



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Carolina Olivati

**Composição fenólica de uvas passas e drageados de uva
passa com chocolate**

(Phenolic composition of dried grapes and chocolate panned dried grapes)

São José do Rio Preto

2020

Universidad de Castilla-La Mancha

Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas

Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos



Composición fenólica de pasas y grageas de pasas con chocolate

Directores

Dr^a. Ellen Silva Lago Vanzela

Dr. Sergio Gómez-Alonso

Carolina Olivati

**Composição fenólica de uvas passas e drageados de uva
passa com chocolate**

(Phenolic composition of dried grapes and chocolate panned dried grapes)

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto com dupla titulação em Enología, Viticultura y Sostenibilidad pela Universidad de Castilla-La Mancha.

Financiadora: CAPES

Orientadora (UNESP): Prof^a. Dr^a. Ellen Silva Lago Vanzela

Orientador (UCLM): Prof. Dr. Sergio Gómez-Alonso

Co-orientador (UNESP): Prof. Dr. Roberto da Silva

São José do Rio Preto

2020

Olivati, Carolina.

Composição fenólica de uvas passas e drageados de uva passa com chocolate / Carolina Olivati. -- São José do Rio Preto, 2020
169 f. : il, tabs.

Orientador: Ellen Silva Lago Vanzela

Orientador: Sergio Gómez-Alonso

Coorientador: Roberto da Silva

Tese (doutorado com dupla titulação) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto e Universidad de Castilla-La Mancha

1. Tecnologia de alimentos. 2. Frutas desidratadas. 3. Uva.
4. Chocolate. 5. Azeite. 6. Cromatografia líquida de alta eficiência.
7. Fenóis. I. Título.

CDU – 664.028.4

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Carolina Olivati

**Composição fenólica de uvas passas e drageados de uva
passa com chocolate**

(Phenolic composition of dried grapes and chocolate panned dried grapes)

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto com dupla titulação em Enología, Viticultura y Sostenibilidad pela Universidad de Castilla-La Mancha.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Ellen Silva Lago Vanzela
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Sergio Gómez Alonso UCLM – Universidad de Castilla-La Mancha Orientador	Prof. Dr. Afonso Mota Ramos UFV – Universidade Federal de Viçosa
---	---

Prof. Dr. Martín Leandro Fanzone Estação Experimental Agropecuária de Mendoza (Argentina)	Prof ^a . Dr ^a . Natália Soares Jazantti UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
--	--

São José do Rio Preto
25 de agosto de 2020

AGRADECIMENTOS

À Deus pela graça da vida, por me ensinar a ter paciência e dar força para superar as dificuldades ao longo do caminho

Aos meus pais, os quais sempre foram meu ponto de apoio, exemplo e admiração, o incentivo e amor de vocês foi fundamental para mais essa conquista.

Ao Allan, por todo o amor, carinho, incentivo, compreensão e descontração durante todos esses anos juntos, mesmo que algumas vezes de longe (muito longe).

À Sofia, que me acompanhou em várias etapas desse trabalho (laboratório, viagens, congressos, escrita da tese e artigos) por iluminar e trazer mais vida para meus dias e me ensinar a ser mais forte e resiliente.

À Nina, minha cãopanheira de todos os momentos, por todo amor e carinho que recebo todos os dias.

À toda minha família pelo apoio, incentivo e momentos de descontração, amo todos vocês.

À minha orientadora, Prof^a. Dra^a. Ellen, pela sua dedicação, por acreditar no meu potencial, me incentivar e apoiar na realização deste trabalho.

A mi diretor de tesis, Prof. Dr. Sergio Gómez Alonso, por la orientación, apoyo, ayuda con las analisis y tramites de la tesis y por haber aceptado ser mi director de tesis para que yo pudiese continuar mi trabajo.

Al Prof. Dr. Isidro (*in memorian*), por toda la disponibilidad y oportunidad al abrir su laboratorio en IRICA para que este trabajo fuera ser realizado junto a la UCLM.

Al Prof. Dr. Miguel Angel, por haber aceptado ser mi tutor de tesis, permitiendo la continuación y finalización de este trabajo.

Ao Prof. Dr. Roberto e a Profa. Eleni pelo uso de seu laboratório para as análises e preparo das amostras.

Às professoras do DETA, Prof^{fa}. Dr^a. Cida pelo uso de seu laboratório de secagem e pela orientação, principalmente na secagem das uvas e, a Prof^{fa}. Dr^a. Natália, pela ajuda e orientação com a análise sensorial.

Ao Ibilce/UNESP pela disponibilização de estrutura e recursos para realização de todos os processos envolvidos na elaboração desta tese e pelas amizades que ali eu fiz e que vou levar com grande carinho por toda a vida.

À UCLM, en especial al IRICA, donde desde que llege me senti como en casa y por las amistades que allí hice y voy a llevar siempre conmigo (José, Edu, Kathy, Victória, Carmen y Felipe).

À minha amiga-irmã, companheira de Doutorado e de vida, no Brasil e na Espanha, Yara, por todos os momentos de apoio, descontração e por toda a ajuda e parceria dentro e fora do laboratório.

Às minhas amigas do DETA (Liara, Jenifer, Mariana, Elisa) por todos os cafés, conversas, momentos de apoio, parceria e descontração.

Às minhas amigas-irmãs, de ontem hoje e sempre, Marina e Thalyta, o carinho, incentivo e apoio de vocês foi muito importante.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, Estação de Viticultura Experimental de Jales-SP), em especial ao Reginaldo pela parceria e colaboração e fornecimento das uvas para a pesquisa.

À Empresa Quality Máquinas e Equipamentos, pelo empréstimo da drageadora ao laboratório de Frutas e Hortaliças do IBILCE – UNESP, permitindo assim a realização de parte deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da influência no perfil qualitativo e quantitativo dos compostos fenólicos, ocasionados pelo processamento de secagem para produção de uvas passas e da influência da cobertura com chocolate de uvas passas por drageamento. Dessa maneira, foi realizado o desenvolvimento de uvas passas a partir da cultivar BRS Clara utilizando azeite de oliva extra virgem (AOEV) como pré-tratamento para acelerar o processo de secagem, e consequentemente, preservar ao máximo os compostos fenólicos presentes na uva *in natura*. Em sequência foi realizado o drageamento com chocolate da uva passa produzida pelo método de secagem selecionado. A avaliação das alterações promovidas pelos processamentos aplicados nos compostos fenólicos presentes nas uvas *in natura* e nos produtos obtidos foi realizada por meio da aplicação de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a diferentes tipos de detectores. A análise de aceitação e do perfil sensorial, pela metodologia RATA (*Rate-All-That-Apply*), dos drageados produzidos foram realizadas. O emprego do pré-tratamento das uvas com o azeite promoveu uma redução média nos tempos de secagem de $39,33\% \pm 5,5\%$ quando comparado as uvas controle (sem pré-tratamento). Após análise dos resultados de perfil qualitativo e quantitativo das uvas passas elaboradas a partir da cultivar BRS Clara (safras 2014, 2015 e 2016) sem e com AOEV, concluiu-se que o pré-tratamento com AOEV foi, de maneira geral, benéfico para o processo de desidratação da uva ao manter ainda uma elevada concentração de compostos fenólicos. Passas pré-tratadas com AOEV foram então utilizadas como núcleos naturais dos drageados de chocolate. Pode-se verificar que o drageamento com chocolate foi responsável por um aumento nas concentrações de flavan-3-óis (515 – 517 mg equivalente (eq.) de catequina/kg produto, em base seca (DW)) e proantocianidinas (768 – 783 mg eq. de catequina/kg de produto – DW) quando comparado somente as uvas passas. Para a classe dos flavonóis e dos DAHC, notou-se uma redução da concentração total dos compostos nos drageados em comparação as uvas passas. Além disso, houve forte influência do chocolate no perfil qualitativo com o surgimento novos compostos (quercetina-3-pentanosídeo, kampferol-3-rutinosídeo, ácido *p*-cúmarico e ácido cafeoil-aspartato). Esses resultados de

perfil fenólico em conjunto com as análises sensoriais realizadas, permitiram afirmar que o drageado de uva passa BRS Clara com chocolate além de possuir um interessante perfil e concentração de compostos fenólicos, também é um produto com ótima aceitação sensorial e descrito principalmente pela cor marrom, gosto doce, textura macia, e termos hedônicos gostoso e prazeroso.

Palavras-chave: Frutas desidratadas. Chocolate. Azeite. Cromatografia líquida de alta eficiência. Fenóis.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los cambios en el perfil cualitativo y cuantitativo de los compuestos fenólicos de la uva BRS Clara, como consecuencia del proceso de secado para la producción de pasas y la influencia en el perfil fenólico del posterior recubrimiento con chocolate de las pasas para formar grageas. De esta manera, las pasas se desarrollaron a partir del cultivar BRS Clara estudiando el uso directo de aceite de oliva virgen extra (AOVE) como pretratamiento para acelerar el proceso de secado y, en consecuencia, preservar en la medida de lo posible los compuestos fenólicos presentes en las uvas frescas, comparando los resultados con los de pasas producidas sin pretratamiento con AOVE. Posteriormente, se realizó el grageado con chocolate de la pasa producida por pretratamiento con AOVE. Una vez elaboradas las pasas y las grageas se estudiaron las consecuencias de estos procesos en los compuestos fenólicos, determinando mediante HPLC-DAD-ESI-MS su contenido tanto en las uvas frescas como en los productos elaborados. Finalmente se realizó el análisis de aceptación y perfil sensorial de las grageas producidas, utilizando la metodología RATA (Rate-All-That-Apply). El pretratamiento de uvas con AOVE promovió una reducción significativa en los tiempos de secado de las pasas, con una reducción promedio del $39.33\% \pm 5.5\%$ en comparación con las uvas de control (sin pretratamiento). Después de analizar los datos del perfil cualitativo y cuantitativo de las pasas hechas del cultivar BRS Clara (cosechas de 2014, 2015 y 2016) sin y con AOEV, se concluyó que el pretratamiento con AOEV era beneficioso para el proceso de secado de la uva, pues aún mantuvo una elevada concentración de compuestos fenólicos. El grageado con chocolate fue responsable de un aumento en las concentraciones de flavan-3-ols (515 - 517 mg equivalentes (eq.) de catequina/ kg de producto, DW) y proantocianidinas (768 - 783 mg eq. de catequina/kg de producto - DW) cuando se compara con las pasas utilizadas como su centro. Para la clase de flavonoles y DAHC, hubo una reducción en la concentración total de compuestos en las grageas en comparación con las pasas. Además, hubo una fuerte influencia del chocolate en el perfil fenólico cualitativo con la aparición de nuevos compuestos (quercetina-3-pentosido, kampfterol-3-rutinósido, ácido p-cumarico y ácido cafeoil-aspartico). Estos resultados, junto con los análisis sensoriales realizados,

nos permiten afirmar que las grageas de pasas de BRS Clara con chocolate, además de tener un interesante perfil y concentración de compuestos fenólicos, también son un producto atractivo con buena aceptación sensorial.

Palabras clave: Frutas deshidratadas. Chocolate. Aceite de oliva. Cromatografía líquida de alta eficiencia. Fenoles.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the influence on the qualitative and quantitative profile of the phenolic compounds, caused by the drying processing for the production of dried grapes and the influence of the chocolate coating of these dried grapes by dredging. In this way, dried grapes were developed from the cultivar BRS Clara using extra virgin olive oil (AOEV) as a pre-treatment to accelerate the drying process, and consequently, preserve as much as possible the phenolic compounds present in fresh grapes. In sequence, dredging with chocolate was carried out with the dried grapes produced by the selected drying method. The evaluation of the changes promoted by the processing applied to the phenolic compounds present in fresh grapes and in the products obtained was performed through the application of high performance liquid chromatography (HPLC) coupled to different types of detectors. The acceptance and sensory profile analysis, using the RATA (Rate-All-That-Apply) methodology, of the dragées produced were performed. The use of pre-treatment with olive oil promoted an average reduction in drying times of the grapes of $39.33\% \pm 5.5\%$ when compared to control grapes (without pre-treatment). After analysing the qualitative and quantitative profile data of dried grapes made from the cultivar BRS Clara (2014, 2015 and 2016 harvests) without and with AOEV, it was concluded that pre-treatment with AOEV was beneficial for the dehydration process, once that maintained an elevated phenolic compounds concentration. Dried grapes pre-treated with AOEV were then used as natural centres for chocolate dragées. It can be seen that the chocolate dredging was responsible for an increase in the concentrations of flavan-3-ols (515 - 517 mg equivalents (eq.) of catechin/kg product, DW) and proanthocyanidins (768 - 783 mg eq. of catechin/kg product, DW) when compared only to dried grapes. For the class of flavonols and DAHC, there was a reduction in the total concentration of compounds in dragées compared to dried grapes. Furthermore, there was a strong influence of chocolate in qualitative profile with the emergence of new compounds (quercetin-3-pentanoside, kampfterol-3-rutinoside, p-coumaric acid and caffeyl-aspartate). These results, together with the sensory analysis, allow us to state that the BRS Clara dried grapes chocolate dragées, not only have an

interesting profile and concentration of phenolic compounds, but it is also an attractive product with good sensory acceptance.

Keywords: Dried fruits. Chocolate. Olive oil. High performance liquid chromatography. Phenols.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Uva apirênica BRS Clara.	28
Figura 2 - Modelo esquemático das partes da baga da uva.	32
Figura 3 - Microestrutura de mirtilo sem e com pré-tratamento com naoh.	34
Figura 4 - Principais triperpenóide (ácido oleanólico e seu isômero ácido ursólico) presente nas cascas das uvas e no azeite.	38
Figura 5 - Modelo simplificado da cutícula da uva.	39
Figura 6 - Representação esquemática das possíveis ligações químicas para formação dos dímeros a partir de moléculas de ácido oleanólico.	40
Figura 7 - Drageadora.	42
Figura 8 - Zonas de movimentação em uma drageadora.	44
Figura 9 - Estrutura dos flavonóis encontrados em uvas.	48
Figura 10 - Principais flavonol 3-O-glicosídeos identificados em uvas brancas: a) flavonol 3-O-glucosídeos; b) flavonol 3-O-galactosídeos; c) flavonol 3-O-glucuronídeos; d) rutina (quercetina 3-O-(6"-ramnosil)-glicosídeo).	49
Figura 11 - Exemplos de flavan-3-óis encontrados em uvas.	50
Figura 12 - Estrutura básica das proantocianidinas.	51
Figura 13 - Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos e seus principais derivados em uvas.	52
Figura 14 - Trans-resveratrol e seus derivados.	53
Figura 15 - Preparo e homogeneização das amostras de drageados: amostras de drageados sem triturar com CO ₂ sólido (A) e amostras de drageados trituradas e homogeneizadas (B).	63
Figura 16 - Separação bifásica para desengorduramento do extrato fenólico dos drageados.	63
Figura 17 - Uvas passas de BRS Clara sem (A) e com (B) pré-tratamento com AOEV.	74
Figura 18 - Tempo total de secagem para uvas com (CRO) e sem pré-tratamento (CRC) com AOEV para as safras de 2014 (CRO14 e CRC14), 2015 (CRO15 e CRC15) e 2016 (CRO16 e CRC16).	78
Figura 19 - Estrutura do ácido 2-S-glutationilcátfárico (GRP).	99
Figura 20 - Drageados de uva passa com chocolate da cultivar BRS Clara (A) drageado inteiro (B) corte transversal.	111

Figura 21 - Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para os flavonóis presentes nos drageados de uva passa com AOEV de BRS Clara – CRD-1 (a), CRD-2 (b). Detecção a 360 nm.	113
Figura 22 - Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para DAHC e estilbenos presentes nos drageados de uvas passas de BRS Clara, CRD 1 (a) e CRD 2 (b). Detecção a 320 nm.	117
Figura 23 - Padrão de fragmentação observado para o ácido cafeoil-aspartato nas amostras de drageados.	119
Figura 24 - Estrutura química do ácido cafeoil-aspartico	119
Figura 25 - ACP para a classe de Flavonóis e DAHC.	121
Figura 26 - ACP para a classes de estilbenos e flavan-3-óis.	129
Figura 27 - Frequência de consumo dos alimentos relacionados aos produtos avaliados (1- desgosto muitíssimo; 5- não gosto/nem desgosto; 9- gosto muitíssimo).	131
Figura 28 - Frequência de consumo dos alimentos relacionados aos produtos avaliados.	132
Figura 29 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos descritivos de aparência avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	134
Figura 30 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de odor avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	134
Figura 31 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de gosto avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	135
Figura 32 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de sabor avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	136
Figura 33 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de textura avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	137
Figura 34 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos hedônicos avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).	137

Figura 35 - Frequência de notas para aceitação global do drageado avaliado (1- desgostei muitíssimo; 5- não gostei/nem desgostei; 9- gostei muitíssimo).

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Características físicas e químicas para as uvas in natura e passas de BRS Clara (média⁴ ± desvio padrão, n=3). 75
- Tabela 2 - Características espectrais (MS/MS) dos flavonóis identificados nas amostras de BRS Clara (in natura, passa sem azeite e com azeite) por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio³ ± desvio padrão, n = 2) e concentração total (expressa em mg equivalente de quercetina-3-glicosídeo (mg Q-3-glc)). 84
- Tabela 3 - Concentrações dos flavan-3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) de BRS Clara in natura e uvas passas sem e com azeite (mg equivalentes de catequina/kg de uva in natura; n = 2). 92
- Tabela 4 - Caracterização estrutural das proantocianidinas (média² ± desvio padrão, n=2) de BRS Clara in natura e passas sem e com azeite. 96
- Tabela 5 - Características espectrais (MS/MS) dos DAHC identificados nas amostras de *BRS Clara (in natura, passa sem azeite e com azeite)* por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 2) e concentração total (mg equivalente de ácido caftárico). 100
- Tabela 6 - Concentrações dos estilbenos identificados nas amostras de BRS Clara (in natura, passa sem azeite e com azeite), quantificação em mg/kg de produto em base seca (DW) e base úmida (FW) (valor médio¹ ± desvio padrão, n = 2). 107
- Tabela 7 - Dados de ganho de massa no processo de drageamento. 111
- Tabela 8 - Características físicas e químicas para os drageados de uva passa com chocolate produzidos (média³ ± desvio padrão). 112
- Tabela 9 - Características espectrais (MS/MS) dos flavonóis identificados nas amostras de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e da uva passa utilizada como núcleo (CRO-16) por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 3) e concentração total (expressa em mg equivalente de quercetina-3-glicosídeo (mg Q-3-glc)). 114
- Tabela 10 - Características espectrais (MS/MS) dos DAHC identificados nas amostras de uva passa de BRS Clara com azeite e seus drageados por

HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 3) e concentração total (mg equivalente de ácido caftárico). 118

Tabela 11 - Características espectrais (MS/MS) dos estilbenos identificados nas amostras de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16), quantificação em mg/kg de produto em base seca (valor médio¹ ± desvio padrão, n = 3). 122

Tabela 12 - Concentrações dos flavan3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) nos drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16) (mg equivalentes de catequina/ kg de produto; valor médio² ± desvio padrão, n = 3). 124

Tabela 13 - Caracterização estrutural das proantocianidinas (valor médio² ± desvio padrão, n = 3) de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16) 127

Tabela 14 - Médias (± desvio padrão, n = 49) atribuídas aos descritores sensoriais e termos hedônicos para o drageado de uva passa com chocolate a partir da cultivar BRS Clara. 133

Tabela 15– Correlação de Pearson entre termos descritivos e aceitação global do drageado avaliado. 139

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Textura Adesiva
Aceit	Aceitação Global
ACP	Análise de Componentes Principais
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
AG	Agradável
AM	Gosto Amargo
ANR	Enzima Antocianidina Redutase
AOEV	Azeite de Oliva Extra Virgem
AT	Acidez Total
AZ	Gosto Azedo
C	(+)-catequina
CATA	<i>Check-All-That-Apply</i>
CATI	Coordenadoria de Assistência Técnica Integral
CG	(-)-catequina-3-galato
CG14	Uva <i>in natura</i> BRS Clara – safra 2014
CG15	Uva <i>in natura</i> BRS Clara – safra 2015
CG16	Uva <i>in natura</i> BRS Clara – safra 2016
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CM	Cor Marrom
CP	Componente Principal
CPACT	Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado
CRC14	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2014
CRC15	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2015
CRC16	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2016
CRD1	Drageados de Uva Passa BRS Clara – Amostra 1
CRD2	Drageados de Uva Passa BRS Clara – Amostra 2
CRO14	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2014
CRO15	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2015
CRO16	Uva Passa BRS Clara Sem Pré-tratamento-Safra 2016
D	Gosto Doce
DAD	Detector de Arranjo de Diodo
DAHC	Derivados do Ácido Hidróxicinâmico
DFR	Enzima Dihidroflavonol 4-Redutase
DW	Base Seca
EC	(-)-Epicatequina
ECG	(-)-Epicatequina-3-Galato
EGC	(-)-Epigallocatequina
EGCG	(-)-Epigallocatequina-3-Galato
EIC	Cromatogramas de Íon Extraídos
MS	Espectrometro de Massas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ext	Unidades de Extensão
F3H	Enzima Flavanona 3-Hidroxilase
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
ffdw	Base Seca Desengordurada
FLS	Enzima Flavonol Sintase

FW	Base Úmida
G	Gostoso
gal	Galactosídeo
GC	(-)-Galocatequina
glc	Glicosídeo
glcU	Glucoronídeo
GRP	Ácido 2-S-Glutationilcaftárico
GT	Enzima Glicosiltransferase
I	Isorhamnetina
IBRAVIN	Instituto Brasileiro de Vinho
ESI	Sistema de Ionização por Eletronebulização
IN	Instrução Normativa
INT	Interessante
K	Kaempferol
LAR	Enzima Leucoantocianidina Redutase
LC/MSD Trap	Espectrômetro de Massas com Analisador de Massas de Armadilha de Íons
M	Textura Macia
m/z	Relação Massa Carga
mDP	Grau Médio de Polimerização
MRM	Monitoramento de Reações Múltiplas
N	Natural
ND	Não Detectado
OCA	Odor de Chocolate Amargo
OCL	Odor de Chocolate ao Leite
OG	Odor de Gordura/Manteiga de Cacau
OIV	Organização Internacional da Vinha e do Vinho
OMS	Organização Mundial da Saúde
OMT	Enzima Metil Transferase
OP	Opacidade
P	Prazeroso
PA	Proantocianidinas
PB1	Procianidina B1
PB2	Procianidina B2
PB4	Procianidina B4
pent	Pentósido
PPO	Enzima polifenoloxidase
Q	Quercetina
QTRAP	Analisador de Massas do Tipo Híbrido Quadrupolo-Armadilha Linear de Íons
RATA	<i>Rate-all-that-apply</i>
RC	Rugosidade da Cobertura
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
rut	Rutinosídeo
s.c.	Sólidos de Cacau
SCA	Sabor de Chocolate Amargo
SCL	Sabor de Chocolate ao Leite
SG	Sabor de Gordura/Manteiga de Cacau/Amanteigado

SNK	Student Newman Keuls
Sol.	Solventes
SS	Sólidos Solúveis
STS	Enzima Estilbeno Sintase
SUP	Sabor de Uva passa
term	Unidades Terminais
UR	Umidade Relativa
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celcius
%	porcentagem
m	metro
kg	kilograma
meq	miliequivalente
nm	nanometro
mL	mililitro
m/m	relação massa/massa
g	grama
cm	centímetro
min	minuto
G	força G
µm	micrometro
v	volume
L	litro
mm	milímetro
g/L	grama(s) por litro
mM	milimolar
mg	miligrama
mg/L	miligrama(s) por litro
h	hora(s)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo geral	24
2.2. Objetivos específicos	24
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1. Importância nutricional e econômica das frutas	25
3.2. Importância econômica das uvas e potencial para desenvolvimento de produtos derivados	27
3.2.1. Produção de uvas passas	29
3.2.2. Drageados de chocolate com frutas desidratadas	41
3.3. Análise sensorial	46
3.4. Principais compostos fenólicos presentes em uvas, passas e drageados de uva passa com chocolate	47
3.4.1. Principais compostos fenólicos presentes em uvas brancas e suas uvas passas	47
3.4.1.1. Flavonóis	48
3.4.1.2. Flavan-3-óis e proantocianidinas	49
3.4.1.3. Ácidos fenólicos: enfoque para os derivados dos ácidos hidroxicinâmicos	51
3.4.1.4. Estilbenos	52
3.4.2. Compostos fenólicos em cacau e chocolate	53
4. MATERIAIS E MÉTODOS	58
4.1. Uvas e ingredientes para elaboração dos produtos derivados	58
4.2. Reagentes Químicos	58
4.3. Produção das uvas passas	59
4.4. Drageamento das uvas passas com chocolate	60
4.5. Caracterização físico-química das uvas <i>in natura</i> , uvas passas e drageados produzidos	61

4.6. Determinação da composição fenólica detalhada das uvas <i>in natura</i>, uvas passas e drageados por HPLC-DAD-ESI-EMⁿ	61
4.6.1. Preparo dos extratos fenólicos	61
4.6.2. Identificação e quantificação dos flavonóis e derivados do ácido hidroxicinâmico	64
4.6.3. Flavan-3-óis monômeros e dímeros, proantocianidinas (taninos condensados) e estilbenos	65
4.6.4 Quantificação de proantocianidinas por precipitação com metil-celulose	69
4.7. Análise sensorial dos drageados de chocolate com uva passa	71
4.7.1. Levantamento de termos para construção da ficha sensorial	71
4.7.2. Avaliação sensorial final	71
4.8. Análise Estatística	73
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5.1. Uva passa de BRS Clara com e sem pré-tratamento com azeite	74
5.2. Perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos nas uvas <i>in natura</i> e passas por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ	83
5.2.1. Flavonóis	83
5.2.2. Flavan-3-óis e Proantocianidinas	90
5.2.3. Derivados do ácido hidroxicinâmico (DAHC)	99
5.2.4. Estilbenos	106
5.3. Drageados de uva passa BRS Clara com chocolate meio amargo	110
5.3.1. Obtenção dos drageados	110
5.3.2. Perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos nos drageados por HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	112
5.3.2.1. Flavonóis	112
5.3.2.2. Derivados do Ácido Hidroxicinâmico	116
5.3.2.3. Estilbenos	122
5.3.2.4. Flavan-3-óis e Proantocianidinas	123
5.3.3. Análise Sensorial	131

5.3.3.1. Caraterização do consumidor	131
5.3.3.2. Análise Descritiva – RATA	132
5.3.3.3. Aceitação global dos drageados	138
5.3.3.4. Correlação entre termos descritos e aceitação global	138
6. CONCLUSÃO	142
7. CONCLUSIÓN	143
REFERÊNCIAS	144
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	166
APÊNDICE B – Ficha Descritiva Prévia	167
APÊNDICE C – Ficha de Recrutamento	168
APÊNDICE D – Ficha de Aceitação Global	169
APÊNDICE E – Ficha Descritiva Utilizada para Análise Final	170

1. INTRODUÇÃO

A uva é considerada uma importante fonte de compostos fenólicos na dieta e apresenta grande aceitação tanto na sua forma *in natura* quanto na forma processada (GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014). As uvas passas, em particular, são rica fonte de carboidratos, vitaminas, minerais e compostos fenólicos e utilizadas na indústria de alimentos como ingredientes em diferenciados produtos (KOMES *et al.*, 2013; OLIVATI, 2016). Outro produto que contém compostos fenólicos e apresenta grande aceitação pelos consumidores é o cacau e seus derivados, como o chocolate (ARTS; HOLLMAN; KROMHOUT, 1999; KOMES *et al.*, 2013). Nesse contexto, a elaboração de produtos alimentícios de fácil consumo com a combinação de dois ou mais alimentos que contenham compostos com alegações de propriedades benéficas para a saúde humana, tal como os compostos fenólicos, é uma tendência de mercado mundial (KOMES *et al.*, 2013; SIM *et al.*, 2016; TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007).

No Brasil, há diversas cultivares de uvas com potencial para processamento na forma de uvas passas (FREITAS *et al.*, 2013; MOREIRA *et al.*, 2015). No presente estudo foi dado ênfase a uva BRS Clara, uma cultivar branca que apresenta interessante composição de compostos fenólicos (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a).

Assim, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de uvas passas a partir desta cultivar pré-tratada com tensoativo natural (azeite de oliva extra virgem - AOEV), para acelerar o processo de secagem, e de drageados de chocolate (com elevado teor de sólidos de cacau) contendo as passas produzidas como núcleos naturais. Para avaliar a qualidade dos produtos desenvolvidos, foram determinadas as alterações promovidas pelos processamentos aplicados nos compostos fenólicos presentes nas uvas *in natura* para obtenção das passas e dos drageados, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a diferentes tipos de detectores, bem como a qualidade dos drageados produzidos a partir da análise de aceitação e do perfil sensorial. A relevância e originalidade da pesquisa concentrou-se no aprofundamento do conhecimento científico, tecnológico e de inovação acerca da temática de retenção de compostos fenólicos em passas elaboradas com uvas brasileiras, bem como em drageados de chocolate contendo estas passas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Determinação das alterações qualitativas e quantitativas nos compostos fenólicos ocasionados pelos processamentos utilizados para a elaboração de uvas passas e drageados de uva passa com chocolate a partir da cultivar apirênicas 'BRS Clara', pré-tratadas com azeite de oliva extra virgem, bem como avaliação da qualidade dos drageados produzidos a partir de análise de aceitação e do perfil sensorial.

2.2. Objetivos específicos

- a) produzir uvas passas a partir da cultivar apirênica brasileira 'BRS Clara' pré-tratada com AOEV para acelerar o processo de secagem visando a obtenção de produtos com maior concentração de compostos fenólicos;
- b) desenvolver os drageados de chocolate contendo as uvas passas produzidas com pré-tratamento;
- c) realizar a caracterização físico-química (umidade, sólidos solúveis (SS, somente das uvas *in natura*), pH, acidez total (AT), tamanho e massa média) das uvas *in natura*, uvas passas e drageados;
- d) avaliar a qualidade sensorial dos drageados produzidos a partir de análise de aceitação e do perfil sensorial;
- e) determinar a composição fenólica (flavonóis, derivados do ácido hidróxicinâmico, estilbenos, flavan-3-óis e proantocianidinas) das uvas *in natura* e produtos obtidos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a detector de arranjo de diodos (DAD) e à espectrômetros de massas de vários tipos, afim de identificar as alterações qualitativas e quantitativas ocasionadas pelos processamentos aplicados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Importância nutricional e econômica das frutas

O Brasil possui expressiva produção de diferenciadas frutas tropicais, subtropicais e temperadas, respondendo por 25% do agronegócio brasileiro (SOUZA *et al.*, 2015b). Em 2018, foram colhidas aproximadamente 40 milhões de toneladas de frutas frescas (FAOSTAT, 2020). Em 2019, houve um aumento de 16% no volume exportados de frutas (ABRAFRUTAS, [s.d.]).

Essa tendência mundial de crescimento no consumo de frutas e produtos derivados (BELING; FILTER, 2017) é suportada por uma maior busca de saudabilidade pelas pessoas, uma vez que o consumo diário de frutas, em quantidade suficiente, pode ajudar a minimizar a incidência de diversas doenças não transmissíveis graves (OMS, 2016). Apesar da grande produção nacional de frutas, o consumo *per capita* de frutas pelos brasileiros encontra-se abaixo do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (400g/dia). É importante lembrar que a decisão nas escolhas alimentares diárias tem sido influenciada pelo valor nutricional dos alimentos, e pela presença de substâncias artificiais e agrotóxicos (FABANI *et al.*, 2017; FANG *et al.*, 2010).

Nesse contexto, uma das abordagens é a elaboração de alimentos saudáveis, de fácil consumo, e que combinem dois ou mais alimentos que contenham compostos com alegações de propriedades benéficas para a saúde humana. Dentre esses produtos têm sido enfatizados os alimentos fontes de compostos fenólicos (TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são um diverso grupo formado por metabólitos secundários de plantas. Ao contrário das vitaminas e minerais, eles não são considerados como componentes essenciais para a dieta humana. Entretanto, estudos apontam que podem conferir efeitos benéficos a saúde quando ingeridos regularmente (ACKAR *et al.*, 2013; GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014; GIOXARI *et al.*, 2016; NATARAJAN *et al.*, 2017; NUNES *et al.*, 2016; PATEL *et al.*, 2016; TODOROVIC *et al.*, 2015a). Dentre esses benefícios a saúde, ressalta-se, os efeitos positivos contra a obesidade (XIE *et al.*, 2018), diabetes tipo 2 (GOWD; JIA; CHEN, 2017) e doenças não transmissíveis como as cardiovasculares e distúrbios neurológicos (STĂNCIUC *et al.*, 2017). Além disso, estes compostos podem conferir importantes características sensoriais

aos alimentos, tal como cor e adstringência (CAROCHO; FERREIRA, 2013; DIAS *et al.*, 2016; GARRIDO; BORGES, 2013; GRANATO *et al.*, 2016; QUIDEAU *et al.*, 2011; TODOROVIC *et al.*, 2015a).

Dentre inúmeras frutas fontes de compostos fenólicos, as uvas, destaque neste trabalho, apresentam expressiva concentração e um variado perfil destes compostos (antocianinas, flavan-3-óis, flavonóis e estilbenos) (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a, 2011b; MAXCHEIX; FLEURIET; BILLOT, 1990; REBELLO *et al.*, 2013a; XIA *et al.*, 2010). Seu consumo médio *per capita*, no Brasil, é estimado em 3,6 quilos de uvas (*in natura* e doces), 0,13 quilo de uvas passas, 1,33 litro de suco e 1,72 litro de vinhos e espumantes (MELLO, 2019).

O setor da viticultura no Brasil possui grande representação na geração de emprego, renda e valor bruto, isso se deve principalmente aos diversos usos aplicados à uva, como o seu consumo *in natura*, produção de vinhos, espumantes, sucos e doces (KIST *et al.*, 2018). Em 2018, o Brasil teve uma produção de aproximadamente 1,6 milhões de toneladas de uvas (INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE, 2019). Até 2027/2028 é estimado um aumento de quase 30% na produção nacional, em relação a 2017/2018. Essa evolução na produção e consumo de uvas no Brasil pode ser atribuída a aplicação de práticas e processos mais sustentáveis, uma diversificação produtiva, implementação de indicações geográficas, exploração de novas regiões de cultivo e o uso de novas cultivares adaptadas as condições geoclimáticas de cada região (KIST *et al.*, 2018).

O estado de São Paulo é um grande produtor de uvas de mesa (MELLO, 2019), sendo a região Noroeste do estado considerada a maior produtora de uvas na entressafra do país (BELING; FILTER, 2016). A produção de uvas pirênicas (com sementes) e apirênicas (traços ou ausência de sementes), nesta região, é assistida por entidades ligadas à agricultura como Sindicato Rural, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) e EMBRAPA. Há um interesse pelos produtores em desenvolver produtos derivados de uvas utilizando mão de obra familiar, sustentáveis no contexto local, para aumento da renda. Aos poucos está ficando evidente para os produtores rurais que com a evolução da agroindustrialização (tanto industrial quanto artesanal) paralelamente a tradicional agrocomercialização, é possível realizar a transformação da uva em produtos diversificados e de alto valor agregado.

3.2. Importância econômica das uvas e potencial para desenvolvimento de produtos derivados

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), quando se trata de valor total de produção mundial, a produção de uvas tanto para consumo *in natura* como para a elaboração de diferenciados produtos (sucos, vinhos, passas, geleias, vinagres, extratos, produtos desidratados e óleos extraídos de sementes) é considerada o tipo de fruticultura de maior importância (FAO-OIV, 2016).

A OIV define padrões internacionais sobre uva, sucos, vinhos e bebidas à base de vinhos e passas, bem como é responsável pelo acompanhamento econômico e comercial internacional do setor. No Brasil, que é membro da OIV, tem o auxílio do Instituto Brasileiro de Vinho (IBRAVIN) para representar o setor vitivinícola e para conduzir as demandas das vinícolas brasileiras no ambiente internacional. A atual situação do mercado de produtos derivados de uva mostra um grande interesse também por seus derivados não alcoólicos, pois esses podem representar uma fonte alternativa de compostos fenólicos na dieta. De fato, a redução no risco de morte associado ao consumo moderado de vinho, são similares aos observados em consumidores de certas frutas, grãos e vegetais ricos em compostos fenólicos (DI LORENZO *et al.*, 2016a).

Dentre esses produtos, as uvas passas são destaque pelo seu consumo como fonte de minerais, principalmente potássio, ferro, cálcio e magnésio (FABANI *et al.*, 2017; FANG *et al.*, 2010; KOMES *et al.*, 2013), fibras (FANG *et al.*, 2010), açúcares, responsáveis pelo seu gosto doce e alto índice energético (FABANI *et al.*, 2017), bem como de compostos fenólicos (CARRANZA-CONCHA *et al.*, 2012; DI LORENZO *et al.*, 2016b; ESMAILI *et al.*, 2007; FABANI *et al.*, 2017; KARADENIZ; DURST; WROLSTAD, 2000; OLIVATI *et al.*, 2019). Elas também têm sido utilizadas combinadas com chocolate, principalmente com elevada concentração de cacau. Dentre os produtos apreciados e já disponíveis para o consumidor destaca-se os drageados de chocolate contendo as uvas passas como núcleos naturais (BECKETT, 2009; PINTO, 2013).

