. R., da Silva Padilha, C. V., dos Santos Lima, M., Pereira, G. E., Filho, W. G. V., Moura, M. F., & Tecchio, M. A. (2019). Grape juices produced from new hybrid varieties grown on Brazilian rootstocks – Bioactive compounds, organic acids and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 289(September 2018), 714–722. doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.060
- Danişman, G., Arslan, E., & Toklucu, A. K. (2015). Kinetic Analysis of Anthocyanin Degradation and Polymeric Colour Formation in Grape Juice during Heating, 2015(2), 103–108. doi:10.17221/446/2014-CJFS
- de Oliveira, J. B., Egipito, R., Laureano, O., de Castro, R., Pereira, G. E., & Ricardo-da-Silva, J. M. (2019). Climate effects on physicochemical composition of Syrah grapes at low and high altitude sites from tropical grown regions of Brazil. *Food Research International*, 121(January), 870–879.
doi:10.1016/j.foodres.2019.01.011
- Degu, A., Morcia, C., Tumino, G., Hochberg, U., Toubiana, D., Mattivi, F., et al. (2015). Plant Physiology and Biochemistry Metabolite profiling elucidates communalities and differences in the polyphenol biosynthetic pathways of red and white Muscat genotypes. *Plant Physiology et Biochemistry*, 86, 24–33.
doi:10.1016/j.plaphy.2014.11.006

- Fachinello, J. C., Pasa, M. D. S., Schmitz, J. D., & Betemps, D. L. (2011). Situation and perspectives of temperate fruit crops in Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 109–120. doi:10.1590/S0100-29452011000500014
- Fan, L., Shi, J., Zuo, J., Gao, L., Lv, J., & Wang, Q. (2016). Methyl jasmonate delays postharvest ripening and senescence in the non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 120, 76–83. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.05.010
- Figueiredo-González, M., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2013). Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV-Vis spectrophotometry. *Food Chemistry*, 140(1–2), 217–224. doi:10.1016/j.foodchem.2013.02.055
- Flamini, R., De Rosso, M., De Marchi, F., Dalla Vedova, A., Panighel, A., Gardiman, M., et al. (2013). An innovative approach to grape metabolomics: Stilbene profiling by suspect screening analysis. *Metabolomics*, 9(6), 1243–1253. doi:10.1007/s11306-013-0530-0
- Flamini, R., Mattivi, F., Rosso, M. De, & Arapitsas, P. (2013). Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics : Anthocyanins , Stilbenes and Flavonols, 19651–19669. doi:10.3390/ijms141019651
- Flamini, R., Traldi, P., Desiderio, D. M., & Nibbering, N. M. M. (2010). *Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry. Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry*. doi:10.1002/9780470552926
- Garde-cerdán, T., Portu, J., López, R., & Santamaría, P. (2016). Effect of methyl jasmonate application to grapevine leaves on grape amino acid content, 203, 536–539. doi:10.1016/j.foodchem.2016.02.049
- Gerós, H., & Delrot, M. M. C. H. M. G. S. (2016). *Grapevine in a Changing Environment A Molecular and*. (D. S. Geros Hernani, Chaves Maria Manuela, Gil Hipolito Medrano, Ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J. I., Crespo-Villegas, O., & Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitors used as a tool to increase stilbenes in grapes and wines. *Food Research International*, 98, 34–39. doi:10.1016/j.foodres.2016.11.035
- Gil, R., José, M., Fernández, I., Javier, F., & Cerdán, T. G. (2018). Methyl jasmonate : effect on proanthocyanidin content in Monastrell and Tempranillo grapes and wines. *European Food Research and Technology*, 244(4), 611–621.

- doi:10.1007/s00217-017-2981-4
- Gómez-Plaza, E., Mestre-Ortuño, L., Ruiz-García, Y., Fernández-Fernández, J. I., & López-Roca, J. M. (2012). Effect of benzothiadiazole and methyl jasmonate on the volatile compound composition of *Vitis vinifera* L. Monastrell grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. doi:10.5344/ajev.2012.12011
- GUERRA, C. (2016). Sistema para elaboração de suco de uva integral em pequenos volumes: suquificador integral.
- Haug, K., Salek, R. M., Conesa, P., Hastings, J., De Matos, P., Rijnbeek, M., et al. (2013). MetaboLights - An open-access general-purpose repository for metabolomics studies and associated meta-data. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 781–786. doi:10.1093/nar/gks1004
- Herraiz, T., Industriales, I. D. F., & Cierva, J. De. (1999). 1, 2, 3, 4-Tetrahydro- - carboline-3-carboxylic Acid in Fruits, 4883–4887. doi:10.1021/jf990233d
- Jardine, K., Karl, T., Lerda, M., Harley, P., Guenther, A., & Mak, J. E. (2009). Carbon isotope analysis of acetaldehyde emitted from leaves following mechanical stress and anoxia. *Plant Biology*, 11(4), 591–597. doi:10.1111/j.1438-8677.2008.00155.x
- Javier Portu, Pilar Santamaría, Isabel López-Alfaro, Rosa López, and T. G.-C. (2015). Methyl jasmonate foliar application to tempranillo vineyard improved grape and wine phenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 2328–2337. doi:10.1021/jf5060672
- Jeffrey A. Stuart • Ellen L. Robb. (2013). *Bioactive Polyphenols from Wine Grapes*. Springer. doi:10.1007/978-1-4614-6968-1
- Keller, M. (2010). *THE SCIENCE GRAPEVINES: OF ANATOMY AND PHYSIOLOGY*. (M. KELLER, Ed.). doi:978-0-12-374881-2
- Koyama, R., Roberto, S. R., de Souza, R. T., Borges, W. F. S., Anderson, M., Waterhouse, A. L., et al. (2018). Exogenous Abscisic Acid Promotes Anthocyanin Biosynthesis and Increased Expression of Flavonoid Synthesis Genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* Table Grapes in a Subtropical Region. *Frontiers in Plant Science*, 9(March), 1–12. doi:10.3389/fpls.2018.00323
- Lambri, M., Torchio, F., Colangelo, D., Río Segade, S., Giacosa, S., De Faveri, D. M., et al. (2015). Influence of different berry thermal treatment conditions, grape