A prospecção de novas cultivares de uva aptas para uso como matéria-prima para a produção de uvas passas tem sido o objetivo de programas de pesquisa em países produtores, como a Índia, EUA e Brasil (SOUZA *et al.*,

2015b; VIEIRA, 2016). Atualmente, a maior parte das uvas passas produzidas no mundo é elaborada a partir da cultivar apirênica 'Thompson Seedless', seguido por outras cultivares/variedades como 'Centennial', 'Flame', 'Muscat Hamburg' (WANG *et al.*, 2017) e mutações somáticas de 'Thompson Seedless', como 'Sonaka', 'Tas-A-Ganesh' e 'Manik Chaman' (SINGH; JAIRAJ; SRIKANT, 2012). Breksa III *et al.* (2010) ressaltaram que o processamento das uvas em passas pode resultar em perdas de compostos fenólicos e atividade antioxidante e que parte do problema poderia ser resolvido pela prospecção de novas cultivares de uvas com importante concentração de compostos fenólicos.

Dentre as cultivares brasileiras apirênicas com potencial para a elaboração de passas pode-se citar os seguintes genótipos: 'BRS Clara', 'BRS Linda', 'BRS Morena', 'BRS Vitória' e as seleções intermediárias denominadas de Seleção 36, Seleção 39, Seleção 41 e Seleção 42 (FREITAS *et al.*, 2013). Em estudo sensorial com as uvas passas produzidas por essas uvas acima citadas, Souza *et al.* (2015) identificou a cultivar 'BRS Clara' (CNPUV 154-147 x Centennial Seedless) (**Figura 1**) com maior potencial para a produção de uvas passas, uma vez que além de apresentar a maior média na aceitação (6,6), na análise sensorial descritiva, foi a cultivar que obteve maior citação de atributos agradáveis, tendo sido descrita como saborosa, doce, macia, succulenta e de sabor e aroma característicos.

Figura 1 - Uva apirênica BRS Clara.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Tendo em vista esse potencial para a produção de uvas passas da cultivar 'BRS Clara' (SOUZA *et al.*, 2015) e seu importante conteúdo de compostos fenólicos (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a), essa cultivar foi a escolhida para a realização desse trabalho. Se trata de uma cultivar branca, que apresenta cacho médio a grande, baga verde-amarelada e polpa incolor, firme, crocante, de sabor moscatel leve e agradável com elevado potencial glucométrico (próximo de 20°Brix) (CAMARGO *et al.*, 2003).

3.2.1. Produção de uvas passas

De acordo com o International Nut and Dried Fruit – Statistical yearbook 2018/2019, foram exportados para todo o mundo 733.000 toneladas de uvas passas, sendo os maiores produtores e exportadores, a Turquia e os Estados Unidos, respectivamente. O Brasil, embora apresente potencial para a produção de passas, importa quase todo o montante que consumido (INC, 2019).

Segundo Costa *et al.* (2015) e Feldberg *et al.* (2008), a utilização no Brasil do excedente de safra da uva, especialmente as apirênicas, para a produção de uvas passas pode ser uma alternativa viável para o aumento da renda dos produtores de uva de mesa. Além disso, a produção de uvas passas por produtores nacionais poderia ser comercialmente interessante, uma vez que além de suprir tendências de mercado (KIST *et al.*, 2018), permitiria um aproveitamento integral, agregação de valor a fruta *in natura*, e flexibilização do uso da fruta como ingrediente natural em diversos alimentos como iogurtes, bolos, granolas, barras de cereais, bem como em núcleos/centros para drageados (AVELAR *et al.*, 2019; BENLLOCH-TINOCO *et al.*, 2015; JAVED *et al.*, 2018; JESZKA-SKOWRON *et al.*, 2017; MENIN; PEREIRA, 2018).

Pela legislação brasileira, segundo a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 272 (BRASIL, 2005), frutas secas ou desidratadas são produtos elaborados a partir de frutas inteiras ou em pedaços, obtidos por secagem e ou desidratação, ou por outros processos tecnológicos adequados e considerados seguros para a produção de alimentos. Os produtos elaborados devem apresentar, no máximo, 25 % de umidade (g/100g) e podem ser designados simplesmente pelo nome da fruta que lhe deu origem, seguida da palavra "seca". Além disso, podem ser apresentados com ou sem líquido de cobertura e

adicionados de açúcar, sal, tempero, especiaria e ou outro ingrediente desde que não descaracterize o produto.

A Instrução Normativa - IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019, se aplica de maneira complementar à Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019, sobre os padrões microbiológicos. Nesta IN, descreve-se que as frutas secas devem ser submetidas às análises de bolores e leveduras, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp, segundo metodologia descrita no Compendio de métodos para análise microbiológica de alimentos (Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods – APHA) (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2001; BRASIL, 2019a,b).

Já a Resolução OIV-VITI 493-2013 da OIV é mais detalhada quando se trata das recomendações para produção de uvas passas. Nesta Resolução está definido que as passas são um produto preparado a partir de uvas sãs que são tratadas adequadamente para obter uma forma comercializável de passas, com ou sem um tratamento prévio com ingredientes opcionais adequados. Contempla-se a produção de passas tanto com quanto sem sementes, podendo ser produzidas a partir de bagas soltas ou aderidas ao engaço. Ressalta-se que as passas devem ser devidamente limpas, lavadas ou não; não devem ter pedúnculos, exceto em caso específico de desidratação das uvas ainda aderidas ao engaço; não devem conter pedicelo, exceto para aqueles produtos que foram colhidos manualmente com pedicelo; podem ser embebidas em uma solução alcalina e óleo alcalino como auxiliador de secagem; podem ser branqueadas submetendo-se a um tratamento químico seguido da etapa de secagem; devem ter a umidade reduzida a um nível que garanta a preservação do produto; e, podem ser tratados com azeite na proporção máxima de 5 g por kg. É autorizado o uso de outros aditivos como dióxido de enxofre e ácido sórbico e seus sais em quantidades estabelecidas na Resolução (INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE - OIV, 2013).

Quanto aos critérios de qualidade, as uvas devem estar bem maduras, cuja maturação seria indicada por uma cor e textura adequada ao tipo de produto que se deseja produzir, apresentando uma porção apreciável de bagas polposas e com alto conteúdo de açúcar. Dentre os requisitos mínimos de qualidade, as uvas passas prontas para consumo devem conter no máximo 25 % de umidade; não devem conter impurezas minerais que afetem seu consumo; não devem

conter outros defeitos como presença de pedúnculos, partes vegetais estranhas ou danos como queimaduras de sol ou cortes nas cascas. Assim como as passas não devem conter fungos filamentosos perceptíveis a olho nú, sendo que a tolerância deste defeito, bem como de outros estão previstos nesta Resolução. Por fim, quanto a qualidade microbiológica, recomenda-se que as passas sejam preparadas e manuseadas de acordo com as normas preconizadas pelo Código Internacional Recomendado de Práticas - Princípios Gerais de Higiene Alimentar (CAC/RCP 1-1969, *Codex Alimentarius*) e com os outros códigos de práticas recomendadas pela Comissão do Codex Alimentarius aplicáveis a este produto (OIV, 2013).

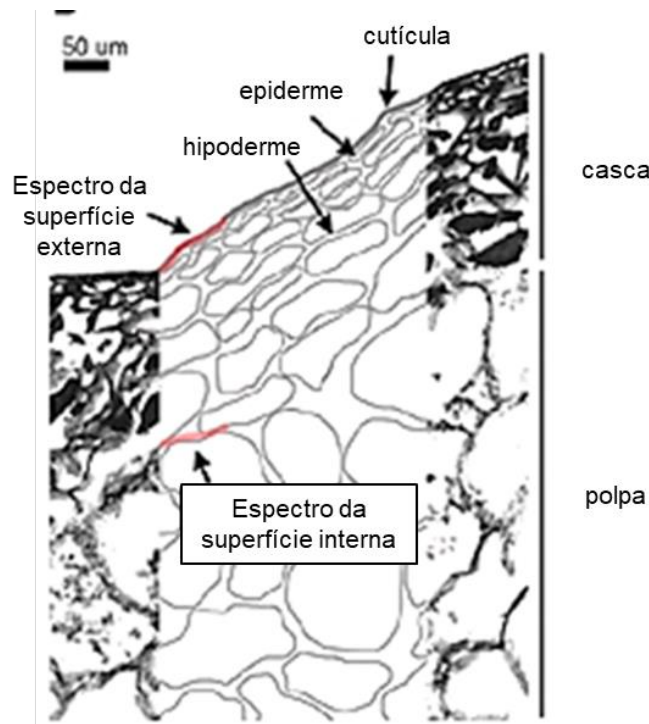
Dentre as técnicas de simples execução e custos mais baixos para a produção de passas estão a secagem ao sol e a secagem convectiva com circulação de ar forçada (GUINÉ; PINHO; BARROCA, 2011; MRKIĆ; UKRAINCZYK; TRIPALO, 2007; SHARMA; SATISHA; SOMKUWAR, 2013). No entanto, algumas características das uvas influenciam diretamente sobre as operações e eficiência no processo de produção de uva passa, bem como outros fatores externos como a manipulação dos cachos colhidos e o tipo de método utilizado para a secagem de uva, também podem afetar a qualidade final das uvas passas obtidas.

Simplificadamente, a baga da uva pode ser dividida em três partes principais: polpa, casca e semente (pirênica) ou em polpa e casca (em variedades/cultivares apirênicas). Diversos trabalhos, por sua vez, descrevem a divisão da baga da uva de forma mais detalhada nas seguintes partes (**Figura 2**): i) exocarpo (casca), composto pela epiderme, com pequenas células de paredes moderadamente grossas, recoberta por uma cera cuticular (cutícula), e por uma parte interna denominada hipoderme, a qual é composta de seis ou sete camadas de células que vão aumentando de tamanho nas camadas mais profundas e que contêm paredes celulares mais espessas do que as células epidérmicas; ii) mesocarpo (polpa), que contém células com paredes celulares finas, e iii) endocarpo, considerado o tecido que envolve as sementes, porém diferenci-lo do restante da polpa é difícil (HORNSEY, 2007; FASOLI *et al.*, 2016).

Com relação ao processo de secagem em si, a cutícula presente na casca da uva desempenha um papel crítico devido a sua natureza hidrofóbica,

constituindo em um envoltório protetor que funciona como barreira natural contra a perda de água e a estresses abióticos como patógenos e variações climáticas.

Figura 2 - Modelo esquemático das partes da baga da uva.



Fonte: adaptado de FASOLI *et al.* (2016).

Durante a secagem das uvas, a água evapora e deixa a fruta por meio das células da polpa e da casca, depois se move para a cera cuticular e evapora no ar. As condições ambientes de secagem serão ideais se o dia estiver quente e seco (FAO; OIV, 2016). A otimização do processo de desidratação das uvas tem sido extensivamente estudadas uma vez que é um tema desafiador.

Khiari, Zemni e Mihoubi (2019) em revisão compilando vários estudos, avaliaram o impacto do emprego de diferentes pré-tratamentos e tecnologias para desidratação sobre as características de qualidade das uvas para produção de passas, as quais podem variar dependendo do processo aplicado, da variedade/cultivar e das condições climáticas, podendo assim, influenciar diretamente a percepção de qualidade e a escolha do consumidor.

Para facilitar o processo de desidratação da uva, diversas técnicas de secagem, associadas ou não a pré- e/ou pós-tratamentos são empregadas (ADILETTA *et al.*, 2016). Pré-tratamentos físicos e químicos são amplamente

utilizados previamente à desidratação das frutas, visando não somente acelerar o processo de desidratação mas também a inativação de enzimas, aprimorando o processo de secagem e melhorando a qualidade dos produtos obtidos. Estes tratamentos variam desde a aplicação de soluções químicas (como hiperosmóticas, alcalinas, sulfitadas e ácidas), tratamentos com gás (como com dióxido de enxofre, dióxido de carbono e ozônio), branqueamento térmico (com água quente, vapor, aquecimento ôhmico e por micro-ondas) a aplicação de processos não térmicos (como ultrassom, congelamento, campo elétrico pulsado e alta pressão hidrostática) (ADILETTA *et al.*, 2016; CARRANZA-CONCHA *et al.*, 2012; DENG *et al.*, 2019; ESMAILI *et al.*, 2007).

Diversos estudos relatam a efetividade de pré-tratamentos químicos na aceleração do processo de desidratação de frutas, incluindo as uvas. Entre as soluções de pré-tratamento comumente aplicadas pode-se citar, a imersão das uvas em soluções ou dispersões alcalinas diluídas, tal como a base de carbonato de potássio (K_2CO_3) (BINGOL *et al.*, 2012; NI *et al.*, 2020; TELIS *et al.*, 2006; UHLIG; WALKER; STOREY, 1996; VAZQUEZ *et al.*, 1997), carbonato de cálcio ($CaCO_3$) (GABAS; MENEGALLI; TELIS-ROMERO, 1999; TELIS *et al.*, 2006), hidróxido de potássio (KOH) (NI *et al.*, 2020) ou hidróxido de sódio (NaOH) (BERNA; ROSSELLÓ; MULET, 1991; CARRANZA-CONCHA *et al.*, 2012; FEMENIA *et al.*, 1998; NI *et al.*, 2020; VAZQUEZ *et al.*, 1997).

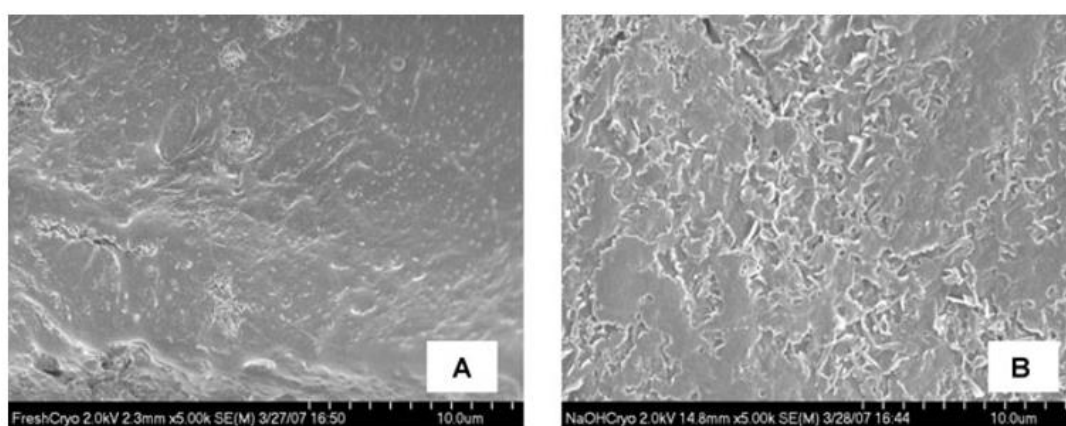
A composição específica dos agentes químicos utilizados (enxofre, hidróxido de sódio, carbonato de potássio e/ou ésteres etílicos de ácidos graxos do tipo C10-C18), sua concentração, pH, temperatura, e o tempo de imersão são os principais fatores que controlam a alteração da microestrutura na casca da uva (BINGOL *et al.*, 2012; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013; PANGAVHANE; SAWHNEY; SARSAVADIA, 1999). De forma genérica, estes pré-tratamentos químicos de soluções alcalinas, podem aumentar a taxa de secagem, tanto no princípio, pela formação de microporos sobre a superfície da casca da uva, quanto pela remoção da cera cuticular parcial ou totalmente, dependendo da concentração aplicada destas soluções de imersão, consequentemente melhorando a difusão de vapor de água (GRNCAREVIC, 1963; GRNCAREVIC; RADLER, 1971).

Shi *et al.*, (2008), por exemplo, demonstraram o efeito do pré-tratamento com NaOH nas características de secagem de mirtilos por meio da apresentação

da microestrutura de mirtilos antes (**Figura 3A**) e após (**Figura 3B**) o emprego de pré-tratamento com a solução alcalina. Os autores relataram que após o tratamento com NaOH, houve a remoção parcial da camada de cera dos frutos.

Um dos possíveis efeitos do pré-tratamento das bagas das uvas com NaOH está relacionado as reações de saponificação que ocorrem entre os lipídios contidos na cera cuticular e a solução alcalina, que levam a formação de produtos solúveis em água (sabões), de modo que a cutícula perde sua integridade e , possibilitando assim a saída de água da com maior facilidade.

Figura 3 - Microestrutura de mirtilo sem e com pré-tratamento com NaOH.



Fonte: adaptado de SHI *et al.* (2008).

A maioria dos pré-tratamentos químicos empregados utilizam em combinação com as soluções alcalinas, AOEV, óleos ou ésteres de ácidos graxos (oleato de etila ($C_{20}H_{38}O_2$), uma vez que em conjunto produzem uma reação sinérgica que modifica a cutícula da baga da uva. Na Resolução OIV-VITI 522-2016, de Boas Práticas da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 2016) para sistemas de produção de uva passa, está apresentado como opção de pré-tratamento a imersão das uvas em uma mistura de água e azeite, que é emulsionada com uma solução padrão de carbonato de potássio (contendo entre 2,4 e 5 kg de carbonato de potássio (K_2CO_3) e 1,5 litros de azeite ou óleo de imersão em 100 litros de água) de pH controlado entre 11 e 12. Está detalhado que o óleo de imersão é constituído de uma mistura de ésteres etílicos de ácidos graxos e um óleo oléico derivado de óleo vegetal.

Segundo a Resolução, a emulsão pode ser aplicada à superfície da baga por imersão ou aspersão, tomando o cuidado para que todas as bagas sejam

tratadas. É destacado que uma execução ineficiente desta etapa pode resultar em desidratação desigual das bagas e na obtenção de produto final com manchas e com cor não uniforme. Na Resolução estão definidas as proporções de emulsão e bagas, bem como o tempo necessário para obter os resultados desejados.

Vásquez-Parra, Ochoa-Martínez e Bustos-Parra (2013), na desidratação de fisális (*Physalis peruviana*), utilizando como pré-tratamento as combinações de óleo de girassol ou AOEV com carbonato de potássio a 28°C ou hidróxido de sódio com AOEV a 96°C, concluíram que o tipo de óleo aplicado e as alterações no tempo de imersão não promoveram diferenças significativas no aumento da taxa de desidratação, entretanto a porcentagem de AOEV na emulsão utilizada como pré-tratamento exerceu grande influência no aumento da taxa de difusividade de água, sendo o pré-tratamento composto por 9,48% de AOEV e 4,74% de carbonato de potássio, o de melhor desempenho.

Estudos relatam que os ácidos graxos modificam principalmente a camada externa de cera, enquanto o carbonato de potássio, composto mais utilizado nas soluções alcalinas, neutraliza os ácidos livres e suas cargas elétricas na membrana cuticular. Conforme a penetração dessas soluções nas camadas da parede celular da uva, estas misturas interagem com as ceras solúveis e estabelecem um vínculo hidrofílico (condutor de água) entre a superfície da baga e as células parênquimas contendo a água, a qual é removida durante o processo de desidratação (BINGOL *et al.*, 2012; DOYMAZ, 2006; GABAS; MENEGALLI; TELIS-ROMERO, 1999). Gabas *et al.* (1999) descobriram que o aumento da concentração de oleato de etila entre 0 e 3%, em uma solução de CaCO_3 a 2%, aumenta as taxas de secagem e resultou em passas com uma estrutura menos colapsada, devido sua ação solvente na cera epicuticular (SARAVACOS; MAROUSIS; RAOUZEOS, 1988). Entretanto, poucos são os estudos disponíveis na literatura quanto a aplicação do AOEV como pré-tratamento, embora esse seja utilizado para tal finalidade a centenas de anos, inicialmente com uma mistura de imersão a quente de azeite de oliva e cinzas de madeira, e posteriormente combinado com outros compostos mais puros e de grau alimentício (TELIS *et al.*, 2006; OLIVATI *et al.*, 2019).

Telis *et al.* (2006), por exemplo, ao avaliar os efeitos de pré-tratamentos químicos na taxa de secagem de uvas 'Rubi', relataram que o melhor pré-

tratamento consistiu na imersão das uvas, por 2 min, em uma emulsão de 5% de azeite de oliva e 6% de K_2CO_3 , a 50° C, o que resultou em tempos de secagem próximos aos do pré-tratamento com 2,5% de azeite de oliva. Já Pahlavanzadeh, Basiri e Zarrabi, (2001), ao investigar a aplicação de diversas substâncias alcalinas em diferentes concentrações e temperaturas, com ou sem adição de azeite, obtiveram um menor tempo de secagem e passas de melhor qualidade ao submeter as uvas, por imersão, em uma solução a 5% de K_2CO_3 , a 42°C. Entretanto, este estudo alerta também sobre os danos causados na casca da uva ao utilizar como pré-tratamento soluções de imersão altamente alcalinas. Embora estudos mais aprofundados sobre a composição fenólica das uvas não tenham sido realizados, sabe-se que as uvas pré-tratadas, utilizadas neste estudo, provavelmente apresentaram perdas importantes destes compostos durante a aplicação do pré-tratamento e no processo de desidratação.

Alguns países como a Turquia e a Grécia utilizam tradicionalmente o azeite de oliva extra virgem no pré-tratamento de uvas para produção de passas. No Brasil, por outro lado, devido a totalidade do azeite consumido ser proveniente de exportações, apenas há estudos sobre sua aplicabilidade.

Telis *et al.* (2006) testaram como alternativa natural ao azeite, a utilização de lecitina de soja. Os autores relataram que a imersão das uvas em uma suspensão aquosa de 2% de lecitina de soja, a 50° C, por 5 min, resultou em um tempo de secagem total apenas levemente superior ao do pré-tratamento mais efetivo (5% de azeite de oliva e 6% de K_2CO_3 , a 50° C). Vale ressaltar ainda, que a produção experimental de azeite de oliva extravirgem do Brasil nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Minas Gerais tem alcançado bons resultados com o auxílio da EMBRAPA - CPACT (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado) em Pelotas, no Rio Grande do Sul. Alguns azeites extra virgem nacionais foram analisados quanto sua composição e aceitação sensorial e os produtos foram considerados de alta qualidade e contendo elevadas concentrações de compostos fenólicos, o que incentiva os investimentos para uma futura produção em escala (BALLUS *et al.*, 2015; CRIZEL *et al.*, 2020).

Embora, como observado na elucidação acima, em vários casos os pré-tratamentos, especialmente os químicos, sejam tecnologicamente viáveis, há relatos de que a presença de resíduos de aditivos químicos nas uvas passas

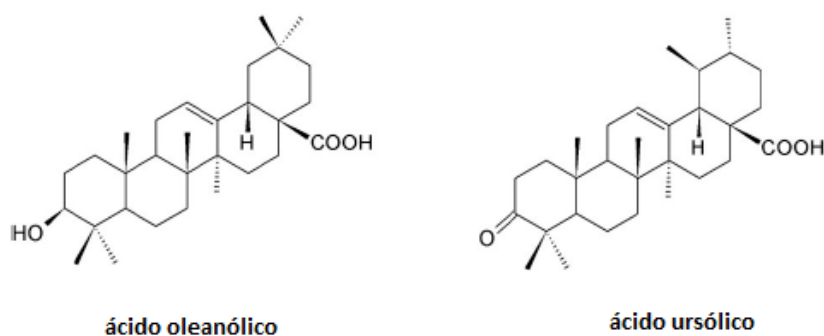
pode acarretar problemas para a saúde humana (ADILETTA *et al.*, 2016). Atualmente, há um crescente número de consumidores que valorizam alimentos com poucos ou nenhum aditivo artificial, dessa maneira, os produtos que apresentam o denominado ‘Rótulo Limpo’ ou ‘*Clean Label*’ ganham destaque (ASCHEMANN-WITZEL; VARELA; PESCHEL, 2019; ASIOLI *et al.*, 2017), bem como o apelo para a sustentabilidade, desestimulando assim o uso de produtos químicos corrosivos e/ou que possuem operação de descarte de elevado custo.

Neste sentido, em estudo anterior, foram avaliadas as alterações qualitativas e quantitativas dos compostos fenólicos em uvas passas elaboradas a partir da cultivar tinta brasileira BRS Morena, pré-tratada diretamente apenas com a aplicação de azeite extra-virgem como tensoativo natural, sem o uso de soluções de imersão (OLIVATI *et al.*, 2019). Neste estudo foi possível verificar que o pré-tratamento das uvas proporcionou uma redução significativa no tempo total de secagem (aproximadamente 45%) para a produção de passas quando comparado ao tempo gasto para obtenção das passas em uvas não tratadas. Além disso, ao avaliar a composição qualitativa e quantitativa dos compostos fenólicos da uva em questão, antes e depois da secagem, com e sem pré-tratamento, o estudo proporcionou também um melhor entendimento do que ocorreu com as diferentes classes de compostos fenólicos. Esses resultados apresentados no referido artigo incentivaram essa tese visando o entendimento e aperfeiçoamento deste pré-tratamento proposto, com uma cultivar branca. Isto porque há muitas variáveis que ainda não foram investigadas com melhor detalhamento e aprofundamento.

A efetividade do azeite de oliva extra virgem como pré-tratamento para a secagem de uvas está diretamente relacionada a sua composição que de maneira geral, tem como compostos majoritários os triacilgliceróis (~98%), no qual há vários ácidos graxos presentes, dos quais pode-se destacar o oléico (C18:1, monosaturado), seguido por outros como linoleico (C18:2, polisaturado), palmítico (C16:0, saturado), esteárico (C18:0, saturado), palmitoléico (C16:1, monosaturado) e linolênico (C18:3, polinsaturado). Depois há uma série de ácidos graxos saturados e insaturados que estão presentes no azeite em concentrações muito baixas, inferiores a 0,5% (CARRASCO-PANCORBO *et al.*, 2005). Além destes compostos, no azeite há pequena quantidade de ácidos graxos livres, hidrocarbonetos, fitoesteróis, álcoois alifáticos, tocoferóis,

pigmentos como carotenoides e clorofila, além de compostos fenólicos e voláteis e ácidos triterpenóides pentacíclicos tal como o ácido oleanólico e seu isômero ácido ursólico (**Figura 4**) (BOSKOU, 2006; SERVILI *et al.*, 2009).

Figura 4 - Principais triperpenóide (ácido oleanólico e seu isômero ácido ursólico) presente nas cascas das uvas e no azeite.



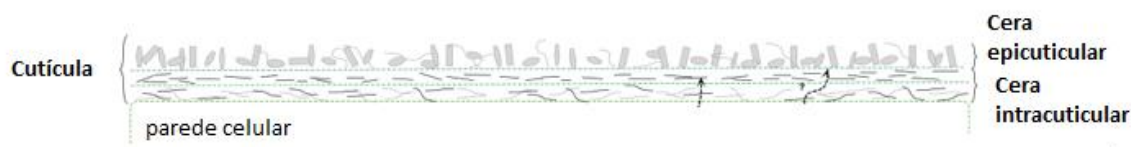
Fonte: Adaptado de RODRIGUEZ-RODRIGUEZ e SIMONSEN (2012)

O azeite, de forma geral, está relacionado com a minimização de problemas relacionados às doenças cardiovasculares, câncer de mama e diabetes mellitus tipo 2 (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018; SCHWINGSHACKL *et al.*, 2019). Há estudos relatando também benefícios a saúde envolvendo o consumo do ácido oleanólico e seu isômero ursólico (SÁNCHEZ-QUESADA; LÓPEZ-BIEDMA; GAFORIO, 2015; SASIKUMAR; DUBEY; GHOSH, 2020; ŽIBERNA *et al.*, 2017) e são justamente estes compostos presentes no azeite de oliva extra virgem que junto com a relativamente alta proporção de ácido oleanólico estão associados ao efeito de dissolução da cera cuticular das uvas e então ao aumento da taxa de desidratação das uvas para produção de passas. É importante ressaltar que a composição em ácidos graxos do azeite de oliva, bem como de outros compostos presentes como os compostos fenólicos podem ser influenciadas pela cultivar e estágio de maturação do fruto, bem como pela origem geográfica (ALOWAIESH *et al.*, 2018; INGLESE *et al.*, 2011; MONTEALEGRE; ALEGRE; GARCÍA-RUIZ, 2010).

Para melhor entendimento do efeito do azeite sobre a casca da uva é necessário também entender a composição química da cera cuticular da uva, que apresenta . A cutícula das bagas das uvas tem dois componentes principais,

uma matriz estrutural, chamada cutina, e a cera, que está embutida na cutina. A cutina é um biopolímero do tipo poliéster composto principalmente por ácidos graxos hidroxilados, e a cera é composta de duas camadas distintas, sendo que a mais interna é denominada cera intracuticular e a externa cera epicuticular (**Figura 5**) (HORNSEY, 2007; PENSEC *et al.*, 2014).

Figura 5 - Modelo simplificado da cutícula da uva.



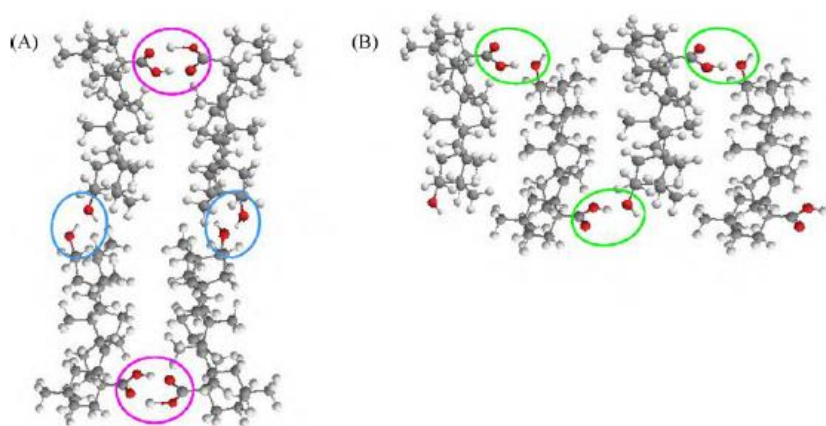
Fonte: Adaptado de TRIVEDI *et al.* (2019).

Quimicamente, a cera intracuticular é rica em triterpenóides não conjugados, enquanto que a cera epicuticular consiste em dois terços de cera 'dura' (majoritariamente ácido oleanólico, mas contendo também lupeol, ácido ursólico, α -amirina, entre outros) e um terço de cera 'macia' - uma mistura complexa de compostos que incluem alcoóis graxos como lauril, estearílico e cetil (HORNSEY, 2007; PENSEC *et al.*, 2014).. Esta composição de lipídeos resulta em uma matriz na qual coexistem, a temperatura ambiente, regiões cristalinas altamente ordenadas e regiões amorfas desordenadas e a cristalinidade desta cera correlaciona-se com a permeabilidade à água (TEIXEIRA *et al.*, 2010).

À temperatura ambiente, esse arranjo químico fornece uma forte repulsão à água e resistência à perda de vapor, podendo levar a processos de secagem, visando a produção de uvas passas, demasiadamente prolongados (CHRISTENSEN; PEACOCK, 2000; LECAS; BRILLOUET, 1994). A quantidade relativa de ácido oleanólico presente na cutícula influencia no grau de cristalinidade dos ácidos graxos presentes, que por sua vez podem regular a permeabilidade da membrana cuticular devido as interações específicas que eles podem estabelecer. Este comportamento deve-se a coexistência de dois grupos polares (OH e COOH) localizados em extremidades opostas da molécula de ácido oleanólico (TEIXEIRA *et al.*, 2010). Estas mesmas características relatadas para o ácido oleanólico presentes na uva também podem ser utilizadas para o ácido oleanólico presente no azeite de oliva utilizado como pré-tratamento

das uvas, sendo assim os prováveis motivos para os bons resultados do azeite no aumento na taxa de secagem das uvas. As moléculas de ácido oleanólico do azeite podem formar dímeros por meio da interação de uma ligação de hidrogênio entre um grupo hidroxila de uma molécula e o grupo carboxil de uma segunda molécula (**Figura 6**).

Figura 6 - Representação esquemática das possíveis ligações químicas para formação dos dímeros a partir de moléculas de ácido oleanólico.



Legenda: Ligações de hidrogênio (A) entre grupos carboxílicos (marcações de rosa) formam dímeros que podem eventualmente se associar a outros dímeros por meio de grupos álcoois (marcação azul) e (B) entre grupos carboxílicos e grupos álcoois (marcação em verde). Cor dos átomos: oxigênio (vermelho); hidrogênio (branco); (cinza) carbono.

Fonte: Adaptado de TEIXEIRA *et al.* (2007) TEIXEIRA *et al.* (2007).

Os demais grupos funcionais podem interagir com grupos complementares de outras moléculas, incluindo álcoois alifáticos, formando um arranjo tri-dimensional (CASADO; HEREDIA, 1999). Além disso, Teixeira *et al.* (2007) ressaltaram que essa interação prevalece sobre as ligações de hidrogênio oleanólicas-água. Após avaliar o efeito da temperatura sobre o ácido oleanólico e sobre suas interações na cera epicuticular, os autores relataram que a elevação da temperatura induz a formação de regiões mais cristalinas, facilitando a permeabilidade de água (TEIXEIRA *et al.*, 2010).

Diante do exposto acima, embora a novidade na tecnologia de pré-tratamento utilizando azeite de oliva extra virgem não seja alta, o processo envolve muitas reações/transformações complexas e relevantes para estudos científicos. Vale ressaltar que nem sempre uma inovação representa uma invenção como criar algo novo (inovação disruptiva), mas representa também,

uma melhoria ou aperfeiçoamento de um produto ou processo já existente, o que supera a inovação incremental e caracteriza-se como um avanço de mercado (*market breakthrough*) (BIGLIARDI; GALANAKIS, 2020) e este é o foco do presente trabalho.

As indústrias de alimentos bem como microempresas do setor, de maneira geral, apresentam desejo de serem mais disruptivas mas muitas vezes este tipo de inovação requer um investimento muito alto e envolvem um risco que elas não querem ou não podem se submeter. Berggren (2019) ressaltaram que projetos de melhorias incrementais, bem como de avanços de mercado, podem ser entregues em ritmos mais acelerados que inovações radicais e disruptivas e podem resultar em um forte impacto acumulativo em todo o portfólio de produtos de uma empresa, o que é importante e socialmente relevante. No âmbito socioeconômico, as informações adquiridas podem gerar grandes oportunidades para produtores rurais e indústrias processadoras, que podem aproveitar excedentes de produção e agregar valor aos seus produtos.

3.2.2. Drageados de chocolate com frutas desidratadas

Os drageados são definidos como os produtos constituídos por um núcleo de massa açucarada, de composição variada, ou ainda constituído por sementes oleaginosas, frutas, partes de fruta ou frutas secas revestidas por sucessivas camadas de uma cobertura (AVELAR *et al.*, 2019; FERREIRA, 2018). Quando o núcleo for constituído de frutas, o produto pode ser denominado fruta confeitada (AVELAR *et al.*, 2019). Esse processo é realizado em um equipamento rotativo que recebe o nome de drageadeira (FERREIRA, 2018; GESCHWINDNER; DROUVEN, 2009).

Evidências históricas apontam que o drageamento surgiu há mais de 1000 anos, podendo assim ser considerado como uma das formas mais antigas de produção de confeitos, sendo em seu princípio utilizado por egípcios e romanos para revestir frutos secos e sementes com mel (BECKETT, 2009; FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; FERREIRA, 2018; RAMIRES, 2012). Os drageados com açúcar surgiram a partir do século 19 e, mais tarde, com a introdução do chocolate desenvolveram-se os drageados de chocolate (BECKETT, 2009; RAMIRES, 2012). Ao longo do tempo o princípio básico do drageamento se manteve o mesmo, entretanto, os equipamentos e materiais seguem evoluindo

para permitir produtos acabados com maior qualidade em um menor tempo, buscando sempre atender as demandas do consumidor (RAMIRES, 2012).

A aplicação do chocolate como cobertura em drageados é realizada por meio da aplicação de sucessivas camadas de chocolate fundido sobre os núcleos a serem recobertos, sendo que as últimas camadas podem ser polvilhada com diferentes matérias-primas ou ainda a última camada de chocolate pode ser apresentada na forma polida ou, adicionada de uma camada de açúcar polida adicionada de corantes (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; RAMIRES, 2012). Para a obtenção de um drageado de qualidade é necessário mais que somente a aplicação de cobertura de chocolate a frutas desidratadas. O desenvolvimento deste produto envolve quatro etapas principais: a escolha do núcleo e do revestimento, preparação do núcleo (quando necessário); drageamento e finalização (BECKETT, 2009; PINTO, 2013).

Para o drageamento com chocolate é indicado que as drageadoras possuam um sistema de fornecimento de ar frio, de modo a acelerar a solidificação do chocolate, cuja aplicação pode ser realizada manualmente ou, por aspersão (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; PINTO, 2013). As drageadoras convencionais (**Figura 7**) consistem basicamente de um bojo redondo ou oval, em aço inoxidável, apoiado sobre uma base e inclinado para trás num ângulo variável de acordo com a aplicação pretendida.

Figura 7 - Drageadora.



Fonte: Quality Máquinas e Equipamentos, 2017.

Estes equipamentos são equipados com um motor que possibilita a rotação do bojo sobre o eixo horizontal, cuja velocidade é determinada em função do tipo de núcleo selecionado e tamanho da drageadora, devendo garantir a movimentação contínua e suave dos núcleos de modo a distribuir e homogeneizar de forma uniforme a cobertura aplicada (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; PINTO, 2013).

A primeira etapa do drageamento para a produção de drageados de chocolate é a seleção do núcleo, entretanto, cabe ressaltar que para o drageamento com chocolate o conteúdo de umidade é um requisito fundamental nessa escolha, pois produtos à base de chocolate possuem um baixo teor de umidade (0,5% a 1,5%) (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016). Além disso, deve-se estar atento ao fato de que as frutas desidratadas são facilmente deformáveis, podendo levar à aglomeração e até a uma descamação do revestimento durante o drageamento com chocolate. Especificamente para as uvas passas, para evitar sua aglomeração durante o drageamento, geralmente, é realizada uma etapa de isolamento (selagem) (BECKETT, 2009; PINTO, 2013).

A etapa de selagem, tem o objetivo de formar um filme protetor ao redor de cada núcleo, a fim de evitar ou retardar a migração de umidade do núcleo para a cobertura, tornar a superfície do núcleo mais lisa e uniforme, melhorar a aderência da cobertura ao núcleo e, conseqüentemente reduzir o fenômeno de aglomeração durante o drageamento (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016). Para isso, são realizadas aplicação de solução de selagem (goma acácia, amido modificado, maltodextrinas ou combinações destas) sobre os núcleos, na drageadora, seguido da aplicação de pó de secagem (açúcar impalpável, cacau em pó ou, uma mistura destes). Este procedimento é realizado de 2 a 3 vezes (PINTO, 2013). Antes de seguirem para o drageamento propriamente dito e após a selagem, os núcleos devem permanecer em repouso de pelo menos 8 horas, para sua completa secagem e formação do filme protetor (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016). Posteriormente, ocorre a aplicação de chocolate fundido sobre os núcleos, o qual ao ser aplicado manualmente deverá ocorrer numa zona de maior velocidade de rotação dos núcleos (**Figura 8**), permitindo assim uma distribuição mais uniforme da cobertura (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; PINTO, 2013).

Figura 8 - Zonas de movimentação em uma drageadora.



A – Superfície do produto: ponto de máxima velocidade, onde deve ser adicionada a cobertura;

B – Fundo da drageadeira: força permite elevar o produto e evitar que ele patine;

C – Zona intermediária: diferentes zonas de rotação.

Fonte: FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016.

Após a adição da primeira camada de chocolate e sua distribuição uniforme nos núcleos, deve-se realizar a aplicação de ar frio no interior da drageadora, reduzindo a temperatura e, conseqüentemente, facilitando a solidificação do chocolate (PINTO, 2013). Após essa solidificação, uma nova camada é aplicada, este procedimento deve ser repetido até ser obtido o resultado final pretendido, podendo variar de 10 a 30 vezes para drageados de chocolate, esta etapa deve ocorrer num local fresco e seco (15 à 20°C, UR < 50%) (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016).

A temperatura no interior da drageadora aumenta significativamente durante o processamento, devido não somente à aplicação constante de chocolate fundido (a 37°C) mas também, pelo calor latente resultante da solidificação da manteiga de cacau e, pelo atrito da rotação dos núcleos parcialmente revestidos (PINTO, 2013). Portanto, a temperatura do ar frio injetado na drageadora deve ser controlada, pois caso seja baixa leva a uma rápida solidificação do chocolate e conseqüente formação de superfícies irregulares, entretanto, se a temperatura for muito alta favorece a aglomeração do produto (formação de duplas ou cachos) (BECKETT, 2009; PINTO, 2013).

Finalizada esta etapa do processo, os drageados devem permanecer em repouso por algumas horas (8 a 12 horas) em ambiente controlado (cerca de

18°C, 60% UR) antes de serem submetidos ao acabamento do produto, esse período de repouso é necessário para que haja uma boa solidificação da manteiga de cacau (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016; PINTO, 2013). Os drageados podem ainda ser submetidos a uma etapa de finalização, como o polimento, responsável pelo aspecto brilhante final dos produtos. Este procedimento deve ocorrer num local fresco e seco com condições semelhantes às verificadas durante o drageamento. Para isso, é aplicado sobre os drageados, na drageadora, uma pequena quantidade de solução de brilho (goma acácia, xarope de milho, dextrinas, entre outros), fazendo com que os drageados permaneçam em movimento até secar, normalmente com a injeção de ar seco (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016).

O desenvolvimento de drageados de chocolate contendo uvas passas obtidas de cultivares brasileiras como núcleos naturais tem como proposta desenvolver um *snack* com maior conteúdo de compostos fenólicos. Propostas similares podem ser encontradas na literatura, tal como a adição de extrato da folha ou *nettle* da framboesa (BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2015; BELŠČAK *et al.*, 2009) e de canela em pó (ALBAK; TEKIN, 2015; MUHAMMAD *et al.*, 2017).

Efraim, Alves e Jardim (2011) destacaram a importância do uso do chocolate meio amargo para o desenvolvimento de produtos alimentícios e a necessidade no desenvolvimento de inovações tecnológicas que visem a manutenção nos produtos contendo chocolate dos compostos de interesse presentes no cacau, ainda preservando a qualidade sensorial tão almejada pelos consumidores.

Komes *et al.* (2013) relataram aumento da atividade antioxidante em chocolates tipo amargo e ao leite adicionados de uva-passa, agregando valor funcional ao produto. Martini, Conte e Tagliazucchi (2018), após realizaram uma análise detalhada dos perfis quantitativo e qualitativo de chocolate amargo e do mesmo enriquecido com chá verde Shakura e açafrão em pó relataram que o enriquecimento do chocolate influenciou e modificou o perfil fenólico dos produtos finais, resultando em um aumento da concentração fenólica. Há necessidade de estudos científicos mais detalhados sobre os compostos fenólicos individuais presentes neste tipo de produto e sobre o quanto as frutas nacionais podem agregar funcionalidade e qualidade sensorial ao chocolate.

3.3. Análise sensorial

Para determinar o perfil sensorial dos drageados, ou seja, a identificação e quantificação de descritores que descrevam o alimento, diversas técnicas e com as mais distintas abordagens estão disponíveis na literatura, dentre as quais podemos citar as metodologias mais tradicionais (Análise Descritiva Quantitativa - ADQ®, Perfil de Sabor, Perfil de Textura, etc.) e as metodologias rápidas (Perfil *Flash*, *Free Sorting Task*, *Check-all-that-apply (CATA)* e *Rate-all-that-apply (RATA)*, etc.) (MININ; DA-SILVA, 2016b). Tanto no campo da pesquisa quanto na indústria, as metodologias rápidas para a obtenção do perfil sensorial dos alimentos têm sido cada vez mais aceitas e amplamente utilizadas (ALCANTARA *et al.*, 2018; ARES *et al.*, 2014a, 2014b; DUTCOSKY, 2013; MININ, 2016; SILVA *et al.*, 2013; STONE; SIDEL, 2004).

O método CATA já foi amplamente aplicado e dentre os produtos testados encontram-se *snacks* (JAEGER *et al.*, 2013b), frutas (ARES; JAEGER, 2013; JAEGER *et al.*, 2013b), chocolate (ARES *et al.*, 2014a; JAEGER *et al.*, 2013a), sobremesas de leite (ARES *et al.*, 2014b; JAEGER *et al.*, 2013a), biscoitos (ARES *et al.*, 2014a), *dips* (molhos de acompanhamento) (JAEGER *et al.*, 2013b), água saborizada (JAEGER *et al.*, 2013b), cerveja (JAEGER *et al.*, 2013b), sorvetes (DOOLEY; LEE; MEULLENET, 2010), pães integrais (ARES *et al.*, 2014b) e refrigerantes com sabor cítrico (ARES *et al.*, 2014a; PLAETHN, 2012). Esse método é considerado de fácil aplicação e condução (JAEGER *et al.*, 2015) para controle de qualidade sensorial uma vez que mostra concordância com o resultado de perfis sensoriais gerados por equipes treinadas e selecionadas (ARES *et al.*, 2010; BRUZZONE; ARES; GIMÉNEZ, 2012).

A simplicidade das questões CATA é uma vantagem chave, mas também uma limitação potencial. O formato de resposta binária (possui ou não possui o descritor apontado/listado) não permite uma medida direta da intensidade dos descritores sensoriais avaliados, o que poderia dificultar descrições detalhadas e discriminação entre produtos que têm perfis semelhantes (ARES *et al.*, 2014a). Por outro lado, o método RATA, o qual é uma variação do CATA, considera esse fator. No RATA, os descritores selecionados da lista pré-definida são avaliados juntamente com uma escala, permitindo uma maior discriminação das amostras (ARES *et al.*, 2014b). De modo geral, o RATA aumenta a aplicabilidade do

método CATA por meio da obtenção de informações de intensidade dos descritores sensoriais (MININ; DA-SILVA, 2016a).

Dessa maneira, neste projeto foi realizado o perfil sensorial dos drageados de chocolate produzidos por meio da metodologia RATA, a fim não somente de caracterizar o perfil sensorial dos produtos finais, mas também obter informações adicionais que permitam identificar descritores relacionados com a aceitabilidade sensorial dos drageados produzidos. Acredita-se que devido as passas apresentarem alto teor de açúcares, bem como sabor e aroma característicos das passas, o seu uso como núcleo de drageados de chocolate preto contendo alto teor de sólidos de cacau pode melhorar a qualidade sensorial dos drageados e reduzir a quantidade de açúcar adicionado aos produtos (AVELAR *et al.*, 2019; MONGIA, 2014).

3.4. Principais compostos fenólicos presentes em uvas, passas e drageados de uva passa com chocolate

3.4.1. Principais compostos fenólicos presentes em uvas brancas e suas uvas passas

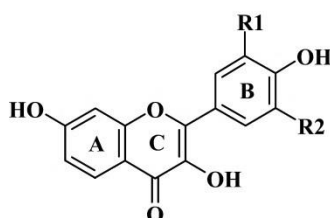
Os compostos fenólicos presentes nas uvas podem ser divididos em dois grandes grupos, os flavonoides e os não-flavonoides. O primeiro grupo é predominantemente encontrado nas cascas das uvas (flavonóis, flavan-3-óis e proantocianidinas, antocianinas (apenas nas uvas tintas). Os flavan-3-óis e as proantocianidinas também são encontradas nas sementes. Na polpa da uva podem ser encontrados alguns flavonóis, porém em baixas concentrações, e também antocianinas, nas cultivares tintoreiras. Quanto aos compostos não-flavonoides, estão presentes na casca das uvas (ácidos hidroxicinâmicos e estilbenos (como resveratrol e seu glucosídeo piceido)), bem como na polpa, no qual se concentra quase a totalidade dos ácidos hidroxicinâmicos presentes na baga. Nas sementes é possível identificar ácidos hidroxibenzoicos (como ácido gálico) e estilbenos (principalmente resveratrol e seu glucosídeo piceido) (JACKSON, 1994; LAGO-VANZELA, 2011).

A seguir está apresentado com mais detalhes as principais classes de compostos fenólicos presentes nas uvas e as possíveis alterações observadas em processos de secagem para a produção de uvas passas.

3.4.1.1. Flavonóis

Estes compostos possuem como estrutura básica a aglicona, sendo formada por dois anéis fenólicos A e B e um anel heterocíclico C, onde possuem os grupos carbonilo e hidroxílico (**Figura 9**) (LAGO-VANZELA, 2011).

Figura 9 - Estrutura dos flavonóis encontrados em uvas.



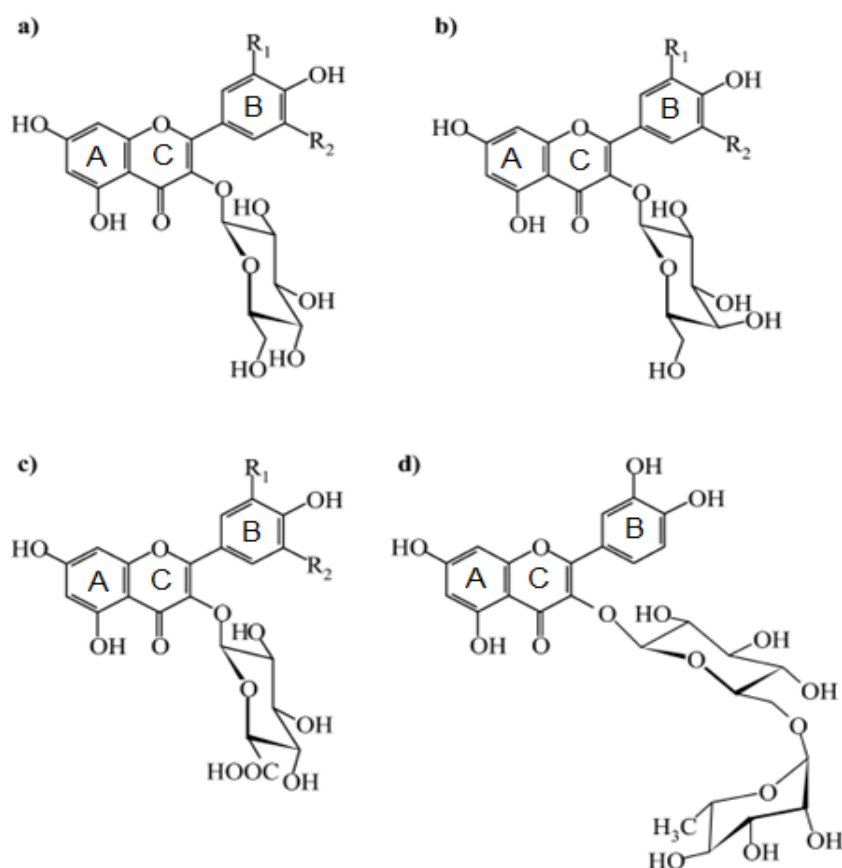
Flavonol	R1	R2
Kampferol	H	H
Quercetina	H	OH
Miricetina	OH	OH
Isoramnetina	H	OCH ₃
Laricitrina	OH	OCH ₃
Siringuetina	OCH ₃	OCH ₃

Fonte: Adaptado de LAGO-VANZELA, 2011.

Na **Figura 10** estão ilustradas as principais estruturas de flavonóis encontradas, principalmente, nas uvas, de acordo com a substituição no anel B: kaempferol (R1 = R2 = H); quercetina (R1 = OH, R2 = H); isoramnetina (R1 = OCH₃, R2 = H); miricetina (R1 = R2 = OH); laricitrina (R1 = OCH₃, R2 = OH); siringetina (R1 = R2 = OCH₃) (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ *et al.*, 2011). Nas uvas, estes compostos estão geralmente sob a forma ligada a açúcares (FLINT; JORDAN; CALDWELL, 1985; OLIVATI *et al.*, 2019), produzindo glucosídeos, glucoronídeos, galactosídeos, rutinosídeos, pentosídeos e diglucosídeos (GARRIDO; BORGES, 2013). Vale ressaltar que em uvas tintas, pode ocorrer a presença simultânea de glicosídeos das agliconas de quercetina, kaempferol, isoramnetina, miricetina, laricitrina e siringetina, enquanto para as uvas de variedades/cultivares brancas, foram detectadas somente os glicosídeos de quercetina, kaempferol e isoramnetina (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2010; DE ROSSO *et al.*, 2014; GARRIDO; BORGES, 2013; NICULESCU; PAUN; IONETE, 2016). A não-detecção da miricetina, laricitrina e siringetina em variedades

brancas, revela que a enzima de flavonoide 3', 5'-hidroxilase não é expressa nas variedades brancas de uva (GARRIDO; BORGES, 2013; MATTIVI *et al.*, 2006).

Figura 10 - Principais flavonol 3-O-glicosídeos identificados em uvas brancas: a) flavonol 3-O-glucosídeos; b) flavonol 3-O-galactosídeos; c) flavonol 3-O-glucuronídeos; d) rutina (quercetina 3-O-(6"-ramnosil)-glicosídeo).



Fonte: CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2010.

Nas uvas brancas, os flavonóis são considerados os principais contribuintes para sua atividade antioxidante, dentre as agliconas citadas, a quercetina é considerada como um antioxidante muito eficaz (BELITZ; GROSCH; SCHIERBERLE, 2009; LINGUA *et al.*, 2019; RUIZ *et al.*, 2015).

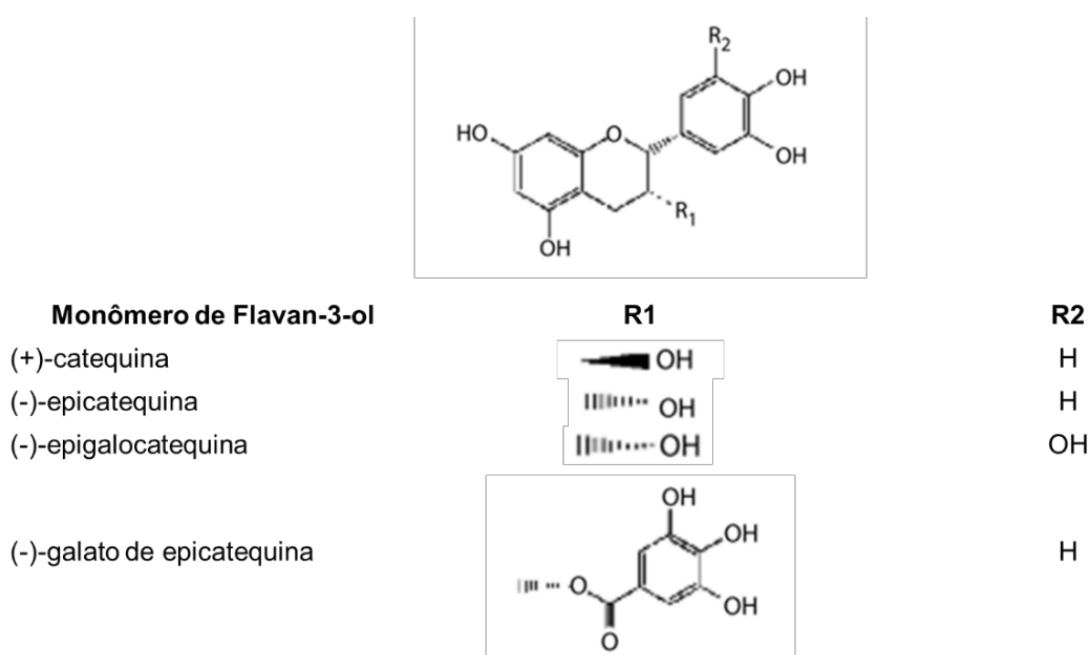
3.4.1.2. Flavan-3-óis e proantocianidinas

Os flavan-3-óis são compostos encontrados em maior quantidade nas sementes e cascas das uvas e apresentam como unidades fundamentais as estruturas monoméricas de 2-fenilbenzopiranos (C6-C3-C6) (ADAMS, 2006;

RUSTIONI; FIORI; FAILLA, 2014; TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009). A (+)-catequina e seu isômero (-)-epicatequina são os principais flavan-3-óis monoméricos presentes nas uvas, podendo estar em parte esterificados pelo ácido gálico ($C_7H_6O_5$), normalmente ao nível do carbono 3.

Na **Figura 11** estão descritas as estruturas de alguns destes compostos, os quais são responsáveis, em grande parte, pelo gosto amargo e adstringência de uva e de produtos derivados (DA-SILVA; LAGO-VANZELA; BAFFI, 2015; KENNEDY, 2008; NICULESCU; PAUN; IONETE, 2016).

Figura 11 - Exemplos de flavan-3-óis encontrados em uvas.

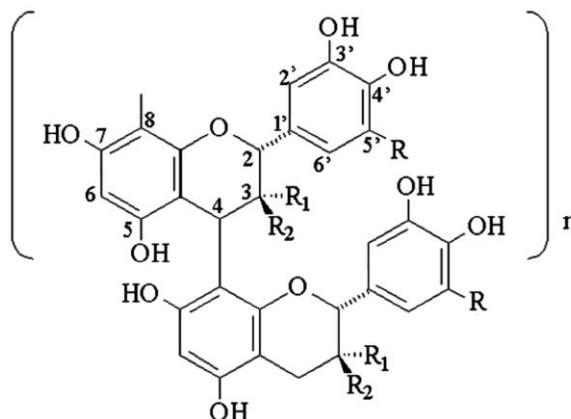


Fonte: adaptado de KENNEDY, 2008.

Várias unidades monoméricas de catequina ou epicatequina formam as proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados (**Figura 12**). Dependendo da quantidade de unidades monoméricas de catequinas e epicatequinas associadas, da posição de ocorrência das ligações, oxigenação nos anéis A e B, e, estereoquímica dos substituintes no anel C, as proantocianidinas podem ser dímeras, trímeras, oligoméricas, formadas por até cinco unidades, ou poliméricas, formadas por mais de cinco unidades (ADAMS, 2006; TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009). Ao aquecer em solução ácida, a ligação C-C feita durante a formação é clivada e as unidades de flavan terminais liberam oligômeros como carbocátions, os quais são

oxidados a antocianidinas (coloridas) pelo oxigênio atmosférico (BELITZ; GROSCH; SCHIERBERLE, 2009; RIBÉREAU-GAYON, 2003).

Figura 12 - Estrutura básica das proantocianidinas.



Fonte: HURST *et al.* (2009).

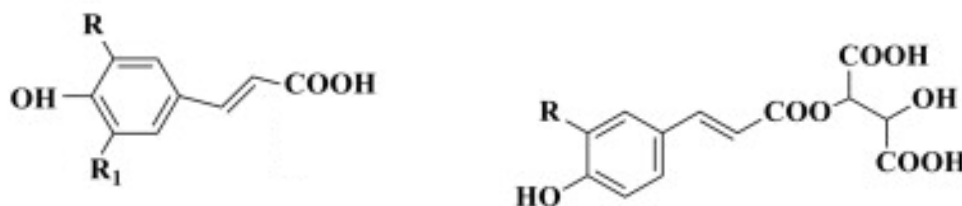
Nas uvas, são liberadas, principalmente, a cianidina seguida pela delphinidina, cujas moléculas precursoras são respectivamente constituídas de (+)-catequina e (-)-epicatequina e, (+)-galocatequina e (-)-epigalocatequina (LAGO-VANZELA, 2011).

3.4.1.3. Ácidos fenólicos: enfoque para os derivados dos ácidos hidroxicinâmicos

Os ácidos fenólicos são compostos polifenólicos não-flavonóides divididos em dois tipos principais, os derivados de ácido benzóico e os derivados de ácido cinâmico, sendo destes, os ácidos hidroxicinâmicos (**Figura 13**) naturalmente mais comuns (ZUITER, 2014).

Dentro dos ácidos hidroxicinâmicos, os mais comuns são os ácidos caféico, *p*-cumárico e ferúlico, que frequentemente ocorrem nas uvas esterificados com o ácido tartárico (respectivamente ácido caftárico, ácido *p*-cutárico e ácido fertárico), que é o principal ácido orgânico presente na uva (GARRIDO; BORGES, 2013; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Figura 13 - Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos e seus principais derivados em uvas.



R = R₁ = H: ácido *p*-cumárico

R = OH; R₁ = H: ácido caféico

R = OCH₃; R₁ = H: ácido ferúlico

R = R₁ = OCH₃: ácido sinápico

R = H: ácido *p*-cutárico

R = OH: ácido caftárico

R = OCH₃: ácido fertárico

Fonte: Adaptado de GARRIDO; BORGES, 2013.

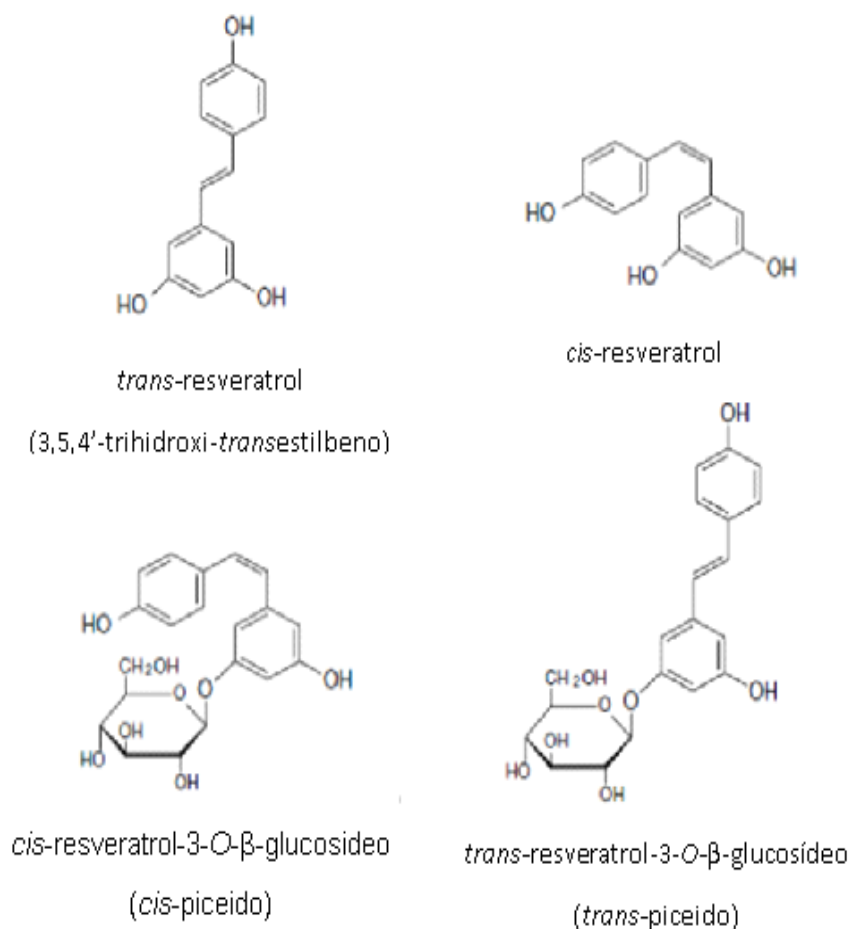
Nas uvas, especialmente na polpa, os ácidos caftárico e fertárico são mais comumente encontrados na forma *trans*, e são conhecidos por serem parcialmente responsáveis pelas propriedades adstringentes das uvas (GARRIDO; BORGES, 2013; HUFNAGEL; HOFMANN, 2008).

3.4.1.4. Estilbenos

Dentre os principais compostos pertencentes a esta classe nas uvas destaca-se o resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) (**Figura 14**), conhecido por seus fortes efeitos biológicos *in vitro* e *in vivo* (TAYOUB; SULAIMAN; ALORFI, 2014).

Este composto se encontra unido a uma molécula de glicose por meio de um grupo fenol na posição 3 (3-O-glicosídeo de resveratrol) também conhecido como piceído (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O-β-D-glicosídeo), podendo apresentar-se nas formas *cis* e *trans* (LASTRA; VILLEGAS, 2007). O resveratrol contém um esqueleto baseado na estrutura do 1,2-difeniletileno e, como fitoalexinas (metabólitos secundários antimicrobianos), pode ser sintetizado principalmente nas cascas das uvas como resposta ao stress causado por infecção microbiana, dano mecânico ou irradiação por luz ultravioleta, podendo ser encontrado nas uvas e em seus produtos (GARRIDO; BORGES, 2013; OROIAN; ESCRICHE, 2015; RENTZSCH; WILKENS; WINTERHALTER, 2009).

Figura 14 - *Trans*-resveratrol e seus derivados.



Fonte: OLIVATI, 2016.

3.4.2. Compostos fenólicos em cacau e chocolate

O cacau e chocolate são produtos consumidos a centenas de anos. Para os Maias, o cacau era símbolo de fertilidade e vida, sendo considerado como o alimento dos deuses. Os Astecas, por sua vez, utilizavam o cacau como medicamento para mais de 150 doenças e, na Europa, durante os séculos 17 e 18, o chocolate era prescrito para tratar diversas doenças desde simples resfriados até doenças mentais, fazendo assim com que o chocolate fosse muito mais que um alimento (DILLINGER *et al.*, 2000; JALIL; ISMAIL, 2008; TODOROVIC *et al.*, 2015a).

No Brasil, atualmente pela Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005, que aprova o "Regulamento Técnico para chocolate e produtos de cacau" define-se que, chocolate é o produto obtido a partir da mistura de derivados de

cacau (*Theobroma cacao* L.), massa (ou pasta ou liquor) de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25 % (g/100 g) de sólidos totais de cacau. O produto pode apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados (BRASIL, 2005a). Entretanto, ainda não há em vigor uma legislação mais específica determinando o conteúdo mínimo de sólidos de cacau para diferentes categorias de chocolate (ao leite, meio amargo, amargo). A regulamentação destas categorias seria de grande importância aos consumidores desses produtos, uma vez que as propriedades bioativas de derivados do cacau, como o chocolate, estão diretamente associadas a quantidade de sólidos de cacau existente no produto (CHENG; JALIL; ISMAIL, 2009; MUHAMMAD *et al.*, 2017).

Essas propriedades bioativas do cacau e de seus derivados, são comumente associadas tanto a presença de compostos fenólicos, como de outros compostos minoritários (ex. metilxantinas) com interessante capacidade antioxidante (ARLORIO *et al.*, 2008; BORDIGA *et al.*, 2015; DEL RIO *et al.*, 2013; LIN *et al.*, 2016; MUDENUTI *et al.*, 2018). Dentre os principais compostos fenólicos presentes no cacau pode-se citar os flavan-3-óis (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018) e as proantocianidinas (TODOROVIC *et al.*, 2015a). O chocolate preto, com alto teor de sólidos de cacau, em especial, pode contribuir significativamente para a ingestão diária de antioxidantes e compostos fenólicos em adultos e crianças (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; RUSCONI; CONTI, 2010).

No cacau, os principais flavan-3-óis são a (+)-catequina e a (-)-epicatequina, sendo que essa última tem sido reportada como o principal flavanol monomérico do cacau, representando aproximadamente 35% do conteúdo total dos fenólicos (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; WOLLGAST; ANKLAM, 2000). Assim, como já foram determinadas proantocianidinas, que são compostos que compreendem as subunidades de catequina e epicatequina (TODOROVIC *et al.*, 2015a; WAN *et al.*, 2001).

No grão seco de cacau, os oligômeros de procianidina compõem 12% a 48% de seu peso seco e, no chocolate foram identificadas procianidinas constituídas por até 10 subunidades (STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003). Nas sementes do cacau estão presentes também, ainda que em menor quantidade, antocianinas (tal como cianidina-3-arabinósido e cianidina-3-

galactósido (BELITZ; GROSCH; SCHIERBERLE, 2009; ORACZ; ZYZELEWICZ; NEBESNY, 2015). Quanto aos flavonóis, os principais encontrados nas sementes do cacau são a quercetina-3-O-rutinósido, quercetina-3-O-arabinósido; quercetina-3-O-glicosídeo, quercetina-3-O-glucoronídeo e a aglicona livre de quercetina (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018).

Apesar da grande quantidade de informação sobre os compostos fenólicos presentes no cacau, ainda há pouca informação na literatura sobre a composição fenólica do chocolate em geral, sendo que a categoria de composto fenólico mais focada para os estudos são os flavan-3-óis, uma vez que estes são tidos como a principal classe de fenólicos no chocolate (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018). Martini, Conte e Tagliazucchi (2018) determinaram detalhadamente o perfil de compostos fenólicos do chocolate contendo 70% de sólidos de cacau. Neste estudo foram identificados 158 compostos fenólicos individuais no chocolate, dos quais, 67 foram relatados pela primeira vez neste tipo de chocolate e 38 destes foram identificados pela primeira vez em grãos de cacau. Os autores relataram que a quantidade total de flavan-3-óis representou 64,0% do total de polifenóis identificados, sendo que a epicatequina representou 40,4% do total de flavan-3-óis e 25,8% do total de compostos fenólicos identificados; bem como que os ácidos hidroxicinâmicos constituíram cerca de 20,6% do perfil fenólico do chocolate estudado, sendo o ácido ferúlico, o aspartato di-hidroxicinâmico e o aspartato coumaroil os compostos majoritários (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018).

Estudos relatam que os principais flavonóis presente no cacau e em chocolate com elevada concentração de cacau são o pentósido, o hexósídeo e o rhamnósido de quercetina, a quercetina livre, o galactósido e o glicósido de kaempferol, assim como também são encontrados a quercetina-7-O-ramnosídeo-3-O-rutinosídeo e quercetina-7-O-hexosídeo-3-O-rutinosídeo (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; ORTEGA *et al.*, 2008; SÁNCHEZ-RABANEDA *et al.*, 2003). Dos flavan-3-óis encontrados em chocolate amargo e produtos de cacau, pode-se destacar a epicatequina, a catequina, a galocatequina, a epigalocatequina, (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; WOLLGAST, 2004), os isômeros da epicatequina-3-O-hexósido, os isômeros da epicatequina-O-hexósido, a epicatequina-7-O-hexósido, os isômeros da epicatequina-O-sulfato

(D'SOUZA *et al.*, 2017; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; PATRAS *et al.*, 2014).

Quanto a classe das procianidinas, podem ser encontrados dímeros da procianidina do tipo B e formas derivadas, procianidinas do tipo A e formas derivadas, e procianidinas poliméricas (D'SOUZA *et al.*, 2017; GU *et al.*, 2006; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018). Além das categorias de fenólicos citadas acima também são encontrados na literatura relatos da presença de flavonas, elagitaninos, ácidos hidróxibenzoico, curcuminóides e outros fenólicos como a vanilina (CÁDIZ-GURREA *et al.*, 2014; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; ORTEGA *et al.*, 2008).

3.4.3 Efeito do processamento nos compostos fenólicos presentes nas uvas e no chocolate

A uva é uma fruta não-climatérica de elevada perecibilidade, que pode sofrer modificações nos seus atributos sensoriais e nutricionais ao longo do amadurecimento e na fase pós-colheita, assim como durante seu processamento nos mais diferenciados produtos (DA-SILVA; LAGO-VANZELA; BAFFI, 2015).

O processo de secagem, em particular, promove diversas alterações nas uvas. Algumas dessas são indesejáveis, como por exemplo o encolhimento e cristalização dos açúcares presentes nas uvas (ESMAILLI *et al.*, 2007; TRUONG *et al.*, 2020), a alteração da coloração (VIEIRA, 2016), decorrente tanto de alterações químicas (oxidação de compostos fenólicos, reação de Maillard, etc.) como provenientes de alterações bioquímicas (escurecimento enzimático), como também pode haver alterações no aroma (JAVED *et al.*, 2018), e contaminação microbiológica (KANAPITSAS *et al.*, 2015; VIEIRA, 2016). Além disso, o processo de desidratação das uvas também pode ocasionar tanto concentração de alguns compostos fenólicos, como degradação e/ou hidrólise de outros, alterando não só o perfil quantitativo mas também o qualitativo final das passas (OLIVATI *et al.*, 2019).

Todas estas alterações podem afetar as características sensoriais, nutricionais e funcionais das uvas passas produzidas (BAZARDEH; ESMAILLI, 2014; BINGOL *et al.*, 2012; CARRANZA-CONCHA *et al.*, 2012; ESMAILLI *et al.*, 2007; FABANI *et al.*, 2017; GABAS; MENEGALLI; TELIS-ROMERO, 1999;

MARQUEZ *et al.*, 2012a; TELIS *et al.*, 2006; VIVAR-QUINTANA *et al.*, 1999; ZHAO; HALL, 2008). Estudos mais aprofundados de como a estrutura química dos compostos fenólicos, bem como as condições do processo de desidratação (tempo e temperatura) influenciam nas alterações destes compostos após o processo de desidratação são essenciais para melhorar a qualidade dos produtos desenvolvidos.

Quanto ao chocolate, sabe-se que o processamento do cacau para a produção do chocolate promove perdas significativas no conteúdo de compostos fenólicos e em sua atividade biológica, por isso, o conteúdo desses compostos encontrados no cacau não é o mesmo do encontrado no produto final (BORDIGA *et al.*, 2015; CHENG; JALIL; ISMAIL, 2009; EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; TODOROVIC *et al.*, 2015a; TOKER; PALABIYIK; KONAR, 2019; ŻYŻELEWICZ *et al.*, 2016).

Dentre as etapas de produção do chocolate a fermentação e torrefação do cacau são indicadas como as principais causas de degradação de compostos fenólicos (EYAMO EVINA *et al.*, 2016; ŻYŻELEWICZ *et al.*, 2016). O processo de alcalinização também possui efeito negativo sobre os compostos fenólicos, reduzindo, principalmente, o conteúdo dos flavan-3-óis (TODOROVIC *et al.*, 2015a). Além disso, os compostos fenólicos têm a capacidade de se associar a proteínas, portanto, a formação de um complexo entre a proteína do leite e os compostos fenólicos podem ser a razão para uma menor capacidade antioxidante em produtos de cacau adicionados de leite (ex. chocolate ao leite) (SERAFINI *et al.*, 2003; TODOROVIC *et al.*, 2015a).

Diante do exposto, o estudo da interação de compostos fenólicos das uvas passas e do chocolate pode ser realizada tanto de maneira individual quanto em uma matriz alimentar (DURAK; GAWLIK-DZIKI; SUGIER, 2015; MUHAMMAD *et al.*, 2017) e é de fundamental importância para avaliar a retenção dos mesmos e a qualidade dos produtos finais obtidos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Uvas e ingredientes para elaboração dos produtos derivados

Lotes representativos da uva BRS Clara (safras 2014, 2015 e 2016) foram doados pela Estação Experimental de Viticultura Tropical da EMBRAPA, da cidade de Jales, sendo a safra de 2014 proveniente da cidade de Jales, São Paulo, Brasil, localizado em 20°15'08" S e 50°33'29" O, 500 m acima do nível do mar (referido datum WGS84, World Geodetic System 1984) e, as safras de 2015 e 2016 provenientes da cidade de Marialva, Paraná, Brasil, localizado em 23°28'59.1"S and 51°47'41.3"W, and 602 m acima do nível do mar (referred to WGS84 datum (World Geodetic System 1984)).

Para o transporte, as uvas foram acondicionadas em caixas plásticas e levadas até o Laboratório de Processamento de Frutas e Hortaliças do IBILCE/UNESP. No laboratório, as bagas foram separadas do engaço e aquelas que apresentaram algum tipo de imperfeição como rachaduras ou podridão foram desprezadas. As bagas selecionadas de cada safra foram misturadas manualmente para obtenção de um lote homogêneo, sendo então 5 kg congelados para realização das análises propostas enquanto outros 10 kg de cada foram armazenados sob refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) para a produção de passas e, posterior, análise dos compostos fenólicos.