- anthocyanin profile, and skin hardness on the extraction of anthocyanin compounds in the colored grape juice production. *Food Research International*, 77, 584–590. doi:10.1016/j.foodres.2015.08.027
- Lima, M. D. S., Da Conceição Prudêncio Dutra, M., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Pereira, G. E., De Oliveira, D., et al. (2015). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. *Food Chemistry*, 188, 384–392. doi:10.1016/j.foodchem.2015.04.014
- Lima, M. D. S., Silani, I. D. S. V., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Biasoto, A. C. T., Pereira, G. E., et al. (2014). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food Chemistry*, 161, 94–103. doi:10.1016/j.foodchem.2014.03.109
- Liu, C., Wang, L., Wang, J., Wu, B., Liu, W., Fan, P., et al. (2013). Resveratrols in *Vitis* berry skins and leaves : Their extraction and analysis by HPLC. *Food Chemistry*, 136(2), 643–649. doi:10.1016/j.foodchem.2012.08.017
- Margraf, T., Santos, É. N. T., de Andrade, E. F., van Ruth, S. M., & Granato, D. (2016). Effects of geographical origin, variety and farming system on the chemical markers and in vitro antioxidant capacity of Brazilian purple grape juices. *Food Research International*, 82, 145–155. doi:10.1016/j.foodres.2016.02.003
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., & Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7692–7702. doi:10.1021/jf061538c
- Moro, L., da Silva, N. T., Hassimotto, N. M. A., & Purgatto, E. (2019). Methyl jasmonate application to increase volatile compounds of *Vitis labrusca* L. grape berries cultivated under subtropical conditions. *Acta Horticulturae*, (1248), 425–438. doi:10.17660/actahortic.2019.1248.60
- Moro, L., Hassimotto, N. M. A., & Purgatto, E. (2017). Postharvest Auxin and Methyl Jasmonate Effect on Anthocyanin Biosynthesis in Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(3). doi:10.1007/s00344-017-9682-x
- Muche, B. M., Speers, R. A., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). Storage Temperature Impacts on Anthocyanins Degradation , Color Changes and Haze Development

- in Juice of “ Merlot ” and “ Ruby ” Grapes (*Vitis vinifera*), 5(October), 1–9.
doi:10.3389/fnut.2018.00100
- Narduzzi, L., Stanstrup, J., & Mattivi, F. (2015). Comparing Wild American Grapes with *Vitis vinifera*: A Metabolomics Study of Grape Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(30), 6823–6834.
doi:10.1021/acs.jafc.5b01999
- Nixdorf, S. L., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2010). Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: Phenolic composition and antioxidant capacity. *Analytica Chimica Acta*, 659(1–2), 208–215. doi:10.1016/j.aca.2009.11.058
- Palliotti, A., Tombesi, S., Silvestroni, O., Lanari, V., Gatti, M., & Poni, S. (2014). Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. *Scientia Horticulturae*, 178, 43–54.
doi:10.1016/j.scienta.2014.07.039
- Per, T. S., Khan, M. I. R., Anjum, N. A., Masood, A., Hussain, S. J., & Khan, N. A. (2018). Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters. *Environmental and Experimental Botany*, 145(November 2017), 104–120. doi:10.1016/j.envexpbot.2017.11.004
- Portu, J., López, R., Baroja, E., Santamaría, P., & Garde-cerdán, T. (2016). Improvement of grape and wine phenolic content by foliar application to grapevine of three different elicitors : Methyl jasmonate , chitosan , and yeast extract. *FOOD CHEMISTRY*, 201, 213–221.
doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.086
- Portu, J., López, R., Ewald, P., Santamaría, P., Winterhalter, P., & Garde-Cerdán, T. (2018). Evaluation of Grenache, Graciano and Tempranillo grape stilbene content after field applications of elicitors and nitrogen compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 1856–1862. doi:10.1002/jsfa.8662
- Portu, J., Santamar, P., Lo, I., Lo, R., & Garde-cerda, T. (2015). Methyl Jasmonate Foliar Application to Tempranillo Vineyard Improved Grape and Wine Phenolic Content. doi:10.1021/jf5060672
- Regina, M.A., Mota, R.V., Souza, C.R. and Favero, A. C. (2011). Viticulture for Fine Wines in Brazilian Southeast. *Acta horticulturae*, 910(October), 113–120.
doi:10.17660/ActaHortic.2011.910.8
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., D. D. (2006). *Handbook of Enology*.