O azeite extra virgem utilizado como agente tensoativo natural no pré-tratamento das uvas para produção das passas foi adquirido no comercio local, apresentando acidez máxima $\leq 0,50\%$ e índice de peróxidos $\leq 20,00$ meq O_2/kg . Os ingredientes utilizados para elaboração dos drageados de chocolate foram adquiridos em empresas especializadas: goma arábica tipo 4880 (Willy Benecke, doada pela empresa *Vogler Ingredients*); cacau em pó puro (Nestlé®); e, chocolate meio amargo (com pelo menos 35% de massa de cacau) (Melken – Gotas - Harald®).

4.2. Reagentes Químicos

Todos os solventes utilizados possuem grau cromatográfico ($> 99\%$), todos os produtos químicos são de grau analítico ($> 95\%$) e a água utilizada é ultrapura (sistema Milli-Q). Os padrões comerciais utilizados foram: ácidos caféico e *p*-cumárico, ácido *trans*-caftárico, *trans*-piceido, (-)-epigallocatequina,

(-)-galocatequina e procianidina B1 (Phytolab); cianidina-3-glicosídeo, procianidina B2, quercetina, kaempferol, isoramnetina, miricetina, siringetina, os 3-glicosídeos de quercetina, kaempferol, isoramnetina e siringetina, os 3-galactosídeos de quercetina, kaempferol e isoramnetina, (-)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato e (-)-epigallocatequina-3-galato (Extrasynthese); ácido gálico, *trans*-resveratrol, (+)-catequina, (-)-epicatequina e (-)-galocatequina-3-galato (Sigma); procianidina B4, miricetina-3-glicosídeo e quercetina-3-glucuronídeo (provenientes de doação); e laricitrina-3-glicosídeo (isolado a partir da casca da uva *Petit Verdot* (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2009a).

Além disso, os isômeros *trans* de resveratrol e piceído (resveratrol-3-glucosídeo) foram obtidos por meio de sua transformação em seus respectivos isômeros *cis* utilizando irradiação UV (366 nm de luz durante 5 min em ampolas de quartzo) em solução metanólica de 25% dos seus respectivos isômeros *trans*. Além de metil-celulose e sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) obtidos da Sigma.

4.3. Produção das uvas passas

As bagas das uvas *BRS Clara* (safras 2014, 2015 e 2016) foram sanitizadas utilizando solução clorada (0,005% v/v de cloro ativo), lavadas com água potável, secas com papel toalha, pesadas e classificadas por tamanho, sendo metade delas previamente tratadas com azeite extra virgem, adquirido no mercado local (agente tensoativo natural, com acidez máxima ≤ 0,50% e índice de peróxidos ≤ 20,00 meq O₂/kg). A proporção de azeite por quilograma de uva utilizada e os parâmetros de secagem estão de acordo com metodologia descrita por OLIVATI (2016), a saber, 1,43 mL de azeite para cada 1 kg de uva, tendo sido essa pequena quantidade suficiente para envolver completamente as bagas.

O experimento de secagem foi conduzido em um secador de leito fixo com convecção forçada de ar aquecido, equipado com ventilador centrífugo (motor de 1.5 CV), velocidade do ar controlada por um inversor de frequência (WEG, CWF10 - Brasil) conectado ao motor do ventilador (60°C e 1,0 m/s). O ar era aquecido com resistências elétricas e um controlador digital micro-processador (Novus, modelo N440 - Brasil) com um termopar tipo J para controlar a temperatura do ar. O fluxo de ar incidia paralelamente às amostras, dispostas sobre bandejas. Concluiu-se o processo após redução de 75% da massa inicial

das bagas, que foi controlada por meio da pesagem das bandejas contendo as bagas. Para a safra de 2016 foram produzidas somente uvas passadas pré-tratadas com azeite.

Após a desidratação, uvas passas produzidas em uma mesma batelada foram homogeneizadas e armazenadas em uma única embalagem de polietileno, perfazendo assim uma unidade amostral. Após armazenadas, as passas foram deixadas na embalagem fechada por 7 dias, a fim de minimizar as possíveis diferenças de umidade entre uma bandeja e outra, uma vez que dentro do mesmo ambiente fechado produtos com conteúdo de umidade diferentes tendem a entrar em equilíbrio, e ficar, portanto, com um conteúdo final de água similar. As uvas passas produzidas foram armazenadas sob congelamento até o momento das análises, exceto para a safra de 2016, onde metade das uvas passas produzidas foi armazenada sob resfriamento para a produção de drageados de uva passa com chocolate.

4.4. Drageamento das uvas passas com chocolate

Para a produção dos drageados de chocolate meio amargo utilizando as passas como núcleo natural utilizou-se as passas produzidas com as uvas BRS Clara provenientes da safra de 2016 que foram submetidas ao pré-tratamento com azeite. Para a produção dos drageados, primeiramente, as uvas passas necessitavam ser seladas, evitando e/ou retardando a migração de umidade do núcleo para a chocolate, tornar a superfície do centro mais lisa e uniforme, melhorar a aderência da cobertura ao núcleo e, conseqüentemente reduzir o fenômeno de aglomeração durante o drageamento.

Para tanto, primeiramente, foi adicionado manualmente às uvas passas (BRS Clara com azeite – safra 2016) duas porções (15 mL) alternadas de solução de selagem (goma arábica; água; 4:6 m/m), com 50 a 70 g de pó de secagem (cacau em pó puro). As uvas passas foram então dispostas em bandejas rasas e mantidas em repouso por 24 horas, em ambiente seco, para sua secagem.

Após a etapa de selagem, as uvas passas foram recobertas com chocolate meio amargo, previamente fundido a 40-45°C em banho maria. Este procedimento foi realizado em uma drageadeira, onde aproximadamente porções (25 g) de chocolate fundido foram despejadas manualmente sobre as

uvas passas e misturados na drageadeira até que todas estivessem recobertas e o chocolate adicionado seco. O número de porções de chocolate adicionado foi padronizado em função da formação de uma camada de chocolate lisa e uniforme que proporcionasse, sendo as aplicações das camadas de chocolate feitas até que fosse atingido um ganho de massa entre 90% e 100%.

Após o drageamento, os drageados de uvas passas com chocolate, produzidos em uma mesma batelada, foram homogeneizados e armazenados em uma única embalagem de polietileno, perfazendo assim uma unidade amostral. Metade das uvas passas produzidas foram armazenadas sob congelamento (-18 °C) até o momento das análises e, a outra metade foi armazenada sob resfriamento (± 10 °C) até o momento da análise sensorial.

4.5. Caracterização físico-química das uvas *in natura*, uvas passas e drageados produzidos

Para realização da caracterização físico-química das uvas e das passas produzidas foram realizadas as seguintes análises, em triplicata, de acordo com as normas preconizadas pela AOAC, (2005): umidade, por método termogravimétrico; SS, por refratometria com resultados expressos em °Brix a 25 °C (apenas para as uvas *in natura*); pH, medido diretamente em peagâmetro; e, AT, com resultados expressos em g de ácido tartárico por 100 g de amostra. Além disso, foram determinadas o tamanho das uvas *in natura*, passas e drageados (comprimento x largura, cm) e a massa (g).

4.6. Determinação da composição fenólica detalhada das uvas *in natura*, uvas passas e drageados por HPLC-DAD-ESI-EMⁿ

4.6.1. Preparo dos extratos fenólicos

Para a determinação da composição fenólica detalhada das uvas *in natura*, uvas passas e drageados realizou-se primeiramente a extração dos compostos de interesse utilizando as seguintes metodologias:

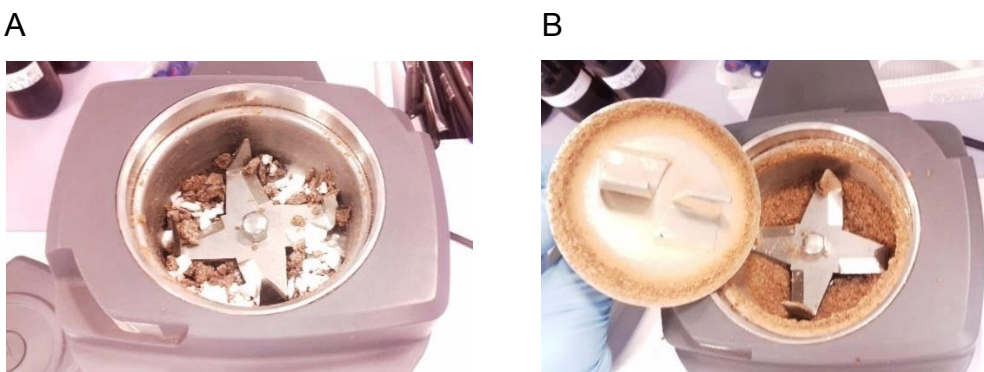
Para as uvas *in natura*, cada 100 g de amostra foram homogeneizadas, com o auxílio de mixer, com 100 mL de solução extratora (metanol e ácido fórmico na proporção de 98,5: 1,5, v/v) para a primeira extração. Após a homogeneização, as soluções contendo as amostras foram mantidas em banho

ultrassônico por 10 min e, centrifugadas (Modelo CR-G111 series, Hitachi) à 9400 G por 5°C durante 10 min para separação dos sobrenadantes. Estes sobrenadantes foram reservados sob refrigeração (± 7 °C), e com os respectivos precipitados realizou-se duas subseqüentes extrações com 50 mL de solução extratora contendo metanol, água e ácido fórmico (50:48,5:1,5, v/v/v), respectivamente, até completa extração dos compostos de interesse. Os sobrenadantes obtidos de todas as extrações referentes a cada amostra foram unidos perfazendo um único extrato fenólico que foi utilizado para determinação das análises propostas (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a, 2011b).

Para as uvas passas, cada 10 g de amostra foram homogeneizadas, com o auxílio de mixer, com 25mL de solução extratora (metanol, água e ácido fórmico na proporção de 50: 48,5: 1,5, (v/v)). Essa alteração na proporção de solução extratora para gramas de produto em comparação com a uva *in natura* leva em conta a redução da umidade durante o processo de secagem. Após a homogeneização, as soluções contendo as amostras foram mantidas em sonda ultrassônico por 3 min e, centrifugadas (Modelo Avanti – J-26 XP, Beckman Coulter) à 9400 g por 5°C durante 10 min para separação dos sobrenadantes. Estes sobrenadantes foram reservados sob refrigeração (± 7 °C), e com os respectivos precipitados realizou-se três subseqüentes extrações com 25 mL da mesma solução extratora, até completa extração dos compostos de interesse. Os sobrenadantes obtidos de todas as extrações referentes a cada amostra foram unidos perfazendo um único extrato fenólico que foi utilizado para determinação das análises propostas (OLIVATI *et al.*, 2019).

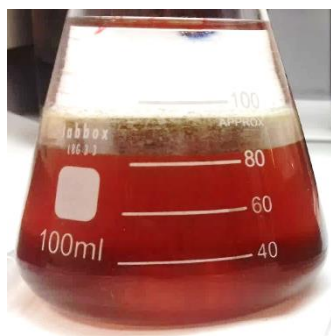
Para os drageados de chocolate com uvas passas, primeiramente realizou-se a trituração das amostras de drageados em um moinho (Modelo A10 basic, IKA®) com adição de CO₂ sólido, até que fosse obtido um pó, como mostrado na **Figura 15**. Os extratos fenólicos foram então produzidos a partir de porções de 10 g de drageados seguindo os mesmos procedimentos descritos para as uvas passas. Após a obtenção dos extratos fenólicos dos drageados, eles foram desengordurados por meio de uma extração líquido-líquido (**Figura 16**) com hexano na proporção de 10 mL de hexano para cada 25 mL de extrato engordurado.

Figura 15 - Preparo e homogeneização das amostras de drageados: amostras de drageados sem triturar com CO₂ sólido (A) e amostras de drageados trituradas e homogeneizadas (B).



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Figura 16 - Separação bifásica para desengorduramento do extrato fenólico dos drageados.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

A mistura extrato-hexano foi submetida a banho de ultrassom (25°C por 5 min), e as fases separadas por centrifugação 4°C, 5640 *g* por 3 min). Esse procedimento foi realizado outras três vezes com a parte inferior da solução bifásica, a fim de garantir o desengorduramento total do extrato. Cada extrato obtido das amostras (uvas *in natura*, uvas passas e drageados) produzido foi rotoevaporado (Modelo Hei-Vap Advantage, Heidolph) a 37°C para a eliminação do metanol e padronização do volume até 50 mL, acondicionado em frascos de vidro âmbar. As análises dos compostos fenólicos foram realizadas utilizando HPLC-DAD-ESI-MS/MS, de acordo com metodologia descrita por Rebello *et al.* (2013), no Laboratório de Investigación em Enología da Universidade de Castilla La-Mancha - UCLM (Ciudad Real, Espanha).

4.6.2. Identificação e quantificação dos flavonóis e derivados do ácido hidroxicinâmico

Para a identificação e quantificação destes compostos presentes nas amostras foi utilizado sistema cromatográfico composto por cromatógrafo Agilent 1100 Series (Agilent) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) (Modelo G1315B, Agilent), acoplado a um espectrômetro de massas com analisador de massas de armadilha de íons LC/MSD Trap VL (G2445C VL) e sistema de ionização por eletronebulização (ESI-MSⁿ). Utilizou-se coluna cromatográfica de fase reversa Zorbax Eclipse XDB-C18 (2,1 × 150 mm; tamanho de partícula de 3,5 µm, Agilent, Alemanha) termostatizada a 40 °C, com uma taxa de fluxo de 0,19 mL por min.

Para a determinação do perfil qualitativo e quantitativo de flavonóis e derivados do ácido hidroxicinâmico, alíquotas dos extratos liofilizados obtidos das amostras foram ressuspensas em solução aquosa contendo 20% de metanol e, diretamente, injetados (20 µL), após acondicionamento em vial cromatográfico. Os solventes (Sol.) utilizados na fase móvel para análise destes compostos foram: Sol. A, acetonitrila/água/ácido fórmico, 3:88,5:8,5, v/v/v; e, Sol. B, acetonitrila/água/ácido fórmico, 50:41,5:8,5, v/v/v; e, Sol. C, metanol/água/ácido fórmico, 90:1,5:8,5, v/v/v. O gradiente linear dos solventes é: zero min, 98% A e 2% B; 8 min, 96% A e 4% B; 37 min, 70% A, 17% B e 13% C; 51 min, 50% A, 30% B e 20% C; 51,5 min, 30% A, 40% B e 30% C; 56 min, 50% B e 50% C; 57 min, 50% B e 50% C; e, 64 min, 98% de A e 2% de B.

Para a identificação dos compostos foi utilizado um analisador de massas de armadilha de íons (*ion trap*) ESI-MS/MS, no modo negativo, de acordo com os seguintes parâmetros descritos por Rebello *et al.* (2013): gás de secagem, N₂, 8 L/min; temperatura de secagem, 325°C; nebulizador, N₂, 50 psi; parâmetros de ionização e fragmentação foram otimizados através da infusão direta de soluções padrão apropriadas (quercetina-3-glicosídeo, ácido caftárico e resveratrol-3-glicosídeo no modo de ionização negativo, respectivamente, para flavonóis, derivados hidroxicinâmicos e estilbenos). A identificação foi baseada, principalmente, nos dados de espectroscópicos (UV-vis e MS/MS) obtidos de padrões originais ou descobertas anteriores (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2009b; LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a, 2011b; REBELLO *et al.*, 2013a). Para quantificação, os cromatogramas-DAD foram extraídos a 360 nm (flavonóis) e a

320 nm (derivados do ácido hidroxicinâmico e formas do resveratrol). As análises foram realizadas em triplicata.

O cálculo dos perfis molares referentes a cada composto identificado e a determinação da concentração total das principais classes de compostos (em mg do padrão equivalente por kg de uva) foram realizados da seguinte forma:

- Derivados dos ácidos hidroxicinâmicos: os perfis molares foram baseados nas áreas cromatográficas, já que é utilizado um único padrão (mais representativo de cada família de compostos fenólicos) para as determinações das concentrações totais de derivados do ácido hidroxicinâmico (incluído o GRP), baseadas nas curvas de calibração construídas com o padrão ácido *trans*-caftárico;
- Flavonóis: como há padrões para quase todos os compostos identificados, os perfis molares foram baseados nas concentrações molares dos compostos disponíveis (quercetina, kaempferol, isoramnetina, miricetina, siringetina, laricitrina, os 3-glicosídeos de miricetina, quercetina, kaempferol e isoramnetina, o 3-galactosídeo de quercetina, 3-glucuronídeos de quercetina, kaempferol, laricitrina e isoramnetina, 3-rutinosídeos de quercetina e de kaempferol). Quando o padrão não está disponível, o perfil molar foi baseado na concentração molar do composto mais similar. A concentração total de flavonóis foi baseada na curva de calibração construída com quercetina-3-glicosídeo;

4.6.3. Flavan-3-óis monômeros e dímeros, proantocianidinas (taninos condensados) e estilbenos

A identificação e quantificação destes compostos presentes nas amostras foi realizada utilizando sistema cromatográfico composto por cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent 1200 Series (Agilent) acoplado a um analisador de massas do tipo híbrido quadrupolo-armadilha linear de íons (AB Sciex 3200 QTRAP, Applied Biosystems) por sistema de ionização por eletronebulização (ESI-MSⁿ) e sistema de espectroscopia de massas em Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM). Utilizou-se coluna cromatográfica de fase reversa Ascentis C18 (150 × 4,6 mm; tamanho de partícula 2,7 µm; Sulpeco, termostatizada à 16 °C (PÉREZ-NAVARRO *et al.*, 2019).

Para a análise dos flavan-3-óis monômeros, procianidinas dímeras do tipo B e proantocianidinas poliméricas e estilbenos, primeiramente, alíquotas de 2 mL

de cada extrato (*in natura*, uvas passas e drageados) foram homogeneizados com 12 mL de água para possibilitar a realização de extração em fase sólida com cartucho SPE-C18 (Waters® Sep-Pak Plus, 820 mg de adsorvente), que foi previamente condicionado com 5 mL de metanol e 5 mL de água.

Após a eluição de cada amostra, em triplicata, pelo cartucho, este foi seco sob pressão reduzida e, 15 mL de metanol seguido de 5 mL de acetato de etila foram eluídos para recuperar os compostos fenólicos de interesse adsorvidos. O eluato foi recolhido, o solvente evaporado com o auxílio de rotoevaporador (35°C) (Modelo Hei-Vap Advantage, Heidolph Research Made Easy) e, o resíduo dissolvido em metanol (2 mL).

Cada 0,30 mL dos extratos em metanol, foi diluído com 1,50 mL de solução contendo água e ácido fórmico (98,5:1,5, v/v) diretamente em vial cromatográfico e injetado (30 µL) na coluna cromatográfica, tendo sido possível a identificação de flavan-3-óis monômeros (C, EC, GC, EGC, CG, ECG, GCG, EGCG), alguns dímeros como as proantocianidinas tipo B (PB1, PB2 e PB4) e estilbenos (*cis*- e *trans*- piceído).

A informação estrutural das proantocianidinas foi obtida pelo método de despolimerização por catálise ácida induzida por pirogalol (BORDIGA *et al.*, 2009). Para tanto, 0,30 mL da solução de pirogalol (composta por 100 g/L de pirogalol e 20 g/L de ácido ascórbico em solução metanólica contendo HCL 0,3 N) foi adicionado de 0,30 mL de cada extrato, previamente submetido a extração em fase sólida e, então a mistura foi mantida a 30°C por 40 min. Após finalizada a reação foram adicionados a cada mistura 1,20 mL de acetato de sódio 67 mM, sendo então as amostras preparadas para etapa de injeção no cromatógrafo.

As amostras (antes e depois da reação de despolimerização por catalise-ácida) foram injetadas (30 µL) no cromatógrafo utilizando a seguinte fase móvel: Sol. A, água/metanol/ácido fórmico, 97:2:1, v/v/v; Sol. B, metanol. O gradiente linear do solvente B foi: zero min, 5%; 2 min, 5%; 25 min, 30%; 40 min, 55%; 50 min, 65%; 55 min, 95%; 65 min, 95%; 70 min, 5%; e, 80 min, 5%.

Para a identificação dos compostos citados foi utilizado sistema de varredura EIS-MS/MS operado no modo de ionização negativo, sendo utilizado uma combinação de experimentos de -EMS (referentes aos íons moleculares, condições MS) e de -EPI (referentes aos íons produtos, condições MS/MS). Para a quantificação destes compostos foi utilizado um analisador de varredura por

monitoramento de reações múltiplas (MRM), onde junto com os padrões disponíveis, foi possível identificar os flavan-3-óis monômeros (C, EC, GC, EGC, CG, ECG, GCG, EGCG) e alguns dímeros (proantocianidinas tipo B, como PB1, PB2 e PB4), tal como descrito por Rebello *et al.* (2013). As condições do analisador de massas para ambos os tipos de varredura empregados foram similares as relatadas por Rebello *et al.* (2013).

Para a identificação e quantificação dos diversos flavan-3-óis, foram utilizados os seguintes padrões: de monômeros, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina, (-)-galocatequina, (-)-catequina-3-galato, e (-)-epicatequina-3-galato e, de dímeros, procianidinas B1, B2 e B4. A (+)-catequina foi utilizada como padrão externo. Obtém-se, primeiramente, os fatores de resposta de cada um dos compostos anteriores com relação ao padrão de catequina, por injeção conjunta; depois, em cada série de análises, o padrão externo de catequina foi injetado no início e final de cada série para realizar a correção de desvios que se produzem dependendo do nível de resposta do detector de massas. A concentração total de proantocianidinas poliméricas foi expressa como equivalentes de (+)-catequina e também foi investigada as características estruturais dos principais tipos de flavan-3-óis presentes nas amostras, obtidos após a realização dos seguintes cálculos:

Grau médio de polimerização (mDP), por meio da equação 1:

$$mDP = \frac{\text{Unidades terminais (mM)} + \text{unidades de extensão (mM)}}{\text{unidades terminais (mM)}} \quad (\text{Equação 1})$$

Porcentagem de galoilação, por meio da equação 2:

% galoilação

$$= 100 \times \frac{\Sigma \text{ galatos em unidades terminais e de extensão}}{\text{unidades terminais (mM)} + \text{unidades de extensão (mM)}} \quad (\text{Equação 2})$$

sendo que para esta porcentagem contribuem todas as unidades integrantes das proantocianidinas (como unidades de extensão e terminais) que contém uma ligação éster 3-galato, que englobam os compostos (-)-catequina-3-galato (CG) e (-)-epicatequina-3-galato (ECG).

Somatório das unidades de extensão, por meio da equação 3:

$$\text{Unidades de extensão} = \Sigma \text{ monoméricas pirogaloiladas (Equação 3)}$$

Somatório das unidades terminais, por meio da equação 4:

$$\begin{aligned} \text{Unidades terminais} \\ &= \Sigma \text{ monômeros após a reação} \\ &- \Sigma \text{ monômeros iniciais (Equação 4)} \end{aligned}$$

Porcentagens de unidades terminais e de extensão apresentadas por tipo de flavan-3-óis, por meio das equações 5 e 6:

$$\% \text{ unidade terminal N} = 100 \times \frac{\text{unidade terminal (N)}(mM)}{\Sigma \text{ unidades terminais } (mM)} \quad (\text{Equação 5})$$

$$\begin{aligned} \% \text{ unidade extensão P} \\ &= 100 \times \frac{\text{unidade de extensão (P)}(mM)}{\Sigma \text{ unidades de extensão } (mM)} \quad (\text{Equação 6}) \end{aligned}$$

podendo as unidades de extensão e/ou terminais serem expressas em função dos seguintes flavan-3-óis: ((+)-catequina) (C), (-)-catequina-3-galato (CG), (-)-catequina-3-galato (EC), (-)-galocatequina (GC), (-)-epicatequina-3-galato (ECG) e (-)-epigalocatequina (EGC). Sendo N, as derivações de C, EC, GC, EGC, CG ou ECG para as unidades terminais; e P, as derivações de C, EC, GC, EGC e CG para as de extensão.

Porcentagem de prodelfinidinas, por meio da equação 7:

$$\begin{aligned} \% \text{ prodelfinidinas} \\ &= 100 \times \frac{\Sigma (\text{GC} + \text{EGC} + \text{EGCG}) \text{ terminais e de extensão}}{\text{unidades terminais } (mM) + \text{unidades de extensão } (mM)} \quad (\text{Equação 7}) \end{aligned}$$

sendo que para esta porcentagem contribuem todas as unidades integrantes das proantocianidinas (como unidades de extensão e terminais) que contém um anel B do tipo trissubstituído, pelo qual denomina-se prodelfinidina, dada em função de que ao despolimerizar-se a proantocianidina, em meio ácido, se origina a

delfinidina. Para estas características foram englobados os seguintes compostos: galocatequina (GC) e (-)-epigallocatequina (EGC).

4.6.4 Quantificação de proantocianidinas por precipitação com metil-celulose

A concentração total de proantocianidinas foi determinada pelo método de precipitação com metil celulose (SARNECKIS *et al.*, 2006). A metil celulose, que é um polímero, ao contrário das proteínas usadas em outros métodos baseados na precipitação de taninos, não absorvem a 280 nm e, portanto, não interfere na medida. Os compostos fenólicos presentes nas amostras foram medidos a 280 nm antes e depois da precipitação das proantocianidinas ao unir-se com a metil-celulose adicionada. A diferença de absorvância se correlaciona com a concentração de proantocianidinas, expressa em equivalentes de (-)-epicatequina, que se emprega como padrão de quantificação externo.

4.6.5 Cálculos das concentrações e retenções de compostos fenólicos

As concentrações obtidas da análise cromatográfica são em mg/L dos extratos referentes a cada amostra injetada no cromatógrafo. Os respectivos extratos são resultado de várias etapas que se iniciaram nas uvas *in natura* e uvas passas ou drageados. Deste modo, para comparar os resultados obtidos, foi necessária realizar uma correção para obter os resultados quantitativos expressos em base seca, como descrito a seguir:

Para extratos liofilizados:

$$\text{Concentração} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg de produto}} \text{ FW} \right) = \text{Conc. em vial} \times \left(\frac{1}{\text{FC}} \right) \times \left(\frac{V}{\text{ESE}} \right) \times \left(\frac{\text{ESO}}{\text{PP}} \right)$$

Onde,

FW – concentração em base úmida;

Conc. em vial – Concentração em mg/L obtida para a amostra;

FC – fator de concentração (se necessário);

V – volume do extrato ressuspendido (L);

ESE – massa (Kg) do extrato liofilizado utilizado para ressuspensão;

ESO – massa total (Kg) do extrato liofilizado obtido;

PP – massa de produto (Kg) utilizada para produzir o extrato (uva in natura, passas ou drageado).

Para extratos sem liofilizar:

$$\text{Concentração} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg de produto}} \text{ FW} \right) = \text{Conc. em vial} \times \left(\frac{1}{\text{FC}} \right) \times \left(\frac{V}{\text{PP}} \right)$$

Onde,

FW – concentração em base úmida;

Conc. em vial – Concentração em mg/L obtida para a amostra;

FC – fator de concentração (se necessário);

V – volume do extrato (L) ;

PP – massa do produto (kg) utilizada para produzir o extrato (uva in natura, passas ou drageado).

Para possibilitar a comparação entre os valores obtidos entre as uvas *in natura* com as uvas passas, e entre as uvas passas e os drageados, foi realizada a transformação da concentração em mg/kg de produto de base úmida (FW) para base seca (DW), conforme os cálculos descritos abaixo.

$$\text{Concentração} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \text{ DW} \right) = \text{Concentração} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \text{ FW} \right) \times \left(\frac{1}{\% \text{ SA}} \right)$$

Onde,

DW – concentração em base seca;

FW – concentração em base úmida;

%SA - % sólidos amostra = 1 – % umidade da amostra.

A retenção de compostos fenólicos das uvas passas foi calculada pela seguinte equação (MURPHY; CRINER; GRAY, 1975):

$$\% \text{Retenção} = \frac{(\text{Concentração composto fenólico na uva passa}) \times \text{PUP}}{(\text{Concentração composto fenólico na uva in natura}) \times \text{PUV}}$$

Onde,

Concentração composto fenólico na uva passa em (mg/Kg de uva passa FW);

Concentração composto fenólico na uva in natura em (mg/Kg de uva FW);

PUP – massa de uva passa total produzida em kg;

PUF – massa total de uva fresca utilizada para produzir as uvas passas em kg.

4.7. Análise sensorial dos drageados de chocolate com uva passa

Para realização da análise sensorial dos drageados produzidos, o projeto (CAAE nº 72414717.1.0000.5466) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, de acordo com Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012 (BRASIL, 2012) e Resolução 510/2016 (BRASIL, 2016).

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial, do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto. Os avaliadores foram recrutados dentre os alunos de graduação, pós-graduação e funcionários do referido Instituto. Todos os avaliadores preencheram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**APÊNDICE A**) em duas vias, sendo que uma via ficou sob a responsabilidade do pesquisador.

4.7.1. Levantamento de termos para construção da ficha sensorial

Cinco avaliadores, com vasta experiência em análise descritiva, avaliaram a adequação dos descritores apresentados (uma lista prévia com termos levantados de acordo a literatura para estudos similares com produtos de fruta desidratados e/ou produtos que continham chocolate, **APÊNDICE B**) para descrever o drageado a ser avaliado pelos consumidores pelo método de RATA. Posteriormente, foi contada a frequência dos descritores e os de maior frequência e de consenso com a equipe foram incluídos na ficha de avaliação final. A ficha de cada avaliador foi identificada por número a fim de manter o sigilo do mesmo.

4.7.2. Avaliação sensorial final

As análises sensoriais foram realizadas em cabines individuais, luz branca e temperatura de 22 °C. Em uma mesma sessão sensorial, o avaliador

primeiramente realizou a aceitação global do drageado e posteriormente a análise descritiva RATA do produto.

Antes da aplicação do teste de aceitação e da análise descritiva do produto, foi entregue um questionário de caracterização a cada avaliador (**APÊNDICE C**), com questões sobre idade, sexo, grau de escolaridade, grau de gostar/desgostar e frequência de consumo em relação uva passa e chocolate amargo.

Os critérios de exclusão foram aplicados aos avaliadores que alegaram serem portadores de alguma patologia relacionada à ingestão de certos tipos alimentos, tais como como diabetes, hipertensão, intolerância e/ou alergia à lactose ou algum dos ingredientes dos produtos (uva, chocolate, cacau e/ou goma acácia), e avaliadores que declararam desgostar (nota ≤ 5) de uva passa e chocolate meio amargo, e que tinham frequência de consumo de uva passa ou chocolate meio amargo inferior a mensal (nota < 1). No total foram recrutados 49 avaliadores (consumidores) para o teste de aceitação global do produto e análise descritiva pelo método RATA do produto.

Para realização do teste de aceitação foi entregue aos consumidores uma amostra de drageado, codificada por número de três dígitos. A avaliação da aceitação do drageado de uva passa com chocolate foi realizada por meio de escala hedônica estruturada de nove pontos (**APÊNDICE D**). Já para a realização da análise descritiva (RATA) foi entregue aos consumidores duas amostras de drageado, codificada por número de três dígitos, juntamente a um copo de água em temperatura ambiente para que os consumidores pudessem lavar a boca entre as amostras com a finalidade de eliminar resíduos, juntamente com a ficha de avaliação. Os consumidores foram instruídos a classificar a intensidade de cada um dos descritores sensoriais presentes na ficha sensorial (**APÊNDICE E**) de acordo com a escala estruturada de intensidade apresentada (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável). As amostras foram avaliadas e descritas quanto aos atributos de aparência, odor, gosto, sabor e textura, além dos termos hedônicos. Os termos apresentados nas fichas de avaliação encontravam-se aleatorizados dentro de cada atributo avaliado.

4.8. Análise Estatística

Os resultados das análises físico-químicas das uvas *in natura* e das uvas passas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de média pelo teste de Student-Newman-Keulsa, com nível de significante de 5% ($\alpha = 0,05$)

Os resultados das análises físico-químicas dos drageados, foram submetidos ao teste t para amostras independentes com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) para comparação das médias.

Todos os resultados das análises cromatográficas (flavonóis, DAHC, estilbenos, flavan-3-óis e proantocianidinas) para todas as amostras (uvas *in natura*, passas e drageados) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de média pelo teste de Student-Newman-Keulsa, com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$)

Uma análise de componentes principais (PCA) foi empregada, com os resultados cromatográficos dos drageados, visando identificar compostos, com base no perfil qualitativo e quantitativo dos compostos fenólicos, que diferenciem as amostras estudadas entre si. Para a construção dos gráficos foram escolhidos os CPs que permitiram uma melhor separação entre as amostras. No texto serão consideradas as variáveis (compostos fenólicos de cada classe química, bem como as concentrações totais referentes a cada classe) mais correlacionadas com cada componente principal (CP) (“loadings” em “Rotated Component Matrix” $> 0,80$). Portanto, após o nome do composto fenólico foi descrito em parênteses sua sigla seguida pelo valor de “loadings”.

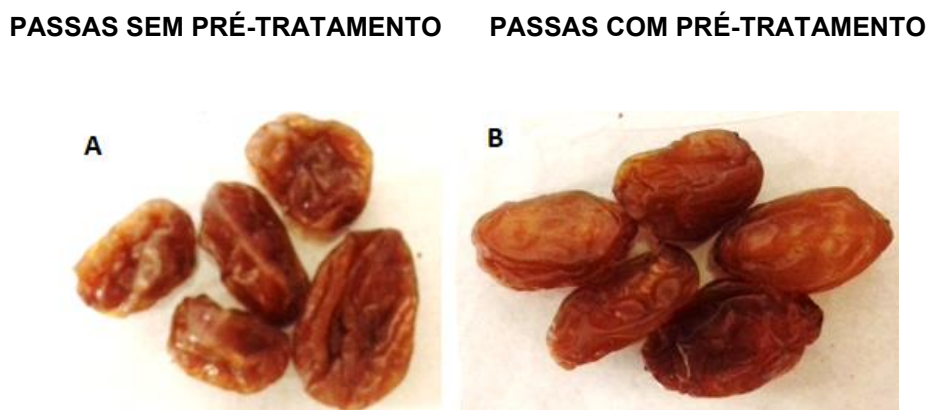
A análise de correlação linear de Pearson foi realizada entre os resultados das análises sensoriais, considerando-se nível de significância de $p \leq 0,05$ e correlação $r \geq 0,289$. Todas as análises foram realizadas empregando o *software* IBM SPSS Statistics 20 (SPSS Inc., IBM)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Uva passa de BRS Clara com e sem pré-tratamento com azeite

As uvas da cultivar BRS Clara, das três safras estudadas, foram previamente caracterizadas física e quimicamente e classificadas por tamanho a fim de permitir uma secagem mais uniforme e um melhor controle do processo. As passas obtidas a partir destas uvas, sem e com pré-tratamento com AOEV, também foram caracterizadas física e quimicamente (**Tabela 1**). Na **Figura 17** está apresentada fotos ilustrativas de uma das safras no qual foram produzidas as passas com e sem pré-tratamento com AOEV.

Figura 17 - Uvas passas de BRS Clara sem (A) e com (B) pré-tratamento com AOEV.



Fonte: elaborada pela autora, 2017.

A avaliação dos parâmetros físicos e químicos das uvas, bem como das passas produzidas são de grande importância pois envolvem atributos intrínsecos altamente associados às expectativas de qualidade dos consumidores e à escolha de comprar um produto. Dentre os parâmetros de qualidade, exigidos para as uvas que se destinem a produção de passas, pode-se destacar tamanho, cor uniforme, textura carnosa e macia, alto teor de SS e sabor agradável (COSTA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015b).

Tabela 1 - Características físicas e químicas para as uvas *in natura* e passas de BRS Clara (média⁴ ± desvio padrão, n=3).

Determinações físicas e químicas	BRS Clara - <i>in natura</i>			Uva passa - BRS Clara					
				Sem azeite			Com azeite		
	2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016
Comprimento¹	(2,33ab ± 0,08)	(2,37ab ± 0,15)	(2,52a ± 0,06)	(1,70c ± 0,35)	(1,90bc ± 0,28)	(2,17abc ± 0,10)	(1,82c ± 0,08)	(1,97bc ± 0,28)	(2,13abc ± 0,14)
Largura²	(1,50a ± 0,23)	(1,67a ± 0,19)	(1,46a ± 0,20)	(1,07b ± 0,21)	(1,06b ± 0,08)	(1,07b ± 0,08)	(1,08b ± 0,03)	(0,98b ± 0,08)	(1,18b ± 0,13)
Massa (g)¹	3,75b ± 0,69	4,58a ± 0,63	3,04c ± 0,24	0,85d ± 0,28	0,91d ± 0,13	1,10d ± 0,08	0,86d ± 0,09	1,07d ± 0,05	1,13d ± 0,18
SS (°Brix)	22,97a ± 0,06	17,90c ± 0,36	19,03b ± 0,06	-	-	-	-	-	-
pH	3,68c ± 0,11	3,88ab ± 0,02	3,10e ± 0,04	3,76c ± 0,11	3,89ab ± 0,08	3,38d ± 0,05	3,77bc ± 0,01	3,92a ± 0,02	3,40d ± 0,04
Acidez Total³	0,64d ± 0,01	0,59d ± 0,06	0,32e ± 0,02	2,06b ± 0,07	2,27a ± 0,09	2,20ab ± 0,05	1,89c ± 0,07	2,14ab ± 0,12	2,12b ± 0,03
Umidade %	74,79b ± 0,07	80,08a ± 0,54	74,39b ± 0,07	12,15f ± 0,39	18,02c ± 0,60	12,15f ± 0,39	13,23e ± 0,38	16,42d ± 0,54	13,23e ± 0,38

Abreviações: C, comprimento; L, largura; cm, centímetros; g, gramas; SS, sólidos solúveis. ² Medida do maior eixo da uva. ³ Medida do menor eixo da uva. ³ Acidez Total (AT) em g ácido tartárico/100g de produto. ⁴ a, b, c, d, e, f: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que as amostras de uva *in natura* e passas sem e com azeite diferem estatisticamente (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

O tamanho e a massa das uvas podem influenciar diretamente no tempo de secagem, sendo que bagas grandes tornam o processo de elaboração mais oneroso e influenciam também na aparência (KHIARI; ZEMNI; MIHOUBI, 2019). No presente estudo, as bagas das uvas *in natura* apresentaram comprimento entre 2,3 e 2,5 cm, largura entre 1,5 e 1,7 cm e massa entre 3,0 e 4,6 g, sendo que as da safra de 2016 foram a de menor valor e as da safra de 2015 a de maior valor.

Os SS são uma das mais relevantes do ponto de vista das indústrias processadoras, pois mede, indiretamente, o teor de açúcares da fruta (SANTOS *et al.*, 2011). Os resultados de SS encontrados, para as safras de 2015 e 2016, das uvas *in natura* de BRS Clara encontram-se dentro do ideal recomendado para a colheita de acordo com Camargo *et al.* (2003), que é entre 18 e 19°Brix, enquanto a safra 2014 alcançou valores superiores a faixa descrita, o que caracteriza-se como um ponto positivo quando deseja-se produzir passas.

Quanto a AT para as uvas *in natura*, os valores apresentados neste estudo para as safras de BRS Clara (0,3 à 0,6 g de ácido tartárico por 100g) são relativamente próximos aos encontrados na literatura, tal como para BRS Clara e BRS Morena, 0,5 e 0,6, respectivamente (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a), BRS Clara, BRS Linda, BRS Morena, Seleção 08, Crimson, na faixa de 0,4 à 0,7 (MASCARENHAS *et al.*, 2012), e BRS Morena (0,66) (OLIVATI *et al.*, 2019). A exceção é referente a safra de BRS Clara – 2016, o qual apresentou valores de AT abaixo dos valores descritos na literatura.

Por fim, os valores de umidade para as uvas *in natura* de BRS Clara (74,39 a 80,08%) encontraram-se dentro da faixa de umidade (77 à 87%) relatada por Mascarenhas *et al.* (2012) para cultivares híbridas BRS Clara, BRS Linda, BRS Morena, Seleção 08 e Crimson.

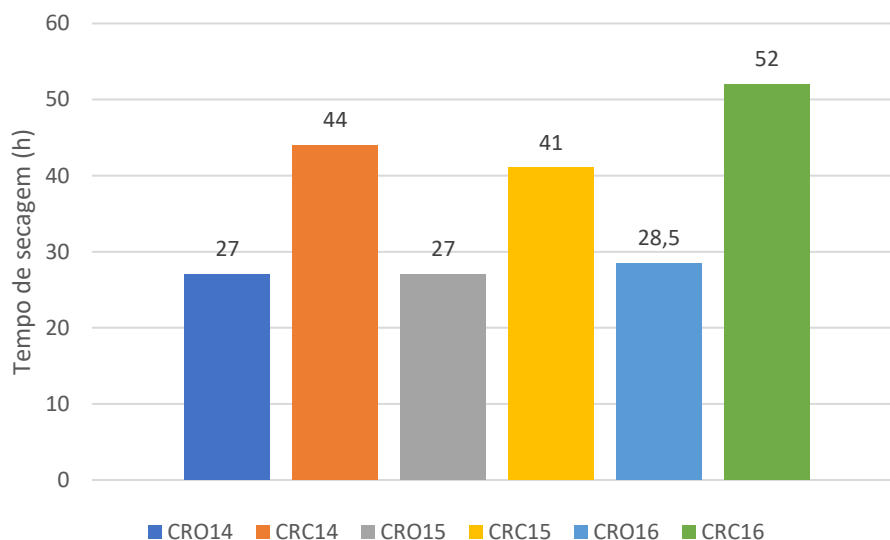
Para a produção das passas, o conhecimento das características intrínsecas da uva (tamanho e massa, umidade e teor de SS) são de extrema importância: a umidade e o tamanho das bagas, porque quanto maior for sua umidade e tamanho, mais tempo levará para atingir a perda de água desejada durante o processo de desidratação; teor de SS, porque as diferentes substâncias presentes na baga e dosadas como SS apresentam relações diversas com a água que, por sua vez, irão influenciar na transferência de água.

Além disso, no presente estudo deve-se ressaltar outra característica intrínseca das uvas que é a cutícula que envolve a baga. Segundo Fasoli *et al.* (2016), a espessura e a composição da cutícula podem ser afetadas por fatores ambientais, como umidade relativa, umidade do solo, radiação UV, temperatura, entre outros. Triveli *et al.* (2019) ressaltaram que a composição da cera contida na cutícula afeta mais a taxa de transpiração da água da fruta do que a sua espessura e, por conseguinte, na sua desidratação. A presença de alcanos e aldeídos de cadeia longa encontrados na cera epicuticular, aumentam a impermeabilidade da água nas cutículas de frutas, enquanto triterpenóides, compostos majoritários presentes têm efeitos opostos.

Sabendo que a solubilidade de compostos orgânicos em solventes polares ou apolares, está relacionada com a polaridade do soluto e do solvente em questão (MARTINS; LOPES; DE ANDRADE, 2013), o processo de solubilização da cera epicuticular da uva pelo azeite pode estar diretamente relacionado com a solubilidade das substâncias orgânicas que os compõe. Deste modo, reforçando o fato de que a camada de cera epicuticular da uva é majoritariamente composta por ácido oleanólico (SANTOS *et al.*, 2011), composto lipossolúvel, é possível inferir que o azeite de oliva pode, em algum grau, modificar a estrutura/organização da camada de cera, aumentando assim sua permeabilidade ao vapor d'água e consequentemente a taxa de secagem das uvas estudadas.

No presente estudo não foram testadas quantidades diferentes de azeite de oliva extra virgem como pré-tratamento da uva BRS Clara, porém, a quantidade empregada no processo foi baseada em trabalho anterior no qual os resultados desse pré-tratamento para a produção das passas mostraram resultados promissores (OLIVATI *et al.*, 2019). Para as uvas passas produzidas a partir das três safras, os grupos controle (sem pré-tratamento) apresentaram tempo total de secagem superior quando comparado as passas produzidas com uvas pré-tratadas com AOEV (**Figura 18**).

Figura 18 – Tempo total de secagem para uvas com (CRO) e sem pré-tratamento (CRC) com AOEV para as safras de 2014 (CRO14 e CRC14), 2015 (CRO15 e CRC15) e 2016 (CRO16 e CRC16).



Fonte: elaborada pela autora (2020).

Os maiores tempos de desidratação apresentados na safra de 2016 quando comparado aos tempos gastos nas safras de 2014 e 2015 estão relacionadas as variações climáticas no dia da desidratação para cada safra. O lote proveniente da primeira safra (2014 – Jales, São Paulo) foi desidratado no mês de agosto, com a umidade relativa do ar e temperatura média de $62\% \pm 6\%$ e 28°C enquanto que os lotes de 2015 e 2016, provenientes de Marialva, Paraná, foram desidratados nos meses de abril e dezembro, respectivamente, com as umidades relativas do ar e temperaturas médias de $86\% \pm 5\%$ e 25°C , para a safra de 2015 e $80\% \pm 2\%$ e 29°C para a safra de 2016 (WORLD WEATHER ONLINE, 2020).

Independentemente das variações citadas durante o processo, o ponto comum entre as secagens foi o critério de finalização do processo de desidratação, no qual adotou-se um critério fixo de 75% de perda da massa inicial das bagas de uvas submetidas ao processo de desidratação. A partir de então, houve a comparação dos tempos de secagem entre as uvas sem e com pré-tratamento com azeite extra virgem. Devido a este controle cuidadoso, os

rendimentos das passas produzidas, englobando as três safras e as uvas pré-tratadas ou não, foram na faixa entre 22% e 25%.

Como base de comparação dos resultados obtidos com os da literatura pode-se citar o estudo realizado por Martineli *et al.* (2018). Os autores relataram que após produzir passas a partir das uvas Benitaka, BRS Vitória e Niágara utilizando secagem convectiva com ar aquecido a 70 °C, foram gastos 32 horas para as primeiras duas uvas e 24 horas para a BRS Vitória. No entanto, para melhorar o processo de desidratação da uva Niágara os autores optaram por realizar um pré-tratamento das uvas com solução de hidróxido de sódio 0,5% por 10 segundos para aceleração do processo. As uvas Vitória e Benitaka apresentaram após a desidratação um rendimento de processo muito próximo, de aproximadamente 22% e 21%, valores estes próximos aos obtidos no presente estudo, enquanto a uva Niágara resultou em rendimento de 38%. Já Guiné *et al.* (2015), após produzir passas a partir da cultivar apirênica Crimson por secagem ao sol e secagem convectiva a 50 °C e 60 °C relataram tempos de secagem de 721, 101 e 47 horas, bem como rendimentos de 27%, 21% e 21%, respectivamente.

TELIS *et al.* (2006), na desidratação de uvas da cultivar Rubi, mostraram que o melhor pré-tratamento consistiu na imersão das uvas por 2 min, em uma emulsão de 5% de azeite de oliva e 6% de carbonato de potássio a 50°C resultando em tempos de secagem próximos aos do pré-tratamento com imersão em solução de 2,5% de azeite de oliva. Em comparação com as uvas sem tratamento houve uma redução de tempo de 53,6%. Os autores apontaram também que a presença e a porcentagem de azeite utilizada foi de fundamental importância no aumento da taxa de desidratação, obtendo assim uvas passas com um menor conteúdo de umidade em um mesmo tempo de secagem.

Com o emprego do pré-tratamento das uvas com o AOEV foi possível alcançar reduções nos tempos de desidratação de 39%, 34% e 45% para as safras de 2014, 2015 e 2016. Levando em consideração que foram utilizados 3 lotes de safras de anos distintos e que a média e o desvio padrão obtidos para a redução do tempo com a aplicação do pré-tratamento com o azeite foi de $39 \pm 5\%$, pode-se concluir que o pré-tratamento empregado demonstrou ser efetivo na aceleração do processo de desidratação da uva com boa repetibilidade do

processo. Esses resultados corroboram com os obtidos em estudo anterior (OLIVATI *et al.*, 2019) onde a secagem da cultivar BRS Morena para a produção de uvas passas obteve uma redução no tempo total de secagem, nas mesmas condições utilizadas nesse experimento, de 45%.

Algumas características físicas e químicas das uvas passas produzidas foram determinadas (**Tabela 1**). As passas obtidas a partir das três safras apresentaram comprimento entre 1,7 e 2,2 cm, largura entre 1,0 e 1,2 cm e massa entre 0,8 e 1,1 g. Resultados próximos de comprimento e massa foram relatados por Ghrairi *et al.* (2013), após determinar as características físico-químicas de uvas passas elaboradas com cultivares viníferas (Tunisia, Meski, Chriha, Assli e Karkni) sem nenhum pré-tratamento ou aditivo, na Tunísia, norte da África, no qual relataram que as passas produzidas apresentaram massa (por unidade) entre 0,4 e 1,5 g, comprimento entre 1,2 e 1,8 cm e diâmetro aproximado de 0,1 cm.

Ao comparar os resultados obtidos no presente estudo de tamanho (comprimento x largura) e massa das uvas e uvas passas, é possível observar que houve um encolhimento das uvas promovido pela evaporação da água durante o processo de secagem, o que refletiu em diminuição dos seus volumes e, em consequência, de suas massas (FRANCISQUETTI, 2017; KHIARI; ZEMNI; MIHOUBI, 2019). Vale ressaltar que houve redução significativa nos valores de comprimento apenas nas passas que foram produzidas a partir da safra de 2014. Já a redução da largura foi significativa em todas as safras processadas, e não houve diferença entre as safras analisadas, nem entre os tratamentos de secagem aplicados. Comportamento similar a este pode ser observado para a massa das passas. Esse padrão de encolhimento, mais pronunciado no sentido da largura da baga também foi observado por Francisquetti (2017) após produção de passas a partir da variedade Crimson.

A relação entre o tamanho e a qualidade das passas depende da sua aplicabilidade. Quando utilizada como ingredientes, tal como em panetones, são preferidas as de menor tamanho enquanto para consumo direto como snacks associadas ou não com outros alimentos como castanhas, por exemplo, existe uma preferência por passas de maior tamanho (SOUZA *et al.*, 2015). No presente estudo as passas obtidas podem ser consideradas de tamanho

apropriado para uso como ingrediente em diferenciados produtos, sendo posteriormente testada como núcleo natural de drageados de chocolate.

Com relação a massa das passas é possível verificar valores entre 0,9 e 1,1 g, respectivamente. Passas produzidas a partir de cultivares viníferas (Tunisia, Meski, Chriha, Assli e Karkni), produzidas na Tunísia, norte da África, apresentaram massa numa faixa um pouco mais ampla, entre 0,8 e 1,6 g (GHRAIRI *et al.*, 2013). Pelos resultados de tamanho e massa obtidos para as passas pode-se considerar que independente da safra ou do emprego ou não do pré-tratamento, as passas apresentam características de tamanho e massa muito próximas, mostrando boa uniformidade nos produtos obtidos.

Pelos resultados obtidos (**Tabela 1**) pode-se observar também que houve um aumento importante da AT (1,89 a 2,27 g de ácido tartárico por 100 g de amostra) enquanto as alterações de pH foram mínimas (3,4 a 3,9), quando comparado com as uvas *in natura*. No caso da AT, como os ácidos orgânicos, tal como o ácido tartárico, presentes nas uvas não são voláteis, é esperado que após a desidratação das uvas haja uma concentração dos ácidos. Resultados similares foram relatados por Castillo-Muñoz *et al.* (2007) e Figueiredo-Gonzalez, Cancho-Grande e Simal-Gandara (2013) após desidratação de uvas. No caso do pH essa relação não é tão simples. A justificativa para o aumento da acidez juntamente com um ligeiro aumento do pH após a desidratação da uva deve-se ao fato de que ao se concentrar os ácidos orgânicos outros íons como o potássio (K⁺) também sofrem este efeito de concentração.

Martineli *et al.* (2018), após determinar as características físico-químicas de passas produzidas a partir das uvas Benitaka, BRS Vitória e Niágara utilizando secagem convectiva com ar aquecido a 70 °C e com pré-tratamento com solução alcalina apenas para a uva Niágara, os autores relataram que os produtos apresentaram faixa de pH entre 4,0 e 4,1 e AT entre 0,4 e 0,5 g de ácido tartárico por 100 g de amostra. Já Ghrairi *et al.* (2013), após determinar as características físico-químicas de uvas passas elaboradas com cultivares viníferas (Tunisia, Meski, Chriha, Assli e Karkni), relataram que as passas produzidas apresentaram pH entre 3,4 e 4,0.

Por fim, as passas produzidas a partir da cultivar BRS Clara apresentaram valores de umidade entre 12% e 18%. Ghrairi *et al.* (2013), após determinar a

umidade de uvas passas elaboradas com cultivares viníferas (Tunisia, Meski, Chriha, Assli e Karkni), produzidas na Tunísia, norte da África, relataram que as passas produzidas apresentaram valores entre 15 e 25% enquanto que (Al Askari *et al.* (2012), após determinar a umidade de 10 amostras de uvas passas adquiridas no mercado local de Rabat, Marocos, bem como importadas de países como Iran, Turquia, China e Índia, relataram valores na faixa de 16 a 17%. Já passas produzidas com uvas produzidas no Brasil (uvas Benitaka, BRS Vitória e Niágara) resultaram em umidades mais baixas, na faixa ente 6 e 9% (MARTINELLI *et al.*, 2018). Estudos ressaltam que a umidade das passas é um fator importante para estender a vida útil e manter a estabilidade microbiológica do produto durante a estocagem (AL ASKARI *et al.*, 2012; MARTINELLI *et al.*, 2018).

Os resultados de umidade obtidos no presente estudo para as uvas passas estão de acordo com legislação brasileira e pela resolução da OIV, que preconizam que frutas secas devem apresentar umidade inferior a 25% (BRASIL, 2005b; OIV, 2013). Assim como, está de acordo com os parâmetros internacionais de umidade indicados no *CODEX ALIMENTARIUS* (2019), o qual determina que uvas passas sem sementes devem apresentar umidade máxima de 19%.

Além disso, observando as característica físicas e químicas avaliadas nas passas, pode-se afirmar que as uvas e passas utilizadas neste presente estudo encontravam-se dentro dos padrões de qualidade desejados e adicionalmente, pode-se destacar que embora a legislação brasileira (BRASIL, 2013) e a OIV (OIV, 2013) permita alguns aditivos alimentares, as uvas passas produzidas não tiveram a adição de nenhum aditivo alimentar (acidulantes, reguladores de acidez, conservadores ou umectantes), exceto pelo AOEV, como agente tensoativo de origem natural com a finalidade de acelerar o processo de secagem das uvas.

Para avaliar se este efeito positivo sobre o tempo de desidratação resultou em efeito positivo também para a concentração dos diferentes compostos fenólicos presentes na uva BRS Clara, foi realizada a determinação do perfil qualitativo e quantitativo dos compostos fenólicos presentes nas passas

produzidas a partir das três safras de uvas sem e com pré-tratamento com o AOEV.

5.2. Perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos nas uvas *in natura* e passas por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

5.2.1. Flavonóis

Nas amostras de uva BRS Clara (safra 2014) *in natura* foram detectados (**Tabela 2**) 10 flavonóis monoglicosilados, contemplando a série completa dos 3-O-glucosídeos (glc), 3-O-galactosídeo (gal) e 3-O-glucuronídeo (glcU) de quercetina (Q) e kaempferol (K), assim como a Q-3-O-rutinosídeo (rutina) e o K-3-O-rutinosídeo e os derivados 3-O-glucosídeos e 3-O-galactosídeo da isorametina (I). Já para a safra de 2015, nas uvas *in natura* foram detectados 8 flavonóis monoglicosilados, devido à ausência dos flavonóis do tipo-I. Na safra de 2016 não foi detectada a presença de nenhum derivado do tipo-K, mas foi detectada a presença de I-3-glc, totalizando 5 flavonóis monoglicosilados. Quimicamente, os flavonóis identificados incluem três agliconas, com o seguinte padrão de substituição no anel B: Q com duas hidroxilas (OH), I com uma OH e com um grupo metoxila (OCH₃) e K com uma OH.

Não foi detectado, em nenhuma das três safras estudadas, flavonóis do tipo tri-substituído no anel B (miricetina, laricitrina e siringetina), resultados esses em acordo com os reportados na literatura para variedades brancas de *V. vinífera* (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2010; GARRIDO; BORGES, 2013; LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). O perfil observado na safra de 2014, que foi o mais completo, foi similar ao relatado por Lago-Vanzela *et al.* (2011a) para a mesma cultivar proveniente também de Jales-SP, porém, o presente trabalho apontou ainda a presença de I-3-gal e o K-3-O-rutinosídeo.

Tabela 2 - Características espectrais (MS/MS) dos flavonóis identificados nas amostras de BRS Clara (*in natura*, passa sem azeite e com azeite) por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio³ ± desvio padrão, n = 2) e concentração total (expressa em mg equivalente de quercetina-3-glicosídeo (mg Q-3-glc)).

Flavonol ¹	Íon pseudomolecular e íon produto (m/z)	Proporções molares (%) ²								
		CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
Q-3-gal	463; 301	4,71a ± 0,39	3,39a ± 0,19	2,97ab ± 0,30	4,49a ± 0,24	1,58b ± 0,20	1,79b ± 0,01	4,16a ± 0,88	3,72a ± 0,66	2,96ab ± 0,73
Q-3-glcU	477; 301	51,77c ± 0,76	34,86e ± 2,51	41,44de ± 0,37	61,42ab ± 2,42	55,16bc ± 1,38	50,66cd ± 2,29	63,94a ± 5,96	48,18cd ± 4,83	50,55cd ± 2,14
Q-3-glc	463; 301	31,74a ± 0,11	32,63a ± 2,33	34,99a ± 1,83	25,48ab ± 1,87	21,23b ± 0,60	21,83b ± 3,48	26,68ab ± 4,89	34,91a ± 3,56	33,86a ± 2,34
Q-3-rut	609; 301	4,32bc ± 0,42	5,03b ± 0,28	5,04b ± 0,51	4,38bc ± 0,27	5,66b ± 0,14	7,64c ± 0,46	3,46c ± 0,14	4,25bc ± 0,80	4,19bc ± 0,04
K-3-gal	447; 285	0,72bc ± 0,17	1,19a ± 0,22	0,54c ± 0,04	0,91b ± 0,09	ND	ND	ND	ND	ND
K-3-glcU	461; 285	1,24a ± 0,17	1,08a ± 0,17	0,69b ± 0,17	1,07a ± 0,01	ND	ND	ND	ND	ND
K-3-glc	447; 285	3,40b ± 0,12	5,82a ± 1,51	2,15bc ± 1,02	2,23bc ± 0,49	ND	ND	ND	ND	ND
K-3-rut	593; 285	0,54a ± 0,09	0,62a ± 0,04	0,23b ± 0,32	ND	ND	ND	ND	ND	ND
I-3-gal	477; 315	0,46a ± 0,08	0,09b ± 0,12	0,13b ± 0,19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
I-3-glc	477; 315	1,10b ± 0,02	0,79c ± 0,09	1,22b ± 0,22	ND	ND	ND	1,75a ± 0,04	ND	ND
free Q	301	ND	13,41b ± 1,67	9,87c ± 0,003	ND	16,36a ± 0,84	18,08a ± 1,64	ND	8,94c ± 1,41	8,43c ± 0,90
free K	285	ND	1,09a ± 0,03	0,71b ± 0,03	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total (mg Q-3-glc/ kg produto - DW)		140,93a ± 6,09	157,94a ± 0,68	80,32b ± 20,25	85,09b ± 0,88	74,11bc ± 3,73	55,11bcd ± 0,82	42,61d ± 6,71	58,68bcd ± 1,99	45,98cd ± 16,14
Total (mg Q-3-glc/ kg produto - FW)		36,03 ± 1,43	138,43 ± 0,19	69,80 ± 17,36	17,19 ± 0,04	60,53 ± 3,30	46,24 ± 0,71	9,33 ± 2,99	57,02 ± 9,38	52,83 ± 24,36

¹Abreviação da nomenclatura: Q, Quercetina; K, Kaempferol; I, Isoramnetina; ND, não detectado; CG; uva *in natura*; CRC; uva passa controle; CRO, uva passa com pré-tratamento; DW, base seca; FW, base úmida. ²As proporções molares estão calculadas para os flavonóis, totalizando 100 %. ³a, b, c, d, e: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que as amostras de uva *in natura* e passas sem e com azeite diferem estatisticamente (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

As características espectrais, íon molecular e íons produtos com ESI-MSⁿ, proporções molares médias individuais, bem como as concentrações totais de flavonóis na uva BRS Clara *in natura*, das três safras analisadas, bem como de suas respectivas passas, encontram-se presentes na **Tabela 2**.

A identificação dos compostos Q-glc e Q-gal, K-glc e K-gal e, I-glc e I-gal foram baseadas nos seus sinais ESI-MS/MS correspondentes aos íons pseudomoleculares ($[M-H]^-$) de m/z de 463 para os derivados do flavonol tipo-Q, 447 para os do tipo-K e, 477 para os do tipo-I, seguido por seus íons produtos (m/z de 301, 285 e 315, respectivamente) que foram gerados pela perda de um fragmento de hexose para ambos derivados 3-glucosídeos e 3-galactosídeos ($[(M-162)-H]^-$).

Para a identificação dos derivados 3-galactosídeo e 3-glucosídeo de Q, K e I, apesar dos espectros relativos aos derivados da mesma aglicona serem praticamente idênticos, os derivados 3-gal sempre eluem antes de seus respectivos derivados 3-glc sob condições cromatográficas em que foi usada coluna de fase reversa (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009a). Identificou-se também os compostos Q-glcU e Q-rut, bem como K-glcU e K-rut, baseados nos seus sinais ESI-EM/EM correspondentes aos íons pseudomoleculares ($[M-H]^-$) de m/z de 477 e 609 para os derivados do flavonol tipo-Q e 461 e 593 para os do tipo-K e seus íons produtos (m/z de 301 e 285, respectivamente) que foram gerados devido a característica perda, respectiva, de um fragmento de m/z de 176 correspondente a molécula de ácido glucurônico ligado a aglicona e, de um de m/z 308 corresponde a molécula 3-O-(6"-raminosil)-glicosídeo (rutina).

Dentre os compostos descritos para as amostras de uva *in natura* notou-se que os compostos derivados da Q foram os predominantes nas três safras analisadas seguidos pelos do tipo-K e tipo-I, quando identificados. No presente estudo, os compostos do tipo-Q, tipo-K e tipo-I variaram de 92% a 98 %, 0% a 5,9% e 0% a 1,8%, respectivamente, com base no total de flavonóis identificados.

Estes resultados corroboram com os apresentados na literatura, no qual relata-se que os flavonóis do tipo-Q são os predominantes em variedades viníferas brancas, em que este composto representa acima de 61% do total de flavonóis (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010; FLAMINI et al., 2013) enquanto os

compostos do tipo-K variaram de 8,8 - 38,3%, com uma média de 21,4% e os compostos do tipo-I, que ocorrem em menor concentração, apresentam uma média de 1,5%, embora haja cultivares chegando até 4,8% (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2010). Vale ressaltar que a Q-3-glcU foi o composto com maior porcentagem molar para todas as safras, seguido pela Q-3-glc, similarmente ao que ocorreu para a safra analisada por Lago-Vanzela *et al.* (2011a). Além disso, não foi identificado compostos do tipo-K na safra de 2016 e não foram identificados compostos do tipo-I na safra de 2015.

Em estudo realizado por Castillo-Muñoz *et al.* (2010), os autores relataram que os 3-O-glucosídeos são normalmente os principais derivados para cada flavonol do tipo-aglicona identificado, e a exceção é justamente a quercetina 3-O-glucuronídeo, por ser o composto majoritário entre os flavonóis do tipo-Q em metade das uvas viníferas brancas estudadas. Os autores ainda sugeriram que a glucosilação e a glucuronilação não parecem ser passos competitivos na via biossintética dos flavonóis nas uvas. De acordo com esta via biossintética e os resultados obtidos, pode-se sugerir que durante o desenvolvimento das uvas BRS Clara, nas safras analisadas, houve uma expressão mais pronunciada das enzimas da via biossintética F3'H para formação dos flavonóis do tipo-Q. Além disso, tanto para a safra de 2014 quanto para a safra de 2015, provavelmente a ação das enzimas flavanona 3-hidroxilase (F3H) e flavonol sintase (FLS) resultaram na formação dos compostos do tipo-K. Subsequentemente, tanto para a safra de 2014 quanto para a safra de 2016, sugere-se que a enzima metiltransferase (OMT) foi a responsável pela conversão por metilação da Q em I (FLAMINI *et al.*, 2013), enzima esta que deve ter sido deficiente na safra de 2015 devido à ausência deste tipo de composto nesta safra.

Quanto a concentração total média de flavonóis foi possível notar que, pela quantificação total expressa em mg de Q-3-glicosídeo/kg de uva em base seca (DW), os valores absolutos foram superiores na safra de 2014 (140), seguido pelas safras de 2015 (85) e consideravelmente menor na safra de 2016 (42). Em base úmida, os valores absolutos encontrados para as safras estudadas da BRS Clara variaram entre 9,33 e 36,03 mg de Q-3-glicosídeo/kg de uva. Estes valores estão dentro da faixa relatada por Flamini *et al.* (2013) após analisar várias uvas viníferas (1 a 80 mg/Kg de uva). Os autores relataram

ainda que variedades tintas comumente possuem concentrações de flavonóis maiores que as variedades brancas e que há exceções de cultivares que apresentaram concentrações maiores, tal como *Vitis palmate* (124 mg/kg) e *Vitis riparia* (111 mg/kg).

É importante ressaltar também que no presente estudo, a primeira safra é proveniente do Estado de São Paulo enquanto as outras duas são do Estado do Paraná. Além disso, as safras utilizadas nesse estudo também foram produzidas em ciclos produtivos diferentes, sendo a primeira colhida em meados de agosto, a segunda em abril e a última em dezembro. Estes fatores citados resultam na produção da uvas em condições edafoclimáticas diferentes, como incidência de luz, temperatura e estresse hídrico, que por conseguinte influenciam marcadamente na síntese e no perfil final de compostos fenólicos na fruta (FABANI *et al.*, 2017; FLAMINI *et al.*, 2013; KENNEDY *et al.*, 2002; PRICE *et al.*, 1995; SOLEAS *et al.*, 1997).

Ao utilizar as três safras de uva, pré-tratadas ou não com azeite, para produção das passas pode-se observar que as obtidas a partir da safra 2014 resultou em produto contendo além dos flavonóis presentes nas uvas, mais duas agliconas livres, totalizando 12 flavonóis enquanto nas uvas passas produzidas com a safra de 2015 e 2016 foram detectados somente os derivados de Q (Q-3-gal, Q-3-glcU, Q-3-glc e Q-3-rut) além da aglicona livre da Q. Todas as passas produzidas apresentaram como compostos majoritários a Q-3-glcU (de 33% a 59%) seguido de Q-3-glu (19% a 32%), com 88% a 100 % dos compostos do tipo-Q, com base na proporção total de flavonóis (**Tabela 2**).

Este comportamento também foi observado por Figueiredo-Gonzalez, Cancho-Grande e Simal-Gandara (2013) na secagem de uvas da variedade *Garnacha Tintorera* em sala com ventilação natural durante 83 dias. Quanto aos compostos minoritários presentes nas uvas (compostos do tipo-K e tipo-I), pode-se perceber que houve redução da proporção molar com o processo de desidratação e até degradação total dos compostos, dependendo da safra e das proporções iniciais presentes na uva. Por outro lado, após a desidratação de todas as uvas detectou-se a aglicona livre de Q (Q livre), com a terceira maior proporção molar, variando de 7,9% a 19,2%, bem como apenas na safra de 2014 a aglicona livre de K (K livre). O surgimento de agliconas livres de flavonóis após

o processo de secagem de uvas já foi relatado em outros estudos (FIGUEIREDO-GONZALEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GANDARA, 2013; MARQUEZ *et al.*, 2012b; OLIVATI *et al.*, 2019).

Estes compostos são formados pela hidrólise ácida dos flavonóis 3-O-glicosídeos devido ao efeito de concentração dos ácidos presentes no meio intracelular durante a desidratação das uvas, favorecendo esse tipo de reação (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2007; FIGUEIREDO-GONZALEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GANDARA, 2013).

Quanto a concentração total de flavonóis, expressa em mg de Q-3-glicosídeo/kg de produto em base seca (DW), observa-se pela **Tabela 2** que as passas produzidas sem azeite (controle) apresentaram valores entre 59 e 158 enquanto as com azeite apresentaram valores entre 46 e 80. Ao calcular as retenções de flavonóis nas passas é possível verificar a manutenção ou retenção de quase a totalidade dos flavonóis presentes nas uvas provenientes das passas produzidas sem o uso de pré-tratamento (média de $98,3\% \pm 21,8$) enquanto nas passas produzidas com uvas pré-tratadas com azeite a retenção média entre as safras analisadas foi de $65,7\% \pm 21,5$. As alterações no conteúdo individual de cada flavonol são consequências da composição inicial destes compostos nas uvas associado ao efeito de concentração ocasionado pela perda de água concomitantemente com prováveis reações de degradação decorrentes da presença do oxigênio e da temperatura, inerentes ao processo de desidratação (FABANI *et al.*, 2017; PEINADO *et al.*, 2013; SERRATOSA *et al.*, 2008). Cada tipo de flavonol tem sensibilidades diferentes a estas reações citadas e, desta forma, as alterações químicas destes compostos podem evoluir de forma diferente durante a produção das passas, o que pode justificar os desvios altos nas retenções.

Em estudo anterior, após avaliarem o efeito de mesmo pré-tratamento com azeite em uvas da cultivar BRS Morena, Olivati *et al.* (2019) relataram que as passas com e sem tratamento apresentaram concentrações de flavonóis similares, porém menores que as determinadas nas uvas *in natura*, e que possivelmente ambos processos de desidratação (sem e com pré-tratamento com azeite) afetavam os flavonóis pelo mesmo caminho. Independentemente das diferentes retenções, pode-se observar que o presente estudo apresentou

um comportamento de desidratação similar ao relatado por Olivati *et al.* (2019), em que o pré-tratamento com azeite influenciou de modo negativo os flavonóis.

A princípio o resultado pode causar estranheza uma vez que as uvas pré-tratadas com azeite estiveram menos tempo submetidas a circulação de ar forçada a temperatura de 60°C devido a aceleração do processo de desidratação e, por consequentemente, poderia se esperar que a perda de flavonóis poderia ser menor. No entanto, tal como já relatado por Olivati *et al.* (2019), a explicação apresentada para tal fato é que, por ser mais permeável, as cascas das uvas pré-tratadas podem expor os flavonóis mais intensamente aos processos de oxidação. Além disso, à medida que a desidratação prossegue, a acidez no interior da baga aumenta e, assim, os flavonóis glicosilados são submetidos à hidrólise nas passas com azeite de forma mais intensa quando comparado as uvas controle (sem tratamento). Além disso, vale ressaltar que as agliconas livres resultantes são muito insolúveis e instáveis, especialmente contra processos oxidativos.

No presente estudo, ao comparar os valores de porcentagens molares de flavonóis livres presentes nas passas obtidas a partir das diferentes safras, nota-se que a safra de uva de 2015, que resultou em passas com as menores retenções de flavonóis, foi também a que apresentou maiores porcentagens molares de quercetina livre, sendo os valores para as uvas pré-tratadas com azeite e para as sem pré-tratamento, respectivamente, de 18% e 16,4%. Além disso, vale ressaltar que as bagas das uvas da safra de 2015 são grandes e apresentam massa mais elevada que as outras safras.

Estas variações encontradas nos resultados de retenções dos flavonóis presentes nas uvas passas elaboradas a partir das três safras analisadas podem ser oriundas das características intrínsecas das uvas utilizadas, ao efeito da concentração dos compostos fenólicos ocasionado pela desidratação das uvas, além de uma maior ou menor oxidação química sofrida pelos flavonóis decorrente do efeito do azeite sobre a cera cuticular presente nas uvas.

Comménil *et al.* (1997) relataram que em uvas Pinot noir a espessura da cutícula diminuiu conforme a baga expande, o que pode refletir na quantidade de cera por área de superfície. Por outro lado, há outras variedades de uva em que não foi identificada correlação consistente entre o desenvolvimento da baga

e a espessura e/ou quantidade de cera por área de superfície, provavelmente devido a duração do período de desenvolvimento da baga e de fatores ambientais, como temperatura, exposição à luz, umidade relativa e irrigação, os quais apresentam efeito sobre estas tendências. Alguns autores relataram ainda que fissuras na casca da uva madura podem levar ao aumento da transpiração, e que cutículas de variedades com bagas maiores podem ser mais suscetíveis à fissuras devido à falta de suporte mecânico adequado (COMMÉNIL; BRUNET; AUDRAN, 1997; PERCIVAL *et al.*, 1993). Diante do exposto, diferenças nas características físicas e químicas das uvas nas diferentes safras analisadas podem ter interferido na efetividade do azeite durante a desidratação da uva e, em consequência, influenciado nos resultados finais de retenção dos flavonóis das passas produzidas.

Uma manutenção expressiva dos flavonóis após o processo de desidratação das uvas já havia sido relatada na literatura. Karadeniz, Durst e Wrolstad (2000), em estudo com uvas Thompson Seedless, relataram que os flavonóis não foram afetados pelos três técnicas de desidratação avaliadas (desidratação ao sol durante 2 semanas até umidade entre 9-16%; imersão rápida (15 e 20 seg) em água quente (87-93°C) seguido de desidratação em túnel a 71 °C até umidade entre 10-14%; imersão rápida (15 e 30 seg) em água quente (87-93°C) seguido de tratamento com dióxido de enxofre (2000-3000 ppm) e desidratação em túnel a 63°C até umidade entre 10-14%). Di Lorenzo *et al.* (2016b) e Fabani *et al.* (2017) também relataram retenções de flavonóis superiores a 100% após produzirem passas a partir de diferentes variedades de uvas. Parker *et al.* (2007), após desidratarem uva Thompson Seedless ao sol e após pré-tratamento com dióxido de enxofre, relataram que os flavonóis (especialmente glicosídeos de kaempferol) foram determinados (em base seca) em concentrações mais altas que as determinadas nas uvas frescas.

5.2.2. Flavan-3-óis e Proantocianidinas

Cinco flavan-3-óis monômeros ((+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina, (-)-galocatequina e (-)-epicatequina 3-galato) foram detectados nas amostras de uva BRS Clara *in natura* e uvas passas sem e com azeite para as três safras (**Tabela 3**), sendo a (+)-catequina (C) o monômero

majoritário em todas as amostras, seguido por concentrações menores de (-)-epicatequina (EC). Estes resultados são similares aos relatados na literatura para a mesma cultivar (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a) e em estudos com a desidratação de uvas 'Xynisteri' (CONSTANTINO *et al.*, 2018), 'Arizul', 'Flame', 'Superior' e 'Sultanina' (FABANI *et al.*, 2017), Pedro Ximenez (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013; PEINADO *et al.*, 2009; SERRATOSA *et al.*, 2008) e BRS Morena (OLIVATI *et al.*, 2019).