- Romero, P., Botía, P., & Navarro, J. M. (2018). Selecting rootstocks to improve vine performance and vineyard sustainability in deficit irrigated Monastrell grapevines under semiarid conditions. *Agricultural Water Management*, 209(July), 73–93. doi:10.1016/j.agwat.2018.07.012
- Ruiz-garc, Y., Romero-cascales, I., Gil-mun, R., & Ignacio, J. (2012). Improving Grape Phenolic Content and Wine Chromatic Characteristics through the Use of Two Different Elicitors: Methyl Jasmonate versus Benzothiadiazole. doi:10.1021/jf204028d
- Ruiz-garcía, Y., Romero-cascales, I., Bautista-ortín, A. B., Gil-muñoz, R., & Martínez-cutillas, A. (2013). Increasing Bioactive Phenolic Compounds in Grapes : Response of Six Monastrell Grape Clones to Benzothiadiazole and Methyl Jasmonate Treatments, 2. doi:10.5344/ajev.2013.13038
- Ruiz-García, Y., Romero-Cascales, I., Bautista-Ortín, A. B., Gil-Muñoz, R., Martínez-Cutillas, A., & Gómez-Plaza, E. (2013). Increasing bioactive phenolic compounds in grapes: Response of six monastrell grape clones to benzothiadiazole and methyl jasmonate treatments. *American Journal of Enology and Viticulture*. doi:10.5344/ajev.2013.13038
- S. F. PRICE P. J. BREEN M. VALLADAO, B. T. W. (1995). Cluster Sun Exposure and Quercetin in Pinot noir Grapes and Wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46(2), 187–194.
- Saavedra, G. M., Figueroa, N. E., Poblete, L. A., Cherian, S., & Figueroa, C. R. (2016). Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of *Fragaria chiloensis* fruit. *Food Chemistry*, 190, 448–453. doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.107
- Santos, L. P., Morais, D. R., Souza, N. E., Cottica, S. M., Boroski, M., & Visentainer, J. V. (2011). Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2011.02.022
- Shahaf, N., Franceschi, P., Arapitsas, P., Rogachev, I., Vrhovsek, U., & Wehrens, R. (2013). Constructing a mass measurement error surface to improve automatic annotations in liquid chromatography/mass spectrometry based metabolomics. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(21), 2425–2431. doi:10.1002/rcm.6705

- Sumner, L. W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M. H., Beger, R., Daykin, C. A., et al. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics*, 3(3), 211–221. doi:10.1007/s11306-007-0082-2.
- Toaldo, I. M., Cruz, F. A., Alves, T. D. L., De Gois, J. S., Borges, D. L. G., Cunha, H. P., et al. (2015). Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the Southern Region of Brazil: Phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. *Food Chemistry*, 173, 527–535. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.171
- Vezzulli, S., Civardi, S., Ferrari, F., & Bavaresco, L. (2007). Methyl Jasmonate Treatment as a Trigger of Resveratrol Synthesis in Cultivated Grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 4(58), 2–5.
- Vrhovsek, U., Masuero, D., Gasperotti, M., Franceschi, P., Caputi, L., Viola, R., & Mattivi, F. (2012). A versatile targeted metabolomics method for the rapid quantification of multiple classes of phenolics in fruits and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 8831–8840. doi:10.1021/jf2051569
- Waterhouse, Andrew L. Gavin L. Sacks, D. W. J. (2016). *Understanding Wine Chemistry Understanding Wine Chemistry* (1st ed.). United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd,.

Considerações finais

Durante este trabalho foi possível otimizar o método de aplicação de metil-jasmonato (MeJa) para uvas *Vitis labrusca* L., sendo possível observar que período de aplicação do tratamento é fundamental para a efetividade do mesmo, devendo ser aplicado durante a mudança de cor dos frutos (*véraison*) e no período de pré-colheita. A aplicação exógena de MeJa em uvas da cultivar Concord e Isabel Precoce, influenciou a biossíntese de compostos aromáticos, em uvas cultivadas na região sul, e o conteúdo de estilbenos em uvas e suco de uva, cultivadas nas regiões Sul (Bento Gonçalves, RS) e Sudeste (Caldas, MG).

Suco de uva Isabel Precoce cultivadas na região sudeste, tratadas com MeJa apresentam maiores teores de estilbenos até o período de 6 meses de armazenamento, no escuro sob temperatura ambiente.

Após a análise de *fingerprinting* foi possível detectar a influência positiva do tratamento com MeJa em outras vias metabólicas além das dos estilbenos, como a das antocianinas, outros flavonoides não ciânicos e hidroxicinamatos nas uvas e suco, apesar da grande diferença encontradas entre as regiões.