Nas nove amostras (uva *in natura* e uvas passas com e sem azeite, safras 2014, 2015 e 2016) foram detectadas também três dímeros de flavan-3-óis (PB1, PB2 e PB4), sendo a PB1 com a maior concentração para todas as amostras. Estes resultados são similares aos relatados por Figueiredo-Gonzalez; Cancho-Grande e Simal-Gandara (2013), Peinado *et al.* (2009) e Serratosa *et al.* (2008) em uvas *Pedro Ximenez* desidratadas parcialmente e, por OLIVATI *et al.* (2019) após desidratação de uvas BRS Morena pré-tratadas ou não com azeite, bem como em estudo sobre a desidratação solar de uvas Xynisteri e Mavro (CONSTANTINO *et al.*, 2017).

Os pares de transição (*m/z*) monitorados por varredura utilizando o monitoramento de reações múltipla (MRM) e os compostos que foram quantificados em função desta seleção dos pares de transição estão descritos a seguir: (+)-catequina e (-)-epicatequina (289/137 e 289/164); procianidinas B1, B2 e B4 (577/425 e 577/407); (-)-epigallocatequina e (-)-galocatequina (305/109 e 305/137) e (-)-epicatequina 3-galato (441/245 e 441/289).

Tabela 3 - Concentrações dos flavan-3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) de BRS Clara *in natura* e uvas passas sem e com azeite (mg equivalentes de catequina/kg de uva *in natura*; n = 2).

média ² ± desvio padrão, eq. de catequina – mg/kg de produto – DW ou (mg/kg de produto – FW)										
Flavan-3-ol ¹	pares m/z	CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
C	289/137	37,20d ± 0,24	9,67e ± 1,89	18,68e ± 1,66	176,54a ± 15,49	67,34c ± 4,83	137,57b ± 5,70	15,68e ± 0,78	3,06e ± 0,48	12,84e ± 2,51
	289/164	(9,51 ± 0,09)	(8,51 ± 1,64)	(16,24 ± 1,39)	(35,65 ± 2,68)	(54,98 ± 3,72)	(114,77 ± 3,81)	(4,01 ± 0,19)	(2,69 ± 0,41)	(11,12 ± 2,20)
EC	289/137	3,85d ± 1,30	1,90d ± 0,69	3,23d ± 0,04	31,67b ± 3,47	19,59c ± 1,31	41,65a ± 3,52	2,54d ± 0,33	1,22d ± 0,08	4,52d ± 0,69
	289/164	(0,98 ± 0,34)	(1,67 ± 0,61)	(2,81 ± 0,05)	(6,39 ± 0,62)	(16,00 ± 1,00)	(34,77 ± 3,23)	(0,65 ± 0,08)	(1,07 ± 0,08)	(3,91 ± 0,61)
GC	305/109	1,75b ± 0,67	0,23b ± 0,32	0,77b ± 0,23	3,68a ± 0,69	0,72b ± 0,16	0,94b ± 0,74	1,01b ± 0,16	0,22b ± 0,04	0,35b ± 0,07
	305/137	(0,45 ± 0,17)	(0,20 ± 0,28)	(0,67 ± 0,21)	(0,74 ± 0,13)	(0,59 ± 0,13)	(0,78 ± 0,61)	(0,26 ± 0,04)	(0,20 ± 0,03)	(0,31 ± 0,06)
EGC	305/109	0,62b ± 0,13	0,10b ± 0,08	0,19b ± 0,17	1,48a ± 0,37	0,54b ± 0,33	0,57b ± 0,57	0,19b ± 0,04	0,07b ± 0,07	0,22b ± 0,03
	305/137	(0,16 ± 0,03)	(0,09 ± 0,07)	(0,16 ± 0,15)	(0,30 ± 0,07)	(0,44 ± 0,27)	(0,48 ± 0,48)	(0,05 ± 0,01)	(0,07 ± 0,06)	(0,19 ± 0,03)
ECG	441/245	3,78b ± 0,003	0,66b ± 0,12	0,73b ± 0,07	21,35a ± 5,74	3,06b ± 0,43	4,23b ± 0,59	2,36b ± 0,03	0,50b ± 0,02	0,97b ± 0,06
	441/289	(0,97 ± 0,00)	(0,58 ± 0,10)	(0,64 ± 0,06)	(4,31 ± 1,11)	(2,49 ± 0,34)	(3,53 ± 0,52)	(9,80 ± 0,19)	(0,44 ± 0,02)	(0,84 ± 0,05)
Total monômeros (mg/kg produto, eq. catequina)		45,77d ± 0,78 (11,71 ± 0,24)	12,31e ± 1,35 (10,83 ± 1,15)	23,31de ± 1,27 (20,26 ± 1,03)	227,11e ± 23,72 (45,86 ± 4,22)	90,12c ± 6,29 (73,58 ± 4,83)	183,45b ± 1,96 (153,06 ± 0,37)	23,89de ± 1,19 (6,11 ± 0,29)	10,12e ± 1,21 (8,87 ± 1,04)	27,29de ± 7,11 (23,63 ± 6,21)
Flavan-3-ol dímeros	pares m/z	CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
PB1	577/425;	58,51c ± 11,61	12,13ef ± 1,12	32,04d ± 2,03	132,24a ± 13,39	62,27c ± 1,20	100,98b ± 2,08	38,31d ± 0,86	4,66f ± 0,67	22,72de ± 4,34
	577/407	(14,96 ± 2,92)	(10,68 ± 0,95)	(27,86 ± 1,67)	(26,70 ± 2,37)	(50,85 ± 0,77)	(84,25 ± 1,04)	(9,80 ± 0,19)	(4,09 ± 0,58)	(19,68 ± 3,81)
PB2	577/425;	6,39e ± 1,74	2,23e ± 0,08	4,68e ± 1,91	29,03c ± 1,01	32,69b ± 0,98	57,78a ± 0,02	6,39e ± 0,49	2,25e ± 0,15	13,50d ± 2,37
	577/407	(1,63 ± 0,44)	(1,97 ± 0,06)	(4,07 ± 1,65)	(5,86 ± 0,13)	(26,70 ± 0,91)	(48,21 ± 0,38)	(1,64 ± 0,12)	(1,97 ± 0,13)	(11,69 ± 2,08)
(continua)										
(continuação e conclusão)										
PB4	577/425;	6,09bc ± 2,63	1,33d ± 0,37	3,20cd ± 0,84	14,94a ± 0,85	7,51b ± 0,50	12,44a ± 0,10	7,59b ± 0,57	2,67cd ± 0,18	16,02a ± 2,81

577/407	(1,56 ± 0,67)	(1,17 ± 0,32)	(2,78 ± 0,73)	(3,02 ± 0,21)	(6,14 ± 0,44)	(10,38 ± 0,00)	(1,94 ± 0,14)	(2,34 ± 0,15)	(13,88 ± 2,47)
Total dímeros (mg/kg produto, eq, catequina)	35,62c ± 8,02	7,88e ± 0,79	20,03d ± 2,40	88,41a ± 6,78	51,41b ± 0,10	85,91a ± 1,12	37,91c ± 2,06	6,53e ± 1,24	33,78c ± 5,60
	(9,11 ± 2,02)	(6,93 ± 0,67)	(17,42 ± 2,03)	(17,86 ± 1,14)	(41,98 ± 0,25)	(71,67 ± 0,34)	(9,70 ± 0,50)	(5,72 ± 1,07)	(29,25 ± 4,92)
Total (mg/kg produto, eq, catequina)	81,39d ± 7,24	20,19f ± 2,14	43,34ef ± 3,67	315,52a ± 30,50	141,57c ± 6,15	269,33b ± 3,04	61,80de ± 3,25	16,65f ± 2,45	61,07de ± 12,70
	(11,71 ± 0,24)	(17,77 ± 1,82)	(37,68 ± 3,06)	(63,71 ± 5,36)	(73,58 ± 4,83)	(224,71 ± 0,68)	(15,81 ± 0,78)	(14,59 ± 2,11)	(52,88 ± 11,14)

¹Abreviações: C, (+)-catequina; EC, (-)-epicatequina; CG, galocatequina; EGC, (-)-epigallocatequina; ECG, (-)-epicatequina-3-galato; PB1, procianidina B1; PB2, procianidina B2; PB4, procianidina B4; ² a, b, c, d, e: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa para amostras de uva BRS Clara *in natura* e passas sem e com azeite (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Quanto a concentração total de monômeros, as uvas *in natura* da safra de 2015 apresentaram valor significativamente superior ($\alpha = 0,05$) as safras de 2014 e 2016. Esse mesmo comportamento foi observado para a concentração total de dímeros, onde as safras de 2014 e 2016, apresentaram valores próximos entre si e significativamente inferiores ($\alpha = 0,05$) aos observados para a safra de 2015. Como consequência, tal comportamento é observado também para a concentração total de flavan-3-óis.

A soma total dos monômeros e dos dímeros determinadas nas uvas *in natura* foi significativamente superior ($\alpha = 0,05$) as das uvas passas, exceto para os dímeros da uva passa com AOEV da safra de 2015, a qual não apresentou diferença significativa ($\alpha = 0,05$) na concentração em comparação à sua uva *in natura*. Nas uvas passas com e sem AOEV, a soma total dos monômeros foi estatisticamente igual ($\alpha = 0,05$) para as safras de 2014 e 2016, enquanto na safra de 2015 as passas com pré-tratamento apresentaram maior concentração de monômeros que as passas do grupo controle. Já para os dímeros, a concentração observada para as uvas passas produzidas com AOEV foi significativamente superior ($\alpha = 0,05$) ao das uvas passas sem pré-tratamento, em todas as três safras avaliadas.

A concentração total de flavan-3-óis, nas três safras estudadas, foi superior nas uvas *in natura* em relação as uvas passas. Entre as uvas passas sem e com AOEV, uma maior concentração de flavan-3-óis totais foi observado nas uvas passas com AOEV. Entre as três safras estudadas, a de 2015 foi a com maior concentração de flavan-3-óis (315,52 mg equivalentes (eq.) de catequina /kg de uva, DW), seguida pela safra 2014 (81,39 mg eq. de catequina /kg de uva, DW) e 2016 (61,80 mg eq. de catequina /kg de uva, DW).

As uvas passas sem pré-tratamento (grupo controle) apresentaram para a safra de 2014, 2015 e 2016, respectivamente, retenções médias de flavan-3-óis de 21%, 41% e 24%, enquanto as passas com AOEV, apresentaram retenções de 46%, 76% e 82%, respectivamente. A diferença nas concentrações encontradas para as amostras de uva *in natura* em comparação aos valores encontrados na literatura podem ser justificados devido à ausência de sementes na variedade estudada, uma vez que os flavan-3-óis encontram-se em maior concentração nas sementes e engaço da uva (DA-SILVA; LAGO-VANZELA;

BAFFI, 2015). Além disso, a diferença inerente a safra das uvas utilizadas nos respectivos estudos também justifica as diferentes concentrações encontradas. Por outro lado, a diferença nas concentrações totais encontradas para as amostras de uva passa sem e com azeite pode ser justificada devido ao tempo de exposição das uvas às condições de secagem utilizadas, e a modificação na permeabilidade da cera cuticular na casca da uva em virtude do pré-tratamento aplicado.

Além da identificação e quantificação dos flavan-3-óis também foi realizada uma avaliação das características estruturais dos flavan-3-óis não monoméricos (proantocianidinas; PA), ou seja, de dímeros à polímeros, por meio da reação de despolimerização com pirogalol, liberando “unidade terminal” como flavan-3-óis monômeros, e o restante dos compostos foi denominado como “unidade de extensão” (**Tabela 4**).

Para caracterização estrutural destes compostos foi calculada a % de galoilação e de prodelfinidinas, PA que em meio ácido e/ou alcoólico liberam a antocianidina delfinidina. Neste caso, nos cálculos de % de galoilação e de prodelfinidinas foram levados em conta somente as unidades de CG e ECG (para a % galoilação) e as unidades de GC e EGC (para a % prodelfinidina), as quais foram liberadas durante a despolimerização da proantocianidinas. As formas livres existentes antes da despolimerização não foram consideradas.

De modo geral, a análise estrutural das PA da uva BRS Clara apresentou resultados consistentes com estudos anteriores para a mesma cultivar (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). As unidades de extensão que formaram as PA na BRS Clara foram as mesmas que as quatro encontradas (C, EC, EGC e, CG) na literatura para a mesma cultivar e para a cultivar BRS Morena (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a; OLIVATI *et al.*, 2019), exceto para a safra de 2016, na qual foram encontradas além dessas, outras quatro unidades de extensão (GC, ECG, GCG e EGCG).

Tabela 4 - Caracterização estrutural das proantocianidinas (média² ± desvio padrão, n=2) de BRS Clara *in natura* e passas sem e com azeite.

PA ¹	CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
mDP	6,66a ± 0,43	5,22bc ± 0,71	6,61a ± 0,05	5,90ab ± 0,57	4,65cd ± 0,21	6,35a ± 0,49	3,13e ± 0,20	3,69de ± 0,03	4,01de ± 0,26
%galoilação	6,09b ± 0,10	4,55c ± 0,13	4,35c ± 0,72	8,15a ± 0,37	6,54b ± 0,12	6,58b ± 0,13	8,41a ± 0,95	4,87c ± 0,17	6,45b ± 0,06
%prodelphinidinas	9,71abc ± 0,45	8,18bcd ± 0,13	9,11abcd ± 0,22	12,17a ± 0,23	6,46cd ± 0,74	9,40abc ± 0,54	10,89ab ± 2,33	6,07d ± 0,85	6,66bc ± 0,61
% C-term	76,11a ± 4,51	75,38a ± 0,47	75,50a ± 0,33	68,36b ± 0,67	66,62b ± 1,95	63,14b ± 2,00	66,11b ± 0,64	30,27d ± 1,07	47,45c ± 3,15
% EC-term	5,28c ± 3,15	12,23b ± 0,46	12,13b ± 1,75	11,68b ± 0,47	20,70a ± 0,86	22,67a ± 1,28	11,09b ± 0,19	12,22b ± 2,32	16,79b ± 1,83
% GC-term	5,87a ± 0,21	4,18b ± 0,14	4,34b ± 0,21	4,09b ± 0,38	1,97cd ± 0,34	2,65c ± 0,04	3,90b ± 0,65	2,15cd ± 0,62	1,24d ± 0,09
% EGC-term	0,97a ± 0,69	0,80a ± 0,09	1,59a ± 0,02	0,69a ± 0,02	0,49a ± 0,08	0,61a ± 0,31	0,82a ± 0,04	0,76a ± 0,73	0,77a ± 0,09
% ECG-term	11,76b ± 1,83	7,40c ± 1,17	6,44c ± 1,61	15,16a ± 0,16	10,21b ± 1,34	10,92b ± 0,44	5,55cd ± 0,79	3,17de ± 0,24	2,36e ± 0,76
% C-ext	2,50c ± 0,08	2,36c ± 0,21	2,62c ± 0,08	4,76a ± 0,18	3,03bc ± 0,61	3,64b ± 0,17	4,64a ± 0,28	3,12bc ± 0,12	3,44b ± 0,11
%-EC-ext	82,63b ± 0,40	85,09ab ± 0,49	84,01ab ± 0,15	75,53d ± 0,87	84,15ab ± 1,36	80,26c ± 0,78	76,30d ± 1,65	86,95a ± 0,90	83,81ab ± 0,84
% EGC-ext	10,01b ± 0,59	8,83bc ± 0,31	9,48b ± 0,33	13,52a ± 0,42	7,46bc ± 0,95	10,48b ± 0,80	12,96a ± 2,42	5,89c ± 0,49	7,16bc ± 0,54
% CG-ext	4,84b ± 0,27	3,72c ± 0,03	3,88c ± 0,56	6,18a ± 0,27	5,36ab ± 0,19	5,61ab ± 0,15	5,37ab ± 0,66	3,58c ± 0,16	5,08ab ± 0,15
% GC-ext	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,01a ± 0,001	0,03a ± 0,02	0,01a ± 0,006
% ECG-ext	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,001b ± 0,0003	0,003a ± 0,002	0,002b ± 0,0003
% GCG-ext	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,006a ± 0,003	0,006a ± 0,008	ND
% EGCG-ext	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,70a ± 0,17	0,41b ± 0,13	0,50b ± 0,05
mg/kg produto- eq. de catequina – DW (mg/kg produto – eq. de catequina -FW)									
Total PA	1331,03c ± 89,08 (340,45 ± 21,74)	347,98e ± 13,30 (306,32 ± 10,71)	599,55d ± 56,37 (521,20 ± 47,20)	2936,60a ± 103,98 (582,68 ± 1,31)	1450,43c ± 12,11 (1189,55 ± 2,37)	2330,54b ± 35,49 (1944,41 ± 13,52)	478,86de ± 2,47 (122,53 ± 0,20)	147,10f ± 32,57 (128,89 ± 28,17)	495,03de ± 74,54 (428,64 ± 65,55)
Taninos condensados	3074,71d ± 329,87 (788,77 ± 84,62)	1507,46e ± 323,47 (1324,01 ± 284,11)	2250,56de ± 352,65 (1944,71 ± 304,73)	7636,45b ± 1441,96 (1475,88 ± 278,68)	6357,92c ± 684,84 (5176,42 ± 557,57)	9112,61a ± 626,77 (7647,74 ± 526,02)	5303,76c ± 723,82 (841,56 ± 204,03)	3288,21d ± 806,94 (4600,11 ± 609,34)	5516,92c ± 613,66 (4846,63 ± 544,25)

Abravicações: MDP, grau médio de polimerização; C, (+)-catequina; EC, (-)-epicatequina; CG, galocatequina; EGC, (-)-epigalocatequina; ECG, (-)-epicatequina-3-galato; GCG, (-)-galocatequina-3-galato; EGCG, (-)-epicagallocatequina-3-galato; term, unidades terminais; ext, unidades de extensão; PA, proantocianidinas; DW, base seca; FW, base úmida. a, b, c, d, e: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa para amostras de uva *BRS Clara in natura* e passas sem e com azeite (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

No presente estudo, EC foi a principal unidade de extensão, seguido pela EGC para todas as amostras (uvas *in natura* e passas sem e com azeite). Com relação as unidades terminais para todas as amostras (uvas e passas sem e com azeite), a C foi a principal, resultados esses similares aos encontrados na literatura para a mesma cultivar (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). O comportamento de concentração ou degradação dos compostos foi similar ao relatado em estudo anterior com a cultivar tinta BRS Morena (OLIVATI *et al.*, 2019).

Com relação a concentração total de PA, as amostras de uvas passas sem azeite apresentaram uma retenção de 22%, 46% e 27%, para as safras de 2014, 2015 e 2016, respectivamente, enquanto nas uvas passas com azeite a retenção foi de 39%, 72% e 86%, respectivamente. As uvas passas com AOEV apresentaram maior retenção de PA, sendo essas concentrações significativamente ($\alpha = 0,05$) superiores as concentrações de PA determinadas nas amostras de uvas passas sem AOEV.

Essas reduções observadas na concentração total das PA e dos flavan-3-óis das uvas passas em comparação com as uvas *in natura* é justificada por esses serem considerados compostos fenólicos termolábeis (FIGUEIREDO-GONZALEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GANDARA, 2013; KARADENIZ; DURST; WROLSTAD, 2000).

O grau médio de polimerização (mDP) calculado como a razão entre as unidades terminais e de extensão variou entre as safras estudadas, sendo a de 2014 com maior mDP, seguido pela safra de 2015 e 2016, respectivamente. Valores esses próximos aos encontrados na literatura para a mesma cultivar ($7,03 \pm 0,07$) (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a) e superiores aos relatados na literatura para outras uvas híbridas (1,08 à 1,50) (HERNÁNDEZ; SONG; MENÉNDEZ, 2017).

O processo de secagem das uvas afetou diferentemente o mDP das amostras, sendo que as uvas passas produzidas com azeite apresentaram mDP igual ou superior ao das uvas *in natura*, enquanto as uvas passas do grupo controle, apresentaram mDP inferiores aos da uva *in natura*, exceto para a safra de 2016, o qual não apresentou diferença significativa ($\alpha = 0,05$). O grau de polimerização das proantocianidinas afeta a adstringência e o amargor das uvas

e suas passas, pois elas podem reagir com outros compostos fenólicos e serem responsáveis pela diminuição/perda de adstringência nas uvas e seus produtos

A metodologia empregada para determinação de PA possui algumas limitações, dentre elas, a de que só é possível avaliar as características estruturais das PA que apresentam uma ligação do tipo B (ligação interflavan, que são as que se rompem com a reação de despolimerização). As PA do tipo A (com ligação éster) não se despolimerizam, pois a ligação éster não se rompe nestas condições, impedindo, portanto, a análise delas por esta metodologia.

Visando contornar esta limitação, realizou-se uma segunda determinação de PA pelo método de precipitação com metilcelulose. Os resultados obtidos por esta última metodologia, identificado na **Tabela 4** como ‘Taninos Condensados’, mostraram concentrações mais elevadas quando comparados aos resultados obtidos por HPLC para todas as amostras (uvas e passas sem e com azeite).

A biossíntese dos flavan-3-óis tem início na conversão do dihidrokaempferol (ou os produtos diretos das enzimas F3'H e F3'5'H) para leucoantocianidinas, (leucopelargonidina, leucocianidina e leucodelphinidina) pela enzima dihidroflavonol 4-redutase (DFR) (FLAMINI *et al.*, 2013), os quais sob ação da enzima leucoantocianidina redutase (LAR) são precursores dos flavan-3-óis (GARRIDO; BORGES, 2013).

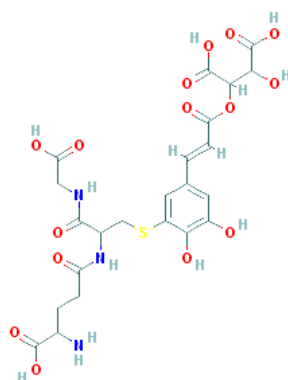
No caso das proantocianidinas, sua biossíntese parte desta via biossintética a partir dos 2,3-*trans*-flavan-3-óis e 2,3-*cis*-flavan-3-óis, e é iniciada pela antocianidina redutase (ANR) ou leucoantocianidina redutase (LAR), respectivamente, por meio da condensação oxidativa dos flavan-3-óis. A epicatequina e catequina são resultantes desta ramificação e podem ser oxidados em quinonas, que são polimerizadas (VOGT, 2010).

Desse modo, as diferenças nas concentrações de flavan-3-óis e proantocianidinas encontradas para as uvas *in natura* entre as safras estudadas podem ser justificados a uma possível menor atividade das enzimas DFR, LAR e ANR na safra de 2016 em comparação com as safras de 2014 e 2015, respectivamente. Essas enzimas, responsáveis pelo processo biosintético dos flavan-3-óis e proantocianidinas são processos com influencia direta e indireta das condições edafoclimáticas as quais cada safra esteve sujeita.

5.2.3. Derivados do ácido hidroxicinâmico (DAHC)

Os DAHC comumente encontrados em uvas viníferas (ácido *trans*-caftárico, os ácidos *cis*- e *trans*-cutárico e os ácidos *trans*- e *cis*-fertárico) foram detectados na maioria das amostras de BRS Clara *in natura* das três safras, exceto pelo ácido *cis*-fertárico na safra de 2014. Este perfil de DAHC foi similar ao relatado por Lago-Vanzela *et al.* (2011a) ao estudar a mesma cultivar. Porém, no presente estudo, foi identificado também, além dos compostos citados, o ácido 2-S-glutationil-*trans*-caftárico (GRP, **Figura 19**), em todas as amostras *in natura*, uvas passas sem pré-tratamento e, uvas passas com pré-tratamento.

Figura 19 - Estrutura do ácido 2-S-glutationilcaftárico (GRP).



Fonte: PubChem Compound Database; CID=71308212” (2017).

O GRP é formado pela reação entre a glutathiona e a o-quinona do ácido caftárico, a qual é originada pela oxidação dos ácidos caftárico pela enzima polifenoloxidase (PPO) da uva (CEJUDO-BASTANTE; PÉREZ-COELLO; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; SINGLETON *et al.*, 1985). As proporções molares deste composto determinadas nas uvas passas foram significativamente maiores ($\alpha = 0,05$) que as determinadas nas uvas *in natura* (**Tabela 5**). No caso das uvas *in natura*, a formação do GRP é decorrente do processamento da uva no laboratório para obtenção dos extratos fenólicos utilizados nas análises cromatográficas. Nas uvas passas, a perda da estrutura celular, com consequente descompartimentação das organelas celulares, devido a desidratação das uvas promove o contato da PPO com estes compostos fenólicos, que por serem substratos para a enzima, desencadeiam as reações de oxidação (MARQUEZ *et al.*, 2012).

Tabela 5 - Características espectrais (MS/MS) dos DAHC identificados nas amostras de *BRS Clara* (*in natura*, passa sem azeite e com azeite) por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 2) e concentração total (mg equivalente de ácido caftárico).

Íon pseudomolecular e íon produto (m/z)	DAHC	Proporções molares (%)								
		CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
618;543;489;264	GRP ¹	5,95bc ± 0,61	9,60a ± 0,44	4,72c ± 0,24	4,56c ± 0,32	8,43ab ± 0,86	9,31a ± 1,90	4,57c ± 0,94	7,47ab ± 0,31	7,97ab ± 0,78
311;179,149,135	ác. <i>trans</i> -caftárico	83,90ab ± 0,06	78,97cd ± 0,27	86,83a ± 0,85	81,16bc ± 2,42	68,73e ± 1,22	69,87e ± 2,14	76,51d ± 1,54	61,16f ± 2,97	71,78e ± 0,23
295;163,149,119	ác. <i>trans</i> -cutárico	5,74d ± 0,34	4,28d ± 0,30	4,23d ± 0,01	8,91b ± 1,32	11,89a ± 0,04	9,54b ± 0,75	4,56d ± 0,38	9,01b ± 0,36	7,24c ± 0,80
295;163,149,120	ác. <i>cis</i> -cutárico	3,13d ± 0,25	5,70a ± 0,23	3,50cd ± 0,43	2,28d ± 0,92	3,90bcd ± 0,08	2,54d ± 0,62	3,85bcd ± 0,29	5,25ab ± 0,60	4,98abc ± 0,18
325; 193, 149	ác. <i>trans</i> -fertárico	1,28c ± 0,04	1,46c ± 0,18	0,71c ± 0,19	2,40c ± 0,10	4,14b ± 0,16	4,36b ± 0,67	5,57b ± 0,17	11,07a ± 1,47	4,97b ± 0,03
325; 193, 149	ác. <i>cis</i> -fertárico	ND	ND	ND	0,69d ± 0,05	2,90c ± 0,57	4,37b ± 0,95	4,93b ± 0,33	6,02a ± 0,85	3,05c ± 0,04
Total DAHC (mg/kg of produto - DW)		189,65b ± 11,12	158,63bc ± 3,40	293,09a ± 26,33	295,71a ± 1,33	271,55a ± 4,71	289,81a ± 23,98	93,79d ± 8,18	125,32d ± 15,27	272,03b ± 21,31
<i>Total DAHC (mg/kg of produto - FW)</i>		<i>48,63 ± 2,83</i>	<i>139,03 ± 2,57</i>	<i>253,70 ± 22,13</i>	<i>59,75 ± 1,02</i>	<i>221,73 ± 2,92</i>	<i>243,13 ± 20,25</i>	<i>23,99 ± 2,02</i>	<i>110,05 ± 12,73</i>	<i>236,48 ± 17,71</i>
Total DAHC - sem GRP (mg/kg of produto - DW)		178,33 ± 9,31	143,42 ± 3,77	279,21 ± 24,38	282,22 ± 0,31	248,67 ± 6,65	263,05 ± 27,24	89,47 ± 6,93	115,93 ± 13,73	250,26 ± 17,49
<i>Total DAHC - sem GRP (mg/kg of produto - FW)</i>		<i>45,73 ± 2,37</i>	<i>125,70 ± 2,93</i>	<i>241,69 ± 20,47</i>	<i>57,02 ± 0,78</i>	<i>203,04 ± 4,58</i>	<i>220,68 ± 22,98</i>	<i>22,88 ± 1,70</i>	<i>101,81 ± 11,43</i>	<i>217,56 ± 14,45</i>

¹Abreviação da nomenclatura: GRP, ácido 2-S-glutationil-caftárico. ²a, b, c: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que as amostras diferem estatisticamente entre si (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). ³ Valores totais de DAHC desconsiderando a contribuição do composto GRP. Fonte: elaborada pela autora (2020).

Este composto foi detectado também em estudo anterior nas uvas passas produzidas a partir de uvas BRS Morena (OLIVATI *et al.*, 2019). A identificação destes compostos, foi realizada com o auxílio dos respectivos cromatogramas de íons extraídos (EIC), no modo de ionização negativo, observados no espectro MS/MS e foram confirmados pelos seus espectros obtidos no UV-Vis-DAD, que estão de acordo com os dados disponíveis na literatura (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011; REBELLO *et al.*, 2013).

Os derivados do tipo caftárico, *trans*- e *cis*-cutárico, e *trans*- e *cis*-fertárico apresentaram íons pseudomoleculares $[M-H]^-$ de m/z 311, 295, 295, 325 e 325, bem como íons produtos derivados da perda da parte do ácido tartárico (132 amu), correspondentes a m/z 179, 163, 163, 193 e 193 e, com formação do íon fragmento do ácido hidroxicinâmico ionizado correspondente de m/z 135, 119, 120, 149 e 149, devido à perda do dióxido de carbono (CO_2 ; 44 μ) a partir do ácido hidroxicinâmico ionizado anteriormente, bem como apresentaram um íon produto em comum (m/z 149) em função da perda da parte do ácido hidroxicinâmico. A principal fragmentação detectada para o GRP foi com a formação do íon pseudomolecular $[M+H]^+$ de m/z 618, identificado utilizando os EIC no modo de ionização positivo, e como principal fragmentação o íon produto de m/z 264.

O ácido *trans*-caftárico foi o DAHC predominante em todas as amostras (**Tabela 5**) (uvas e passas com e sem azeite), sendo este resultado similar ao relatado na literatura com uvas passas da variedade BRS Morena (OLIVATI *et al.*, 2019), Arizul, Sultanina, Superior e Flame (FABANI *et al.*, 2017), Antep karasi, Besni karasi, Besni beyazi, Hatun parmagi e Sultaniye (KELEBEK *et al.*, 2013), Thompson seedless (WILLIAMSON; CARUGHI, 2010), e também para uvas passas de 16 cultivares originárias da Califórnia.

Quanto a concentração total média de DAHC identificados nas amostras de *BRS Clara in natura* foi possível notar que tal como ocorreu para os flavonóis, as duas primeiras safras (2014 e 2015) apresentaram valores superiores quando comparado ao valor médio determinado na safra de 2016. Os valores encontrados variaram entre 23,99 e 59,75 mg equivalente de ácido caftárico /kg em base úmida (FW). Resultado próximo ao valor mais baixo determinado no presente estudo foi relatado em estudo anterior do grupo de pesquisa com a mesma cultivar (26,54 mg/kg em FW) (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). Ao

expressar os resultados em base seca (DW), observa-se que as safras analisadas de BRS Clara apresentaram concentração total média de DAHC entre 94 e 295 mg/kg, resultados estes que estão na faixa relatada para outras cultivares, como por exemplo as 13 cultivares híbridas de uvas brancas cultivadas na Polônia, que obtiveram concentrações de DAHC variando entre 164 mg/kg e 1161 mg/kg (DW) (SAMOTICHA; WOJDYLO; GOLIS, 2017).

A biossíntese dos DAHC, assim como os demais compostos fenólicos nas uvas tem origem na biossíntese do aminoácido aromático fenilalanina e do ciclo de Krebs (Acetil CoA), onde sob ação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) ocorre a desaminação não oxidativa desse aminoácido no composto *trans*-ácido cinâmico. A partir deste composto ocorre a formação do ácido *p*-cumárico, catalisada pela enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H) (VALIÑAS *et al.*, 2017; ZHANG; BUTELLI; MARTIN, 2014). Na via biossintética, o ácido *p*-cumárico desencadeia sob a ação de várias enzimas (hidroxicinamoil-CoA ligase (4CL), enzimas 4-hidroxicinamato 3-hidroxilase (C3H) e 3-O-metiltransferase (COMT)) a formação dos ácidos caféico e ferúlico. Estes ácidos formados, sob ação da enzima 4CL originam o cafeoil-CoA e o feruloil-CoA. Na sequência, o 4-*p*-cumaroil-CoA, o cafeoil-CoA e o feruloil-CoA, após esterificação com o ácido tartárico, dão origem aos ácidos caftárico, fertárico e cutárico, respectivamente (GARRIDO; BORGES, 2013; SAVOI *et al.*, 2016; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Ao observar as concentrações totais de DAHC nas safras das uvas analisadas, pode-se inferir que além dos fatores edafoclimáticos, a safra de 2015 deve também ter apresentado uma maior ação das enzimas C3H e 4CL no corpo central do caminho biossintético, as quais são responsáveis pela conversão do ácido *p*-cumárico e do 4-*p*-cumaroil-CoA nos DAHC observados nas safras estudadas. Além disso, ao comparar a safra de 2015 frente a safra de 2016 (originária da mesma localidade geográfica), observa-se uma maior proporção molar do ácido *trans*-cutárico, uma menor proporção molar dos ácidos *trans*- e *cis*-fertárico, e proporções molares significativamente iguais ($\alpha = 0,05$) para os ácidos *trans*-caftárico e *cis*-cutárico. Desta maneira, sugere-se também que a safra de 2015 pode ter tido uma menor ação da enzima COMT e, conseqüentemente, uma menor formação de ácido ferúlico, gerando assim menores proporções molares dos ácidos *trans*- e *cis*-fertárico.

Assim, as diferenças nas concentrações dos derivados do ácido hidroxicinâmico nas safras estudadas entre si e entre os valores relatados na literatura para outras cultivares brancas, decorrem em grande parte dos fatores abióticos (geografia, clima, irrigação, etc.) e bióticos envolvidos que provavelmente influenciaram na biossíntese e acúmulo dos compostos.

Após a obtenção das passas pode-se observar que o ácido *trans*-caftárico, que é o compostos majoritário na uva, sofreu uma redução significativa ($\alpha=0,05$) na sua porcentagem molar para todas uvas passas, exceto a amostra com AOEV de 2014 (CRO14).

As passas obtidas com as uvas pré-tratadas com AOEV apresentaram valores entre 236,48 e 253,70 mg equivalente de ácido caftárico/kg de produto (FW), enquanto as passas elaboradas sem pré-tratamento apresentaram concentrações entre 110,05 e 221,73 mg equivalente de ácido caftárico por kg de produto (FW). Entretanto, o GRP é um produto de degradação dos DAHC, sendo assim, parte do aumento aparente observado na quantificação total dos DAHC se deve a um aumento desse produto de degradação e, conseqüentemente, a uma quantificação da degradação dessa classe de compostos ocasionada pelo processo de secagem.

Dessa maneira, com o intuito de avaliar a retenção dos DAHC nas uvas passas produzidas foi realizada também a quantificação dos DAHC sem a presença do GRP (**Tabela 5**). Com esses novos cálculos foi possível notar que para as três safras (2014, 2015 e 2016), sem o GRP, as passas com AOEV apresentaram melhores retenções de DAHC, 135%, 84% e 251%, respectivamente, em comparação com as passas sem pré-tratamento, 68%, 80% e 115%, respectivamente.

Concentrações de ácidos fenólicos significativamente mais elevadas ($\alpha = 0,05$) em passas quando comparadas as presentes nas uvas utilizadas como matéria-prima foram relatados por Parker *et al.* (2007) e por Serratosa *et al.* (2008) ao avaliarem as alterações nos compostos fenólicos durante o processo de desidratação das cultivares Thompson seedless (secagem solar e “Golden dried grapes”) e *Pedro Ximenez* (secagem solar), respectivamente, bem como por Marquez *et al.* (2012) ao avaliar as alterações em compostos fenólicos para as variedades Merlot e Tempranillo desidratadas em câmara com umidade e temperatura controladas. DU *et al.* (2013), após investigaram o efeito da

secagem ao sol no perfil quantitativo e qualitativo de ácidos fenólicos de quatro formas (livres, ésteres, glicosídeos e insolúveis) presentes na fruta jujuba (*Ziziphus jujuba* Mill), relataram que a distribuição e a concentração de ácidos fenólicos foram alteradas após o processo de secagem e seu comportamento não foi muito claro, por seu conteúdo oscilar entre aumentos e diminuições e que novos estudos devem ser realizados. Williamson e Carughi (2010) relataram que os compostos fenólicos são usualmente menos abundantes nas uvas frescas quando comparado as uvas passas (comparando os resultados em base seca), principalmente porque eles são concentrados e parcialmente modificados durante o processo de desidratação.

No presente estudo, após avaliar o comportamento de retenção/concentração dos DAHC presentes nas uvas das diferentes safras que foram submetidas ao processo de desidratação, foi possível verificar que nas três safras estudadas, as passas com azeite apresentaram concentrações de DAHC (mg equivalente de ácido caftárico por kg de produto (DW)) superiores quando comparado as passas produzidas sem o pré-tratamento, mesmo tendo ocorrido a formação do GRP. Esses resultados foram distintos aos encontrados anteriormente em estudo com a cultivar tinta BRS Morena (OLIVATI *et al.*, 2019), no qual as passas obtidas das uvas sem pré-tratamento apresentaram retenção de 35% enquanto as passas obtidas das uvas submetidas ao pré-tratamento apresentaram retenção de 13%, demonstrando assim que as diferenças no perfil de compostos fenólicos das cultivares e safras estudadas exercem influência no efeito do pré-tratamento sobre a concentração e/ou retenção desses compostos.

Uma possível explicação para variação tão expressiva com relação as retenções de DAHC para as passas produzidas a partir da uva BRS Morena e BRS Clara podem estar relacionada as características bioquímicas da enzima oxidativa polifenol oxidase (PPO) presente nas uvas. Lago-Vanzela *et al.* (2011c), em estudo sobre as características bioquímicas da PPO endógena das uvas BRS Clara e BRS Morena relataram algumas características diferenciadas, embora ambas apresentem pH ótimo de 6, temperaturas de atividade enzimática mais estáveis nas temperaturas entre 20 e 40 °C, bem como significativa perda de atividade a temperaturas maiores que 55 °C.

Desse modo, sugere-se que no início do processo de secagem da uva BRS Clara a PPO pode ter atuado sobre o ácido *trans*-caftárico, utilizando-o

como substrato, para catalisar a reação que resulta na formação do GRP (DA-SILVA, LAGO-VANZELA; BAFFI, 2015; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013). Embora os derivados do ácido hidroxicinâmico sejam facilmente degradados por oxidação enzimática a PPO, provavelmente, esta enzima foi desnaturada com a manutenção da temperatura de secagem a 60 °C, o que minimizou a degradação destes compostos, resultando em perdas pequenas, manutenção e até concentração destes compostos nas uvas passas, devido ao efeito da retirada da água das uvas durante o processo de desidratação. Além disso, com a desidratação ocorre um aumento rápido da concentração de açúcares na baga vem como dos ácidos orgânicos, o que inibe a ação da PPO (OIV, 2016; LAGO-VANZELA *et al.*, 2011c).

Inclusive a influencia do pH sobre a PPO pode ter sido decisivo para obtenção dos resultados obtidos. Lago-Vanzela *et al.* (2011c) relataram que a atividade enzimática da uva BRS Clara reduziu significativamente em pHs entre 2,5 a 4,5 e que neste caso o abaixamento do pH pode ser utilizado como um método para controle de sua ação. Por outro lado, na uva BRS Morena foi relatado uma maior estabilidade da PPO em pHs baixos quando comparada a PPO da uva BRS Clara, sendo que a pH 3,5 a PPO da uva BRS Morena apresentou após 24 horas atividade residual de aproximadamente 85% enquanto a PPO da uva BRS Clara apresentou aproximadamente 40% de sua atividade. (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011c).

Levando em consideração que as uvas *in natura* e uvas passas desenvolvidas a partir delas apresentaram pHs variando entre 3,1 e 3,9 (**Tabela 1**), sugere-se que a PPO da uva BRS Clara não apresentava condições apropriadas para exercer sua função catalítica de forma mais marcante durante o processo de desidratação empregado no presente estudo.

A variabilidade nos valores de retenções de DAHC encontrados, bem como os notáveis valores superiores a 100 % de retenção podem estar relacionados ao grau de alteração da integridade do tecido vegetal, e descompartimentalização das organelas das células vegetais ocasionada pelo processo de desidratação. Isto porque estas alterações podem influenciar não só no desencadeamento das reações físicas, químicas e enzimáticas, mas também na diminuição da coesividade e aumento da flacidez do tecido vegetal,

o que pode facilitar a liberação dos compostos fenólicos durante a extração e resultar em aumento das concentrações destes compostos nas frutas desidratadas em comparação com as frutas frescas (YAO *et al.*, 2020). Nas uvas, os compostos fenólicos, incluindo os ácidos fenólicos, estão principalmente confinados nos vacúolos celulares (ADAMS, 2006; BINDON *et al.*, 2014; GONZÁLEZ-BARREIRO *et al.*, 2015), porém sabe-se que uma parcela destes compostos está ligada aos componentes (polissacarídeos e proteínas) da parede celular por meio de ligações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e ligações covalentes, especialmente os compostos poliméricos como flavan-3-óis e proantocianidinas (AMRANI *et al.*, 1994; PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006). O processo de desidratação empregado no presente estudo pode ter facilitado a extração dos derivados de ácido hidroxicinâmico do tecido vegetal da uva BRS Clara, que associada a provável inativação da PPO presente na uva durante a elevação da temperatura a 60 °C, resultou em uvas passas com elevadas concentrações destes compostos.

5.2.4. Estilbenos

Nas três safras das uvas analisadas, bem como nas uvas passas produzidas com e sem azeite, foram encontradas as formas *cis* e *trans* do composto conhecido como piceído (**Tabela 6**). Estes compostos foram quantificados em função da seleção dos pares de transição (*m/z*) monitorados por varredura utilizando o monitoramento de reações múltipla (MRM), *trans*- e *cis*- piceído (389/227 e 389/185). Os isômeros foram diferenciados e identificados em função do tempo de retenção na coluna cromatográfica por diferenciação de suas formas estruturais, sendo que o composto do tipo *trans*- tem menor tempo de retenção que seu respectivo isômero *cis*-.

Os isômeros *cis* e *trans*-piceído são compostos derivados do *trans*-resveratrol, sendo o *trans*-piceído naturalmente encontrado na uva e, podendo ser isomerizado (sob luz ultravioleta) a seu correspondente isômero *cis* (DA-SILVA; LAGO-VANZELA; BAFFI, 2015).

Tabela 6 - Concentrações dos estilbenos identificados nas amostras de BRS Clara (*in natura*, passa sem azeite e com azeite), quantificação em mg/kg de produto em base seca (DW) e base úmida (FW) (valor médio¹ ± desvio padrão, n = 2).

Estilbeno	pares m/z	mg/kg of produto - DW (mg/kg of produto - FW)								
		CG-14	CRC-14	CRO-14	CG-15	CRC-15	CRO-15	CG-16	CRC-16	CRO-16
<i>trans</i> -piceido	389/227;	4,41b ± 0,85	1,13e ± 0,11	2,96c ± 0,25	2,03d ± 0,11	4,40b ± 0,18	12,38a ± 0,03	0,17f ± 0,09	1,29e ± 0,09	0,57ef ± 0,01
	389/185	1,13 ± 0,22	0,99 ± 0,10	2,58 ± 0,21	0,41 ± 0,03	3,62 ± 0,17	10,33 ± 0,11	0,04 ± 0,01	1,13 ± 0,08	0,50 ± 0,00
<i>cis</i> -piceido	389/227;	0,79cd ± 0,30	0,51d ± 0,00	1,40b ± 0,04	0,86cd ± 0,16	1,47b ± 0,21	5,61a ± 0,24	0,16e ± 0,02	1,19bc ± 0,08	0,67d ± 0,01
	389/185	0,20 ± 0,07	0,45 ± 0,00	1,22 ± 0,03	0,17 ± 0,02	1,21 ± 0,18	4,68 ± 0,24	0,04 ± 0,01	1,05 ± 0,07	0,58 ± 0,01
<i>cis+trans</i> (DW)		5,20bc ± 1,15	1,64ef ± 0,11	4,37c ± 0,29	2,90d ± 0,01	5,87b ± 0,39	17,99a ± 0,28	0,33g ± 0,05	2,48de ± 0,17	1,24fg ± 0,01
<i>cis+trans</i> (FW)		1,33 ± 0,29	1,44 ± 0,11	3,80 ± 0,24	0,59 ± 0,01	4,83 ± 0,35	15,01 ± 0,35	0,09 ± 0,01	2,18 ± 0,15	1,07 ± 0,01

¹a, b, c, d: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que as amostras diferem estatisticamente (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, α = 0, 05). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Assim como em estudo anterior com a mesma cultivar, outros estilbenos comumente presentes em uvas (e.g., resveratrol, pterostilbene, piceatannol, viniferins, pallidol, parthenocissin, hopeaphenol) também foram investigados, entretanto não foi encontrada nenhuma evidencia de sua presença (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). Independentemente desse fato, vale ressaltar que a literatura aponta que em uvas o principal estilbeno presente é o piceido, com sua concentração variando de 1 à 100 mg/Kg – DW (KAMMERER *et al.*, 2004; PIANO *et al.*, 2013; WATERHOUSE; LAMUELA-RAVENTÓS, 1994).

Para as uvas *in natura* das safras de 2014 e 2015, o *trans*-piceido foi o composto com maior concentração, já para a safra de 2016, *trans*- e *cis*-piceido se mostraram em concentrações quase iguais (0,17 e 0,16 mg/kg de produto - DW). Em relação a concentração total de estilbenos encontrados nas amostras estudadas, a safra de 2014 apresentou maior concentração, seguida pelas safras de 2015 e 2016, respectivamente.

As diferenças nas concentrações de estilbenos entre as safras estudadas são aceitáveis uma vez que o acúmulo desta classe de compostos é afetado não somente pelo genótipo, mas também por fatores ambientais e de condução da cultura, estágio de maturação, condições climáticas, tipo de solo, manejo agrônomo, condições de armazenamento e manejo pós-colheita (BŁASZCZYK; SADY; SIELICKA, 2019; LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a). Assim como infecção por *Botrytis cinérea* e *Rhizopus stolonifer*, iluminação UV-C, aplicação de ozônio são relatados como fatores que influenciam a síntese dos estilbenos (GUERRERO *et al.*, 2010).

Na via biossintética dos estilbenos, a enzima estilbeno sintase (STS) pode utilizar o 4-*p*-cumaroil-CoA somado a 3 moléculas de malonil-CoA como substrato para catalisar três reações de condensação que resultam na formação do resveratrol, o qual por meio da ação da enzima glicosiltransferase (GT) pode produzir glicosídeos de *cis* e *trans*-resveratrol (*cis* e *trans*-piceido) (FLAMINI *et al.*, 2013; JEANDET *et al.*, 2010). Desse modo, ao observar os resultados das três safras de BRS Clara estudadas, pode-se supor que nessa cultivar há uma maior ação da enzima GT, uma vez que em todas as safras foi detectada somente a presença de *cis*- e *trans*-piceido, sendo essa ação provavelmente mais pronunciada na safra de 2014 a qual teve maior concentração total de estilbenos.

Com relação as passas produzidas, nas sem pré-tratamento, o *trans*-piceido foi o estilbeno em maior concentração nas três safras estudadas. Para a safra de 2014, o *trans*-piceido encontrou-se em uma concentração significativamente inferior ($\alpha = 0,05$) a encontrada nas uvas *in natura* da mesma safra, enquanto o *cis*-piceido apresentou-se em concentrações significativamente superiores ($\alpha = 0,05$) a encontrada nas uvas *in natura*.

Já para as safras de 2015 e 2016, houve retenção de ambos os compostos, entretanto, independentemente das concentrações dos estilbenos encontradas para as uvas passas sem azeite, pode-se notar que o comportamento foi similar nas safras de 2015 e 2016, onde o processo de secagem promoveu uma retenção dos estilbenos, sendo esta mais pronunciada para o *trans*-piceido.

Com relação as uvas passas submetidas ao pré-tratamento com AOVE, assim como nas passas sem pré-tratamento, independentemente da degradação ou concentração desses compostos, o *trans*-piceido, foi o principal estilbeno encontrado nas uvas passas, a exceção da safra de 2016, onde o *cis*-piceido se apresentou em concentração superior ao seu isômero *trans*.

A literatura indica que o *trans*-piceido é mais estável que seu isômero *cis*. Em estudo sobre a estabilidade destes compostos, Zupancic, Lavric e Kristl (2015), relataram que o *trans*-resveratrol é mais estável em condições ácidas e que, nestas condições, a temperatura tem um mínimo efeito sobre a degradação, entretanto, em condições alcalinas, a elevação da temperatura acelera os processos degradativos envolvendo este composto.

Após realizar a soma dos isômeros *cis* e *trans* para a classe dos estilbenos e comparar os resultados entre as amostras foi possível verificar que as concentrações totais (em mg equivalentes de *trans*-piceido/kg de produto DW) das passas com AOEV encontram-se em concentrações significativamente superiores as encontradas para a uva passa sem pré-tratamento. Estes resultados demonstram que o pré-tratamento das uvas com azeite foi benéfico para a classe dos estilbenos.

Por fim, pode-se observar que alguns compostos fenólicos se encontram menos abundantes nas uvas *in natura* quando comparado as uvas passas (resultados em base seca), principalmente porque eles são concentrados e parcialmente modificados durante o processo de desidratação. Após análise dos

dados de perfil qualitativo e quantitativo das uvas passas elaboradas a partir da cultivar BRS Clara (safras 2014, 2015 e 2016) sem e com tratamento com AOEV, concluiu-se que o pré-tratamento com AOEV foi, de maneira geral, benéfico para o processo de desidratação da uva ao manter ainda uma elevada concentração de compostos fenólicos, além de permitir uma redução significativa no tempo de secagem. Deste modo, esse foi o processamento escolhido para a produção das uvas passas que foram posteriormente utilizadas como núcleo natural para compor os drageados de chocolate.

5.3. Drageados de uva passa BRS Clara com chocolate meio amargo

5.3.1. Obtenção dos drageados

Para a elaboração dos drageados de chocolate contendo passas é importante que o núcleo escolhido tenha uma umidade inferior a 18%, afim de minimizar a migração de umidade do núcleo para a superfície do chocolate (FADINI; SILVA; QUEIROZ, 2016). Desta forma, duas porções das uvas passas selecionadas para o drageamento (BRS Clara – com azeite – safra 2016), que apresentavam valor médio de umidade (13%), foram submetidas ao drageamento com chocolate meio amargo, obtendo, ao final do processo de drageamento, duas porções de drageados de chocolate com núcleos de uva passa com azeite de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2).

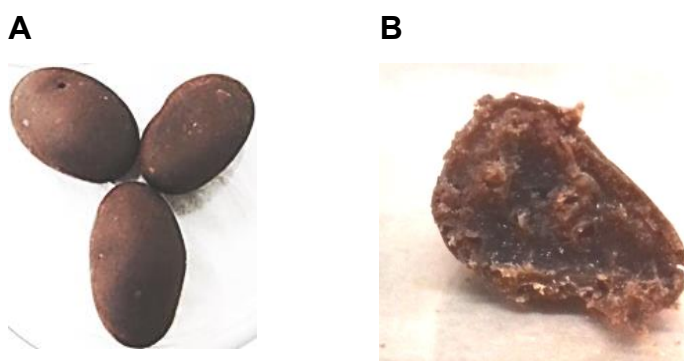
Após o drageamento com chocolate meio amargo, os produtos finais obtiveram características visuais e ganho de massa e adequados a esse tipo de produto. Na **Tabela 7** estão apresentados os valores de massa desde a matéria-prima até o produto final, sendo que estes obtiveram um ganho de massa em relação a matéria-prima inicial (uvas passas) de aproximadamente 100%, na **Figura 20 'a' e 'b'** estão apresentados os drageados produzidos com as uvas passas de BRS Clara.

Pela **Tabela 8** pode-se observar que, em comparação com os mesmos resultados determinados na uva passa utilizada como núcleo natural (**Tabela 1**), os drageados produzidos apresentaram valores superiores para pH, tamanho (comprimento x largura) e massa e, por outro lado, valores inferiores para umidade e acidez.

Tabela 7 - Dados de ganho de massa no processo de drageamento.

Matéria-prima	Massa		Massa		Massa final	
	inicial	matéria-prima (núcleos) (g)	após dos	selagem núcleos (g)	após drageamento com	chocolate meio-amargo (g)
BRS Clara – 1		400,48		436,11		865,39
BRS Clara – 2		400,13		432,33		865,24

Fonte: elaborada pela autora (2020).

Figura 20 – Drageados de uva passa com chocolate da cultivar BRS Clara (A) drageado inteiro (B) corte transversal.

Fonte: elaborada pela autora (2017).

Estes resultados estão consonantes ao processamento aplicado, uma vez que o drageamento foi responsável por um ganho de 100% de massa nas uvas passas devido a aplicação do chocolate, esperando assim que no produto final houvesse uma combinação das características de ambas matérias-primas. Além disso, pode-se notar também que não houve diferenças significativas para nenhuma das características físicas e químicas entre os drageados avaliados.

Para a umidade, por exemplo, os resultados obtidos (CRD-1: 9,16% $\pm$ 0,004; CRD-2: 9,14% $\pm$ 0,002) foram próximos aos relatados na literatura para outras frutas drageadas com chocolate, como por exemplo para cerejas drageadas com chocolate (8,93% $\pm$ 0,01) e figos drageados com chocolate (7,78% $\pm$ 0,01) (KITA; LACHOWICZ; FILUTOWSKA, 2020), estando portanto dentro do esperado para este tipo de produto.

Tabela 8 - Características físicas e químicas para os drageados de uva passa com chocolate produzidos (média³ ± desvio padrão).

Determinações	CRD -1	CRD - 2
Comprimento (cm)	2,25a ± 0,13	2,13a ± 0,04
Largura (cm)	1,38a ± 0,17	1,58a ± 0,17
Massa (g)¹	2,66a ± 0,17	2,91a ± 0,55
pH	4,45a ± 0,11	4,53a ± 0,07
Acidez ²	1,23a ± 0,15	1,19a ± 0,04
Umidade % (m/m)	9,16a ± 0,004	9,14a ± 0,002

¹Abreviações: cm, centímetros; g, gramas. ²Acidez em g ácido tartárico/100g de produto. ³a: letra minúscula igual na mesma linha indicam que as amostras não diferem estatisticamente para uma mesma característica física ou química (teste de *t* de Student, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

5.3.2. Perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos nos drageados por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

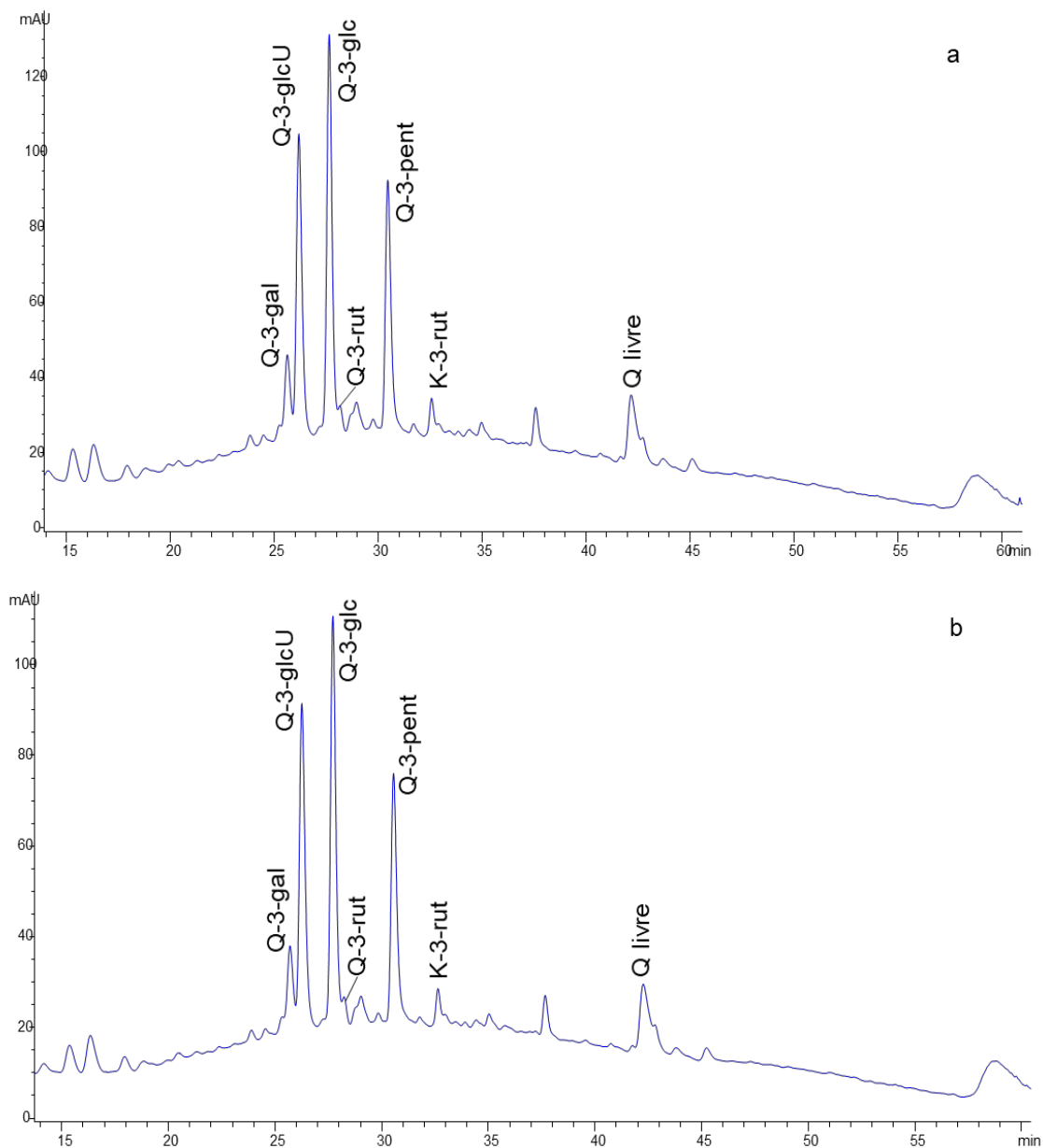
5.3.2.1. Flavonóis

Nas amostras de drageados BRS Clara (safra 2016) foram detectados 6 flavonóis monoglicosilados e uma aglicona livre, totalizando 7 flavonóis (**Figura 21a** e **21b**). Dentre os flavonóis encontrados o pentósido de quercetina (Q-3-pent) e o rutinósido de kaempferol (K-3-rut) foram detectados somente nos drageados, não estando presente na uva passa utilizada como núcleo do drageado. Vale ressaltar ainda que também não foram detectados nenhum flavonol do tipo trissubstituído no anel B. As características espectrais (íon molecular e íons produtos com ESI-MSⁿ), proporções molares médias para os flavonóis individuais, bem como as concentrações totais nos drageados e na uva passa antecessora do mesmo encontram-se presentes na **Tabela 9**.

Do mesmo modo que para as uvas *in natura* e passas, a identificação dos compostos Q-3-gal e Q-3-glc, nos drageados, foi baseada nos seus sinais ESI-MS/MS correspondentes aos íons pseudomoleculares ([M-H]⁻) de *m/z* de 463, seguido por seus íons produtos (*m/z* de 301), gerados pela perda de um fragmento de hexose para ambos derivados 3-glucosídeos e 3-galactosídeos ([M-162-H]⁻), sendo que sob as condições cromatográficas utilizadas, os

derivados 3-galactosídeo sempre eluem antes de seus respectivos derivados 3-glicosídeos (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2009a).

Figura 21 - Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para os flavonóis presentes nos drageados de uva passa com AOEV de BRS Clara – CRD-1 (a), CRD-2 (b). Detecção a 360 nm.



Fonte: elaborado pela autora (2020)

Tabela 9 - Características espectrais (MS/MS) dos flavonóis identificados nas amostras de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e da uva passa utilizada como núcleo (CRO-16) por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 3) e concentração total (expressa em mg equivalente de quercetina-3-glicosídeo (mg Q-3-glc)).

Flavonol	Deprotonated molecule and product ions (<i>m/z</i>)	Molar ratios (%) ¹		
		CRO-16	CRD-1	CRD-2
Q-3-gal	463; 301	3,39b ± 0,90	5,70a ± 0,75	5,23a ± 0,44
Q-3-glcU	477; 301	48,97a ± 3,13	24,05b ± 0,97	24,08b ± 1,53
Q-3-glc	463; 301	36,15a ± 4,30	30,52a ± 1,49	29,44a ± 2,13
Q-3-rut	609; 301	4,17a ± 0,04	2,07b ± 0,19	1,81b ± 0,31
Q-3-pent	433;301	ND	23,00a ± 1,35	21,64a ± 1,53
K-3-rut	593; 285	ND	2,19a ± 0,35	1,95a ± 0,22
Q livre	301	7,32a ± 2,03	12,47a ± 4,50	15,85a ± 5,67
Total (mg Q-3-glc/ Kg product DW)		60,96a ± 28,35	32,92a ± 10,73	34,65a ± 7,16
Total (mg Q-3-glc/ Kg product FW)		54.84 ± 8.89	28.33 ± 9.18	29.32 ± 5.76

Abreviações: DW, base seca; FW, base úmida; glcU, glucuronido; gal, galactósido; glc, glicósido; K, kaempferol; ND, não detectado; Q, quercetina; rut, rutinósido (6"-ramnosilglucosídeo); ¹Proporções molares calculadas totalizando 100%. ² "a" e "b" letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (Student-Newman-Keuls (SNK) test, $\alpha = 0.05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Os compostos Q-glcU, Q-rut e K-rut, foram identificados baseados em seus sinais ESI-MS/MS correspondentes aos íons pseudomoleculares ($[M-H]^-$) de *m/z* de 477 e 609 para os derivados do flavonol tipo quercetina e 593 para o do tipo kaempferol e seus íons produtos (*m/z* de 301 e 285, respectivamente), gerados pela perda de um fragmento de *m/z* de 176 correspondente a molécula de ácido glucurônico ligado a aglicona e, de um de *m/z* 308 corresponde a molécula 3-O-(6"-raminosil)-glicosídeo (rutina).

Além dos compostos mencionados, foi identificado também, somente nos drageados, a Q-3-pent, por meio do sinal ESI-MS/MS correspondentes ao íons pseudomolecular ($[M-H]^-$) de *m/z* de 433 e seu íon produto (*m/z* de 301), gerado pela perda de um fragmento de *m/z* de 132, correspondente a uma molécula de pentose. A literatura relata de ampla forma a presença do pentósido de quercetina e rutinósido de kaempferol no cacau e em seus derivados (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011b; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; ORTEGA *et al.*, 2008; TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007;

WANG *et al.*, 2017; WOLLGAST, 2004). Portanto, pode-se dizer que a presença de tais compostos nas amostras de drageados foi uma contribuição direta, no perfil de flavonóis, do chocolate aplicado como cobertura das uvas passas no drageamento.

Quanto as porcentagens molares para cada flavonol, pode-se notar um aumento significativo ($\alpha = 0,05$) de Q-3-gal e um aumento em valor médio absoluto para a aglicona de quercetina (Q livre), que podem ser atribuídos a cobertura das uvas passas com o chocolate, uma vez que esses compostos, mesmo que em pequenas quantidades são encontrados no cacau e em seus derivados (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011b; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; ORTEGA *et al.*, 2008; TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2017; WOLLGAST, 2004). Foi possível notar também uma redução significativa ($\alpha = 0,05$) nas porcentagens molares de Q-3-glcU e Q-3-rut, apesar desses compostos estarem normalmente presentes em produtos derivados do cacau, como o chocolate (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011b; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; ORTEGA *et al.*, 2008; TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2017; WOLLGAST, 2004). Quanto a concentração total de flavonóis, foi possível notar uma redução nos valores médios absolutos obtidos para os drageados frente ao valor da uva passa utilizada como núcleo natural (**Tabela 9**).

Não se tem conhecimento até o atual momento de estudos de perfil fenólico detalhado, que abranjam a classe dos flavonóis, para produtos de cacau ou chocolate com frutas desidratadas. É possível notar, pela literatura existente, que a Q-3-pent foi apontado como principal flavonol nesses produtos com cacau, seguido pelo Q-3-glc e menores quantidades dos demais derivados de quercetina e kaempferol. Por exemplo, Orazz, Zyzelewicz e Nebesny (2015), em estudo sobre o efeito da etapa de torrefação no conteúdo individual de flavon-3-óis, antocianinas e flavonóis em grãos de cacau de cinco grupos diferentes de *Theobroma cacao* L., obtiveram as seguintes faixas de concentração para os compostos derivados de quercetina: Q-3-pent, 43,32 à 170,82 mg/kg em base seca desengordurado (ff-DW); Q-3-glc, 34,90 à 125,80 mg/kg (ff-DW); Q-3-gal, 9,57 à 33,84 mg/kg (ff-DW); e, Q-livre, 0,60 à 2,79 mg/kg (ff-DW). Já Andres-Lacueva *et al.* (2008), em estudo com cacau em pó comercial, relataram valores entre 2,10 à 40,33 mg/kg para Q-3-pent; 3,97 à 42,74 mg/kg para Q-3-glc; 0,13

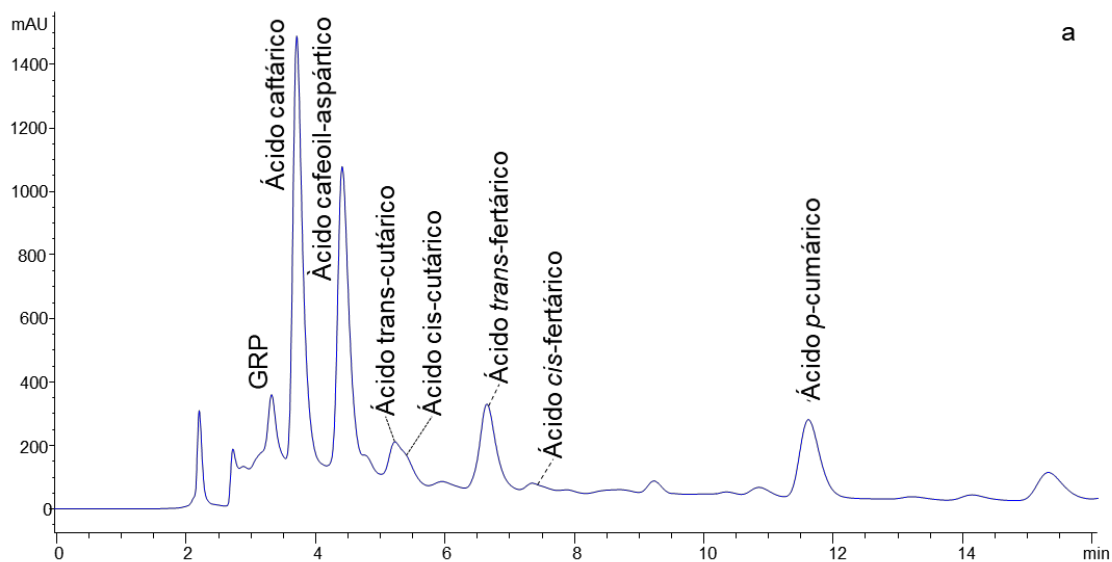
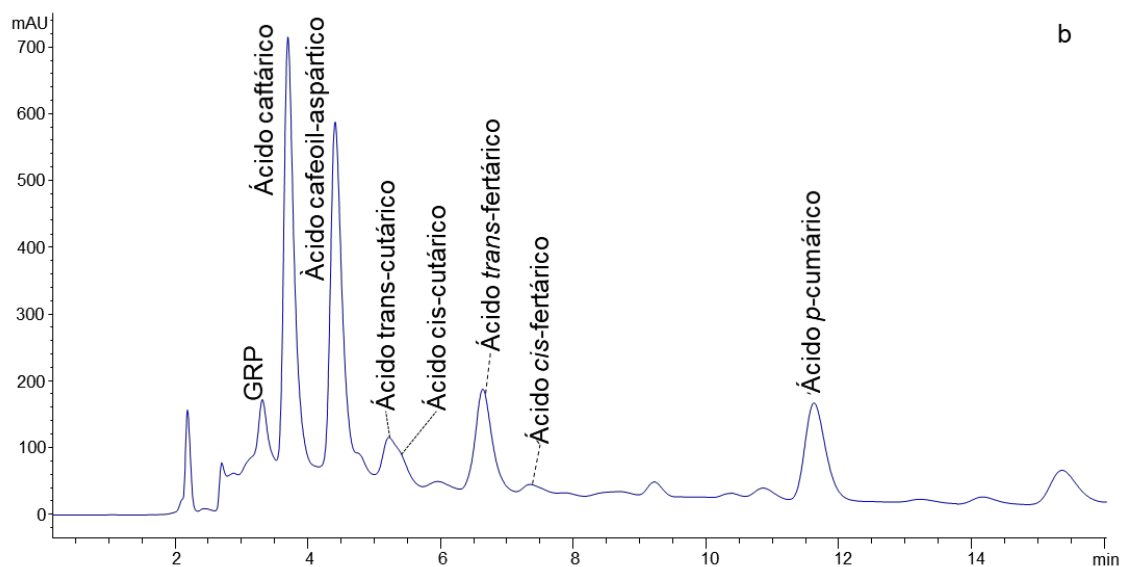
à 9,88 mg/kg para Q-3-glcU; e, 0,28 à 3,25 mg/kg para Q livre. Já Martini, Conte e Tagliazucchi, (2018), em estudo do perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos em chocolate amargo (70% cacau) e chocolate amargo enriquecido com folhas de chá verde Sakura ou açafão em pó, obtiveram valores de Q-3-pent entre 28,0 e 41,5 mg/kg; Q-3-glc entre 19,6 e 30,5 mg/kg; Q-3-gal entre 4,9 e 24,4 mg/kg; Q-3-rut entre 0,0 e 42,0 mg/kg; Q livre entre 10,8 e 16,2 mg/kg; e, K-3-glc entre 0,0 e 3,7 mg/kg.

Deve-se ressaltar que os dados referidos acima são de chocolate puro. No presente estudo, aproximadamente, metade da massa do drageado é composta por chocolate e metade é composta por uvas passas. O chocolate não é uma fonte rica de flavonóis (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a) e então é compreensível que a concentração destes compostos determinada nos drageados seja menor quando comparada a determinada nas passas utilizadas como os núcleos naturais. Na literatura encontra-se alguns trabalhos de chocolate enriquecidos com fontes de compostos fenólicos. Martini, Conte e Tagliazucchi (2018), observaram concentrações totais de flavonóis de $13,01 \pm 0,21\text{mg}/100\text{g}$, $29,28 \pm 0,39\text{mg}/100\text{g}$ e $11,40 \pm 0,48\text{mg}/100\text{g}$, para chocolate amargo (70% cacau), chocolate enriquecido com folhas de chá verde Sakura e chocolate amargo enriquecido com açafão em pó, respectivamente. Andres-Lacuenva *et al.* (2008) relataram concentrações totais de flavonóis que abrangeram de 0,42 à 6,54 mg/100 g em equivalentes de quercetina para pós de cacau, e Oracj, Zyzelewicz e Nebesny (2015), para os grãos de cacau dos cinco grupos diferentes de *Theobroma cacao L.*, obtiveram concentrações de flavonóis totais variando de 89,29 à 315,81 µg/g.

5.3.2.2. Derivados do Ácido Hidróxicinâmico

Nas amostras de drageados foram detectados 8 derivados do ácido hidroxicinâmico (DAHC) (**Figuras 22a e 22b e Tabela 10**). Destes compostos, 6 já se encontravam presentes na uva passa utilizada como núcleo do drageado (GRP, ácido *trans*-caftárico, os ácidos *cis*- e *trans*-cutárico e os ácidos *cis*- e *trans*-fertárico).

Figura 22 - Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para DAHC e estilbenos presentes nos drageados de uvas passas de BRS Clara, CRD 1 (a) e CRD 2 (b). Detecção a 320 nm.



Fonte: elaborada pela autora (2020)

Tabela 10 - Características espectrais (MS/MS) dos DAHC identificados nas amostras de uva passa de BRS Clara com azeite e seus drageados por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio² ± desvio padrão, n = 3) e concentração total (mg equivalente de ácido caftárico).

íon molecular e íons produtos (m/z)	DAHC ¹	proporções molares (%)		
		CRO-16	CRD-1	CRD-2
618;543;489;264	GRP	8,82a ± 1,57	5,13b ± 1,18	5,10b ± 1,16
311;179;149;135	ác. <i>trans</i> -caftárico	69,40a ± 4,14	28,29b ± 4,72	29,59b ± 2,58
294; 179; 131	ác. cafeoil aspartico	ND	26,32a ± 1,00	24,58a ± 2,94
295;163;149;119	ác. <i>trans</i> -cutárico	7,62a ± 0,86	3,41b ± 0,36	3,61b ± 0,25
295;163;149;120	ác. <i>cis</i> -cutárico	5,41a ± 0,76	2,51b ± 0,19	2,61b ± 0,10
325; 193;149	ác. <i>trans</i> -fertárico	5,51b ± 0,93	14,17a ± 2,53	13,06a ± 1,40
325; 193;149	ác. <i>cis</i> -fertárico	3,23a ± 0,33	2,60a ± 1,30	2,27a ± 0,30
325; 163, 145, 119, 117	ác. <i>p</i> -cumárico	ND	17,56a ± 3,98	19,17a ± 5,27
Total DAHC (mg/kg de produto - DW)		285,67a ± 28,02	128,04b ± 73,57	107,84b ± 51,15
Total DAHC (mg/kg de produto - FW)		129.36 ± 71.31	73.12 ± 44.40	62.16 ± 30.10

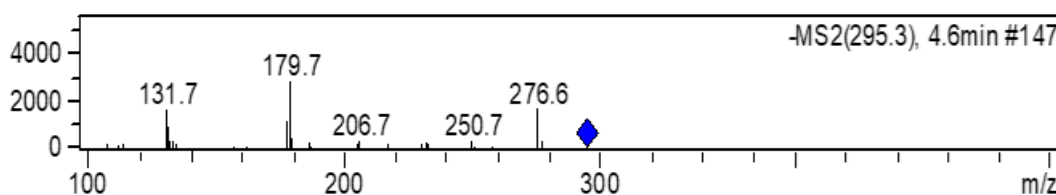
¹Abreviação da nomenclatura: GRP, ácido 2-S-glutationil-caftárico. ²a, b: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que as amostras diferem estatisticamente entre si (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0, 05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Assim como para as uvas *in natura* e passas, a identificação dos compostos acima citados, exceto o GRP, foi realizada com o auxílio dos respectivos cromatogramas de íons extraídos (EIC), no modo de ionização negativo, observados no espectro MS/MS e foram confirmados pelos seus espectros obtidos no UV-Vis-DAD, que estão de acordo com os dados disponíveis na literatura (LAGO-VANZELA *et al.*, 2011a; REBELLO *et al.*, 2013b). Sendo que os derivados do tipo caftárico, *trans*- e *cis*-cutárico, e *trans*- e *cis*-fertárico apresentaram íons pseudomoleculares [M-H]⁻ de m/z 311, 295, 295 e 325 e íons produtos derivados da perda da parte do ácido tartárico (132 μ), de m/z 179, 163, 163 e 193, respectivamente, e com formação do íon fragmento do ácido hidroxicinâmico correspondente de m/z 135, 119, 120 e 149, devido à perda do dióxido de carbono (CO₂; 44 μ) a partir do ácido hidroxicinâmico ionizado anteriormente, além disso, apresentaram um íon

produto em comum (m/z 149) em função da perda da parte do ácido hidroxicinâmico. Já a identificação do GRP foi realizada no modo de ionização positivo, sendo que a principal fragmentação detectada foi a formação do íon pseudomolecular $[M+H]^+$ de m/z 618, e como principal fragmentação o íon produto de m/z 264.

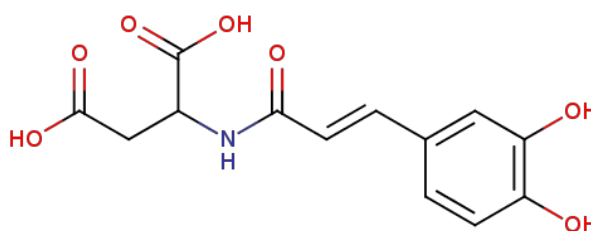
Além dos derivados do ácido hidroxicinâmico acima citados, foi também detectada, nas amostras de drageados, a presença do ácido *p*-cúmarico, o qual foi identificado por meio da detecção do seu íon pseudomolecular $[M-H]^-$ de m/z 325. Ainda para as amostras de drageados foi identificado tentativamente, no min 4,6 à 320 nm, baseado no padrão de fragmentação observado (**Figura 23**) e utilizando dados disponíveis na literatura (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007), o ácido cafeoil-aspartico (**Figura 24**).

Figura 23 - Padrão de fragmentação observado para o ácido cafeoil-aspartato nas amostras de drageados.



Fonte: elaborada pela autora (2020)

Figura 24 - Estrutura química do ácido cafeoil-aspartico



Fonte: Adaptado de CAFFEYOYL ASPARTIC ACID STRUCTURE, (2002)

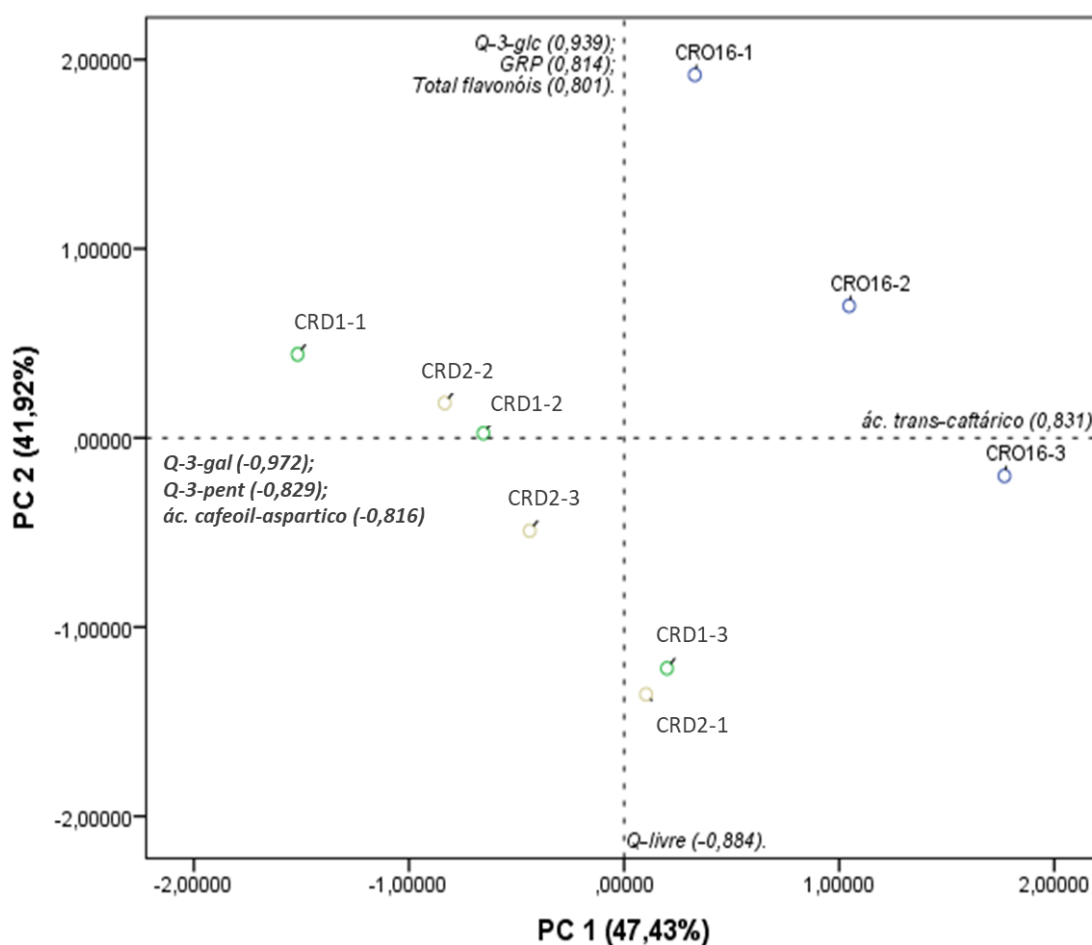
A presença desse ácido já foi relatada previamente na literatura para cacau em pó (TOMAS-BARBERÁN *et al.*, 2007; VINHOLES; SILVA; SILVA, 2015), bebida de chocolate ao leite (VINHOLES; SILVA; SILVA, 2015), e

chocolate amargo (70% cacau), chocolate amargo (70% cacau e 8% açafrão em pó) e chocolate amargo (70% cacau e 2% chá verde Sakura) (MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018). Fator que reforça a evidência da presença desse composto nas amostras de drageados.

O ácido *trans*-caftárico foi o DAHC predominante em todas as amostras (**Tabela 10**), seguido pelo ácido cafeoil aspartato nos drageados. Mesmo tendo sido o DAHC predominante em todas as amostras, o ácido *trans*-caftárico sofreu diminuição significativa em sua proporção molar. Mesmo comportamento ocorreu com os ácidos *cis*- e *trans*-cutárico e o GRP, nesse último composto, a redução da proporção molar do GRP nos drageados é diretamente influenciada pela massa de uva passa contida nos drageados, uma vez que o processo de drageamento promoveu um aumento de peso de 100% na massa em comparação com a massa de uva passa utilizada como núcleo (**Tabela 7**). Portanto, por se tratar de um produto de degradação de uvas, era esperado que a proporção molar de GRP nos drageados diminuísse em relação a uva passa utilizada como núcleo.

Tal como descrito anteriormente para os flavonóis, as concentrações totais de derivados do ácido hidroxicinâmico determinadas nos drageados foram significativamente menores ($\alpha = 0,05$) quando comparado apenas as uvas passas utilizadas como núcleos naturais, uma vez que o chocolate não é uma fonte rica desta classe de composto (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a). Na literatura, Martini, Conte e Tagliazucchi (2018), ao avaliar o perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos em chocolate (70% cacau) e chocolate enriquecido com folhas de chá verde Sakura ou açafrão em pó, observaram conteúdos médios totais de derivados do ácido hidroxicinâmico de 1619,5 mg/kg, 1579,8 mg/kg e 1565,1 mg/kg, respectivamente.

Mesmo o chocolate não sendo fonte muito elevada de flavonóis e DAHC, pela análise de componentes principais (ACP) (**Figura 25**) foi possível reforçar quais compostos estão diferenciando passas utilizadas como núcleos naturais dos drageados de chocolate produzidos com estas passas, exceto DC1-3 e DC2-1.

Figura 25 - ACP para a classe de Flavonóis e DAHC.

Fonte: elaborada pela autora (2020)

As amostras de drageados se diferenciaram das amostras de uvas passas em PC 1 (47,43%), caracterizando os drageados pelas porcentagens molares de Q-3-gal, Q-3-pent e ácido cefeoil aspartico (dados apresentados nas **Tabelas 9 e 10**). O ácido cefeoil aspartico e o pentósido de quercetina foram encontrados apenas nas amostras de drageados, não estando presentes nas uvas passas, sendo, portanto, uma clara contribuição do chocolate utilizado no drageamento no perfil fenólico dos produtos produzidos. Do mesmo modo, a caracterização das uvas passas pela porcentagem molar de ácido *trans*-caftárico é condizente com a **Tabela 10**, uma vez que esse é o composto majoritário dessas amostras e em porcentagens superiores quando comparado as determinadas nos drageados produzidos.

5.3.2.3. Estilbenos

Em ambos drageados produzidos, assim como nas uvas passas utilizadas como núcleo dos mesmos foram encontradas as formas *cis* e *trans* do composto conhecido como piceído, os quais são compostos derivados do *trans*-resveratrol (**Tabela 11**). Assim como para as uvas *in natura* e passas, os compostos foram quantificados em função da seleção dos pares de transição (*m/z*) monitorados por varredura utilizando o monitoramento de reações múltipla (MRM), *trans*- e *cis*- piceído (389-227 e 389-185). Estes compostos, uma vez que são isômeros foram diferenciados e identificados em função do tempo de retenção na coluna cromatográfica por diferenciação de suas formas estruturais, sendo que o composto do tipo *trans*- tem menor tempo de retenção que seu respectivo isômero *cis*-.

Tabela 11 - Características espectrais (MS/MS) dos estilbenos identificados nas amostras de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16), quantificação em mg/kg de produto em base seca (valor médio¹ ± desvio padrão, n = 3).

Estilbeno	pares <i>m/z</i>	mg/kg de produto - DW; (mg/kg de produto - FW)		
		CRO-16	CRD-1	CRD-2
<i>trans</i> -piceído	389/227; 389/185	0,59a ± 0,03 (0,51 ± 0,02)	0,40a ± 0,13 (0,36 ± 0,12)	0,39a ± 0,02 (0,35 ± 0,02)
<i>cis</i> -piceído	389/227; 389/185	0,67a ± 0,01 (0,59 ± 0,01)	0,17b ± 0,02 (0,16 ± 0,01)	0,18b ± 0,01 (0,16 ± 0,00)
cis+trans (mg/kg de produto – DW)		1,26a ± 0,04	0,57b ± 0,15	0,57b ± 0,01
<i>cis+trans</i> (mg/kg de produto – FW)		1,10 ± 0,04	0,52 ± 0,14	0,52 ± 0,01

¹a, b: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa no conteúdo para amostras (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Observando a **Tabela 11** é possível notar que a variação entre os valores de *trans*-piceído não teve uma diferença significativa ($\alpha = 0,05$) entre as amostras, por outro lado, seu isômero *cis*- sofreu uma diminuição significativa ($\alpha = 0,05$) na sua concentração. A manutenção da concentração do composto *trans*-piceído em comparação com a uva passa utilizada como núcleo dos

drageados produzidos pode ser justificada não somente à sua maior estabilidade frente ao seu isômero *cis*-, como também por ser um composto que está presente no cacau e produtos derivados como o chocolate (COUNET; CALLEMIEN; COLLIN, 2006).

Hurst *et al.*, (2008) ao avaliarem os níveis de *trans*-piceído em chocolate e produtos com cacau comerciais, encontraram concentrações médias de $1,82 \pm 0,36$ mg/kg em chocolates amargos e de $0,44 \pm 0,06$ mg/kg em chocolate ao leite, valores esses superiores aos encontrados nesse estudo para os drageados de uva passa com chocolate produzidos. Novamente, assim como para as outras classes de compostos fenólicos, essas diferenças podem ser atribuídas a fatores relacionados às metodologias aplicadas pelos estudos, influencia genética e edafoclimática nos chocolates utilizados e processos tecnológicos envolvidos no desenvolvimento dos produtos avaliados (WOLLGAST; ANKLAM, 2000), dentre os quais, podemos citar que os drageados avaliados possuem uma proporção de 50% m/m de chocolate em relação à uva passa.

5.3.2.4. Flavan-3-óis e Proantocianidinas

Cinco flavan-3-óis monômeros ((+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina, (-)-galocatequina e (-)-epicatequina 3-galato) foram detectados nas amostras de drageados e nas uvas passas utilizadas como núcleo natural (**Tabela 12**). Os pares de transição (*m/z*) monitorados por varredura utilizando o monitoramento de reações múltipla (MRM) e os compostos que foram quantificados em função desta seleção dos pares de transição estão descritos a seguir: (+)-catequina e (-)-epicatequina (289/137; 289/164); procianidinas B1, B2 e B4 (577/425; 577/407); (-)-epigallocatequina e (-)-galocatequina (305/109; 305/137) e (-)-epicatequina 3-galato (441/245; 441/289).

Dentre os monômeros encontrados a (+)-catequina (C) foi o monômero majoritário na uva passa, enquanto a (-)-epicatequina (EC) foi o monômero majoritário nos drageados. Pode-se ainda observar que o drageamento com chocolate proporcionou um aumento significativo de todos os monômeros encontrados, exceto a (-)-epicatequina-3-galato.

Esses resultados estão de acordo com o esperado, uma vez que a literatura relata que a classe dos flavan-3-óis é a principal classe de compostos fenólicos para chocolates e produtos derivados do cacau (ANDRES-LACUEVA *et al.*, 2008; BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2015; BELŠČAK *et al.*, 2009; EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; TODOROVIC *et al.*, 2015b; WOLLGAST; ANKLAM, 2000).

Tabela 12 - Concentrações dos flavan3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) nos drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16) (mg equivalentes de catequina/ kg de produto; valor médio² ± desvio padrão, n = 3).

Flavan-3-óis - monômeros	pares m/z	Mg equivalentes em catequina/kg de produto – DW; (mg/kg de produto FW)		
		CRO-16	CRD-1	CRD-2
(+)-catequina	289/137; 289/164	10,12b ± 5,02 (8,77 ± 4,34)	60,23a ± 8,60 (54,71 ± 7,82)	57,42a ± 1,90 (52,17 ± 1,73)
(-)-epicatequina	289/137; 289/164	3,46b ± 1,89 (3,00 ± 1,64)	117,86a ± 13,80 (107,06 ± 12,53)	117,66a ± 4,55 (106,90 ± 4,13)
(-)-galocatequina	305/109; 305/137	0,40a ± 0,10 (0,35 ± 0,09)	0,38a ± 0,08 (0,35 ± 0,07)	0,30a ± 0,09 (0,27 ± 0,08)
(-)- epigalocatequina	305/109; 305/137	0,16b ± 0,10 (0,14 ± 0,09)	0,30b ± 0,13 (0,27 ± 0,12)	0,52a ± 0,09 (0,47 ± 0,08)
(-)-epicatequina-3- galato	441/245; 441/289	0,87a ± 0,18 (0,76 ± 0,15)	0,14b ± 0,05 (0,13 ± 0,05)	0,17b ± 0,03 (0,16 ± 0,03)
Total monômeros (mg eq. catequina/kg produto, DW¹)		21,19b ± 11,70	253,24a ± 29,70	251,13a ± 5,10
Total monômeros (mg eq. de catequina/kg produto FW)		(18,37 ± 10,12)	(230,05 ± 26,98)	(228,17 ± 4,64)
Flavan-3- óis dímeros	pares m/z	CRO-16	CRD-1	CRD-2
Procianidina B1	577/425; 577/407	19,06a ± 7,04 (16,53 ± 6,08)	10,16a ± 2,61 (9,23 ± 2,38)	10,37a ± 1,16 (9,43 ± 1,06)
Procianidina B2	577/425; 577/407	10,06b ± 6,19 (8,72 ± 5,36)	208,76a ± 30,31 (189,65 ± 27,53)	209,74a ± 12,31 (190,57 ± 11,18)
Procianidina B4	577/425; 577/407	11,94b ± 7,30 (10,35 ± 6,36)	247,76a ± 35,97 (225,07 ± 32,68)	248,92a ± 14,61 (226,16 ± 13,27)
Total dímeros (mg eq. de catequina/kg produto, eq. DW)		26,80b ± 12,72	263,50a ± 39,90	263,83a ± 15,37
Total dímeros (mg eq. de catequina/kg produto, FW)		(23,23 ± 10,99)	(239,37 ± 36,25)	(239,71 ± 13,97)
Total (mg eq. de catequina/kg produto, DW)		47,99b ± 24,36	516,73a ± 68,70	514,97a ± 20,34

Total (mg eq. de catequina/kg produto, FW)	(41,60 ± 21,07)	(469,41 ± 62,41)	(467,88 ± 18,49)
---	------------------------	-------------------------	-------------------------

¹Abreviações: DW, base seca; ²a, b: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa na concentração para amostras (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0, 05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

Também pode-se afirmar, com base na literatura, que era esperado para os drageados que o principal monômero de flavan-3-óis fosse a (-)-epicatequina (EC), seguida pela (+)-catequina (C), uma vez que esses são os principais compostos dessa classe para chocolates e produtos de cacau (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018).

Nos drageados avaliados nessa pesquisa, a EC representou, sozinha, cerca de 23% do total de flavan-3-óis encontrados, demonstrando dessa maneira ser o principal composto fenólico nos produtos obtidos, dados esses consistentes com o apresentado pela literatura. A EC é reportada como o principal monômero em produtos de cacau, podendo representar até 35% da concentração total dos fenólicos, dependendo do produto e tipo de processamento em questão (EFRAIM; BARRETO ALVES; CALIL PEREIRA JARDIM, 2011a; MARTINI; CONTE; TAGLIAZUCCHI, 2018; WOLLGAST; ANKLAM, 2000).

Quanto a concentração de catequina e epicatequina, Todorovic *et al.* (2015), ao avaliarem os compostos fenólicos em chocolates adicionado de framboesas, notaram que a presença das framboesas não exerceu influência nas concentrações obtidas, uma vez que as concentrações de catequina e epicatequina foram em média, respectivamente, de 137 mg /kg e 225 mg/kg para os chocolates amargos; e de 176 mg /kg e 235 mg/kg nos chocolates com framboesa. Os valores apresentados neste trabalho foram superiores aos encontrados no presente estudo.

Outras pesquisas avaliando o perfil de flavan-3-óis de chocolates e produtos de cacau também encontraram valores maiores para os compostos apresentados, por exemplo, González-Barrio *et al.* (2020), em estudo para obter um chocolate amargo rico em polifenóis usando cacau em pó para a melhora no perfil fenólico, identificaram os monômeros de C e EC como os principais flavan-3-óis em sementes de cacau, sendo a EC o principal monômero de flavan-3-óis com quantidades entre 4000 e 4500 mg/kg DW. Quanto aos dímeros, os

principais foram PB1 e PB2, sendo a PB2 a majoritária com valores dentre 300 à 10000 mg/kg DW, dependendo da origem geográfica.

Martini, Conte e Tagliazucchi (2018), ao avaliar o perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos em chocolate (70% cacau) e chocolate enriquecido com folhas de chá verde Sakura ou açafraão em pó, observaram conteúdos EC de $203,29 \pm 10,68$ mg/100g, $303,69 \pm 11,65$ mg/ 100g e $218,43 \pm 8,08$ mg/100g, respectivamente; como também concentrações de C de $66,20 \pm 1,99$, $69,62 \pm 5,28$ e $71,13 \pm 2,15$ mg/ 100g, respectivamente; e, concentração total de flavan-3-óis de $503,76 \pm 8,98$, $726,03 \pm 14,53$, e $538,71 \pm 8,99$ mg/100g, respectivamente.

Belščak *et al.* (2009), avaliando chocolates com diferentes conteúdos de sólidos de cacau em extrato metanólico desengordurado, encontraram valores de EC e de C, respectivamente de $1,68 \pm 0,27$ mg/g e $0,25 \pm 0,17$ mg/g para chocolate com 88% de sólidos de cacau.; $0,75 \pm 0,03$ mg/g e $0,05 \pm 0,02$ mg/g para chocolate com 72% de sólidos de cacau; $1,20 \pm 0,20$ mg/g e $0,59 \pm 0,11$ mg/g para chocolate com 60% de sólidos de cacau; e $0,10 \pm 0,01$ mg/g e $0,02 \pm 0,01$ mg/g para chocolate ao leite (29% de sólidos de cacau).

Quanto aos dímeros, foram detectadas a presença das procianidinas PB1, PB2 e PB4 em todas as amostras analisadas, sendo que para os drageados a PB4 foi a de maior concentração, seguida pela PB2, enquanto que a PB1 se manteve em concentrações estatisticamente iguais a da uva passa utilizada como núcleo do drageado. Komes *et al.* (2013), em pesquisa sobre a influência da adição de frutas desidratadas (ameixa, papaia, damasco, uva passa e cranberries) na concentração de compostos bioativos em chocolate amargo e ao leite, observaram que as frutas desidratadas possuíam uma concentração de procianidinas superior aos chocolates, tendo as uvas passas o segundo maior conteúdo de procianidinas.

Também foi realizada a avaliação das características estruturais dos flavan-3-óis não monoméricos (proantocianidinas; PA), ou seja, de dímeros à polímeros, por meio da reação de despolimerização com pirogallol, liberando “unidade terminal” como flavan-3-óis monômeros e, o restante dos compostos foi denominado como “unidade de extensão” (**Tabela 13**).

Para caracterização estrutural destes compostos foi calculada a % de galoilação e de prodelfinidinas. Nos cálculos de % de galoilação e de

prodelfinidinas foram levados em conta somente as unidades de CG e ECG (para a % galoilação) e as unidades de GC e EGC (para a % prodelfinidina), que foram liberadas durante a despolimerização da proantocianidinas. As formas livres existentes antes da despolimerização não foram consideradas.

Observando os dados apresentados na **Tabela 13**, é possível notar que para os drageados o grau médio de polimerização (mDP) foi de aproximadamente 2,70, indicando predominância de proantocianidinas dímeras (procianidinas). A % de galoilação foi significativamente inferior ($\alpha = 0,05$) as das encontradas para as uvas passas, além disso, ao avaliar as unidades terminais e de extensão, notou-se que há uma prevalência da EC sobre a C e também uma predominância de unidades de extensão de EC.

Tabela 13 - Caracterização estrutural das proantocianidinas (valor médio² $\pm$ desvio padrão, n = 3) de drageados de BRS Clara (CRD-1 e CRD-2) e uva passa com azeite (CRO-16)

Proantocianidina ¹	CRO-16	CRD-1	CRD-2
mDP	4,15a $\pm$ 0,31	2,70b $\pm$ 0,12	2,71b $\pm$ 0,02
% galoilação	5,90a $\pm$ 0,94	0,51b $\pm$ 0,16	0,42b $\pm$ 0,01
% prodelfinidina	6,76a $\pm$ 0,47	2,24b $\pm$ 0,73	2,08b $\pm$ 0,21
% C-terminal	49,03a $\pm$ 3,54	23,75b $\pm$ 0,99	22,86b $\pm$ 0,29
% EC-terminal	16,21b $\pm$ 1,64	46,55a $\pm$ 0,67	46,84a $\pm$ 1,01
% GC-terminal	2,60a $\pm$ 2,35	0,14a $\pm$ 0,03	0,11a $\pm$ 0,03
% EGC-terminal	0,69a $\pm$ 0,15	0,12b $\pm$ 0,06	0,20b $\pm$ 0,03
% ECG-terminal	3,14a $\pm$ 1,46	0,03b $\pm$ 0,01	0,04b $\pm$ 0,01
% C-extensão	3,15b $\pm$ 0,51	4,86a $\pm$ 0,76	4,72a $\pm$ 0,25
% EC-extensão	84,63b $\pm$ 1,53	91,58a $\pm$ 1,95	92,22a $\pm$ 0,47
% EGC-extensão	7,18a $\pm$ 0,39	2,99b $\pm$ 1,03	2,60b $\pm$ 0,31
% CG-extensão	4,54a $\pm$ 0,94	0,51b $\pm$ 0,15	0,41b $\pm$ 0,01
% GC-extensão	0,012a $\pm$ 0,008	0,006a $\pm$ 0,003	0,005a $\pm$ 0,001
% ECG-extensão	0,001a $\pm$ 0,000	0,001a $\pm$ 0,000	0,001a $\pm$ 0,001
% GCG-extensão	ND	0,011a $\pm$ 0,005	0,005a $\pm$ 0,005
% EGCG-extensão	0,49a $\pm$ 0,04	0,04b $\pm$ 0,02	0,03b $\pm$ 0,01
Total PA² (mg/kg de produto - DW)	421,65a $\pm$ 137,60	768,32a $\pm$ 208,22	783,14a $\pm$ 57,57
Total PA (mg/kg de produto - FW)	365,62 $\pm$ 118,61	697,96 $\pm$ 189,15	711,54 $\pm$ 52,30
Taninos			
Condensados³ (mg/kg de produto - DW)	5516,92c $\pm$ 613,66	20696,41a $\pm$ 1402,03	19491,72a $\pm$ 1315,92
Taninos			
Condensados (mg/kg de produto - FW)	4846,63 $\pm$ 544,25	18801,09 $\pm$ 369,66	17709,56 $\pm$ 213,61

¹Abreviações: MDP, grau médio de polimerização; % Galoilação, % de unidades 3-galato; % Prodelfinidinas, % de epigallocatequina. ² a, b: letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa na concentração para amostras (teste de Student-Newman-Keuls S-N-K, $\alpha = 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020).

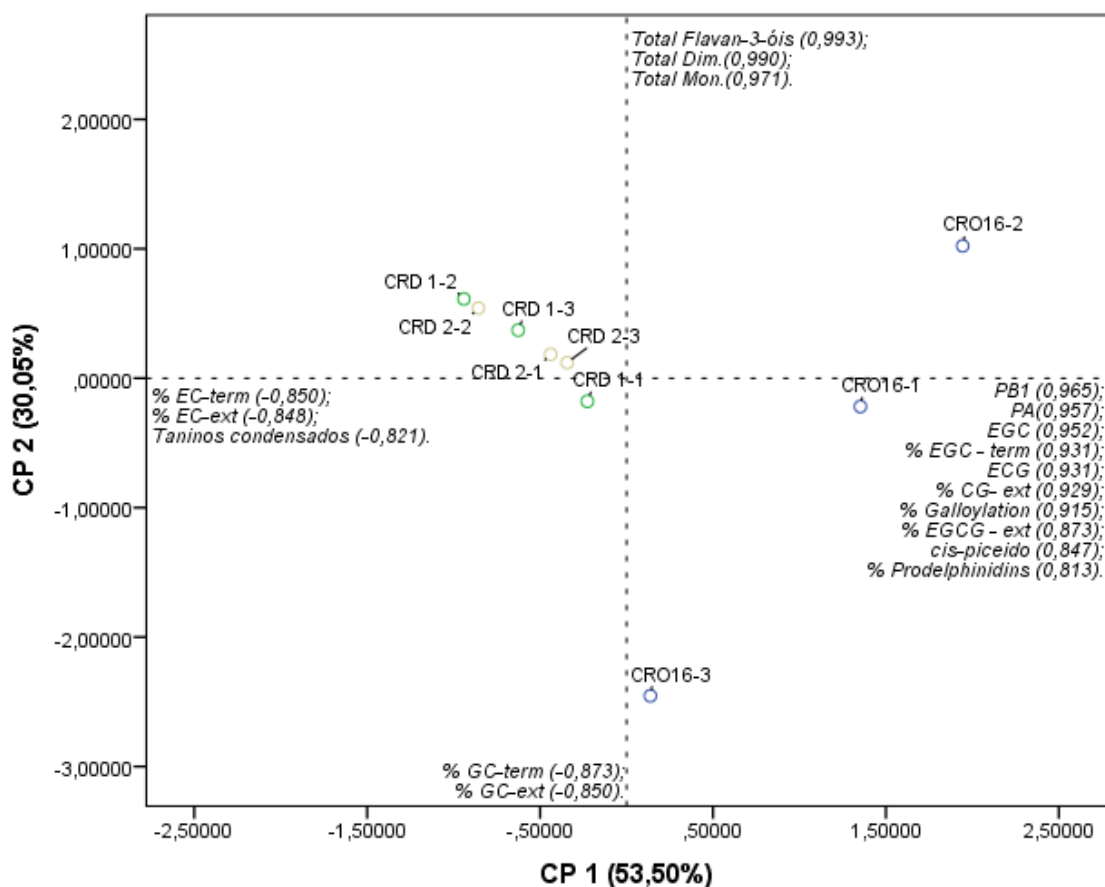
Estudos indicam que a estrutura das proantocianidinas do cacau é composta principalmente por procianidinas, não galoiladas, com predominância da EC sobre C, sendo a unidade de extensão a dominante (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; ESCRIBANO-BAILON *et al.*, 1992; PASCUAL-TERESA *et al.*, 1998), portanto, o perfil das proantocianidinas encontrado para os drageados é mais próximo ao observado para cacau e produtos derivados, permitindo assim concluir que a adição do chocolate na uva passa exerceu grande influência sobre o perfil de flavan-3-óis e proantocianidinas do produto final.

Quanto a concentração total de PA, nota-se que houve um aumento nos valores absolutos determinados nos drageados em relação a uva passa utilizada como núcleo do drageado. O mesmo comportamento é observado para a análise de taninos condensados com el método de la metilcelulosa, evidenciando assim a maior influência do chocolate frente a uva passa na concentração de PA do produto final. Avaliação similar também foi observada por Todorovic *et al.* (2015) ao avaliarem os compostos fenólicos presentes em chocolates adicionados de framboesa, uma vez que a presença da framboesa em chocolate amargo não exerceu influência sobre a concentração de PA (mg equivalentes de cloreto de cianidina/g - FW), sendo de $2,31 \pm 0,80$ nos chocolates amargos e de $2,27 \pm 0,21$ nos chocolates com framboesa.

Esses resultados mostram que a concentração de flavan-3-óis nos drageados produzidos com a uva passa foi significativamente elevada devido a contribuição do chocolate. Influência também observada por Komes *et al.* (2013) em estudo da influência do enriquecimento de chocolates com frutas desidratadas (ameixa, papaia, damasco, uva passa e cramberrys), onde observaram que em extrato metanólico a combinação de uva passa com chocolate amargo (42% de sólidos de cacau) resultou em concentrações de flavan-3-óis superiores aos encontrados nas uvas passas, evidenciando desse modo que os sólidos de cacau não gordurosos foram a principal fonte de flavan-3-óis nos chocolates elaborados.

Após realizar uma ACP para as classes de estilbenos, flavan-3-óis e proantocianidinas (**Figura 26**) foi possível verificar a diferenciação das amostras de drageados das amostras de uvas passas em CP 1 (53,50%). Os drageados foram caracterizados pela %EC-term (-0,850), %EC-ext (-0,848) e e da concentração de taninos condensados (-0,821), ilustrando dessa maneira a caracterização estrutural das proantocianidinas de acordo com o apresentado na **Tabela 13**, onde observa-se que esses compostos tem maior concentração nas amostras de drageados.

Figura 26 - ACP para a classes de estilbenos e flavan-3-óis.



Fonte: elaborado pela autora (2020)

Já as amostras de uva passa foram caracterizadas pelas concentrações de PB1 (0,965); PA (0,957); EGC (0,952); ECG (0,931); *cis*-piceido (0,847) e porcentagens de % EGC-term (0,931); % CG-ext (0,929); % Galoilação (0,915); % EGCG-ext (0,873) e % Prodelphinidinas (0,813), ilustrando dessa maneira o apresentado pelas **Tabelas de 11 a 13**, todos esses compostos, exceto ECG,

estão em maior concentração nas uvas passas e o ECG está em uma menor concentração nessas amostras que nos drageados.

Em CP2 (30,05%), também foi possível a diferenciação das amostras de drageados das amostras de uva passa, exceto pela amostra CRO16-2, sendo que no lado positivo estão as amostras de drageados caracterizadas pela concentração total de flavan-3-óis (0,993), dímeros (0,990) e monômeros (0,971), corroborando assim com os dados apresentados pela **Tabela 12**. No lado negativo de CP2 pode-se observar a caracterização das amostras de uva passa pela %GC-term (-0,873) e de %GC-ext (-0,850).

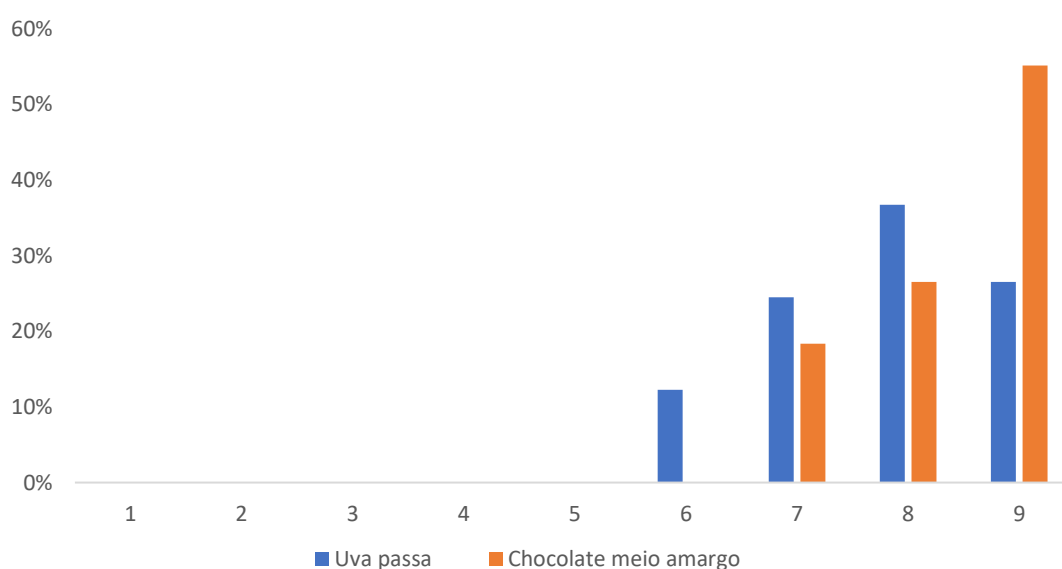
5.3.3. Análise Sensorial

5.3.3.1. Caracterização do consumidor

Os consumidores (49) para a análise dos drageados de uva passa com chocolate foram descritos como predominantemente do sexo feminino (78%), com faixa etária variando entre 18 e 34 anos e grau de escolaridade compreendendo principalmente entre ensino superior completo ou acima deste (mestrado, pós-graduação completa ou pós-doutorado) (65%). Dentre os consumidores selecionados, 63% e 82% declararam gostar muito ou muitíssimo (notas 8 e 9) de uva passa e chocolate meio amargo, respectivamente (**Figura 27**).

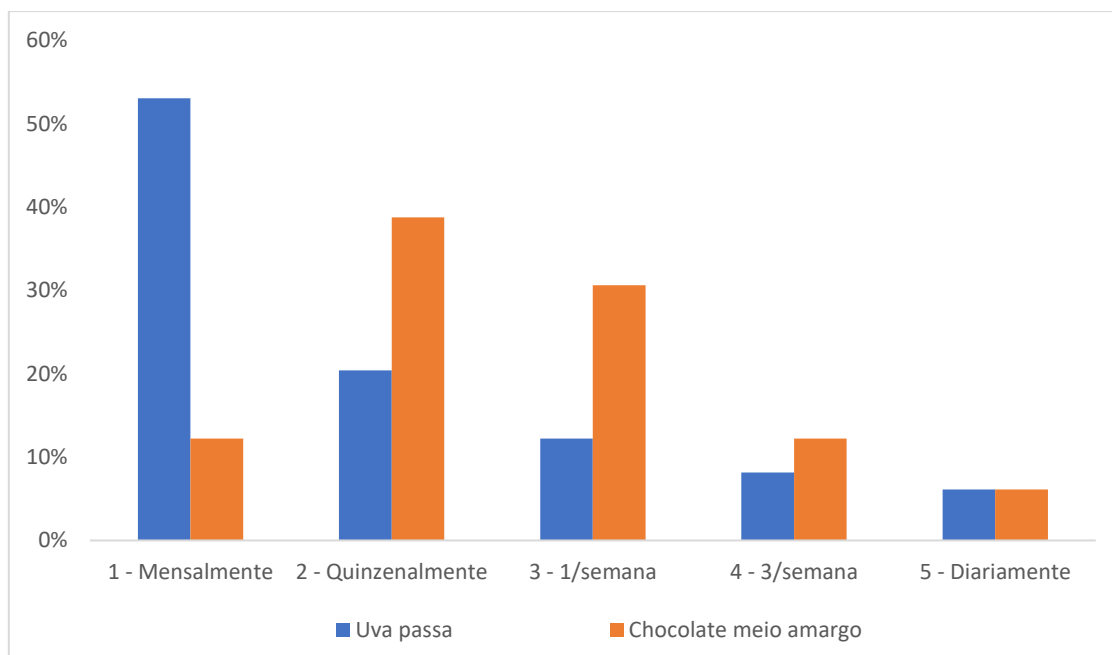
Quanto ao hábito de consumo dos alimentos (chocolate meio amargo e uva passa) relacionados aos produtos a serem avaliados posteriormente pelos consumidores (drageados de uva passa com chocolate), notamos que de acordo com a **Figura 28**, para chocolate meio amargo, a maioria dos consumidores (69%), declaram consumir este produto 1/semana (31%) ou quinzenalmente (39). Para uva passa a maior parte dos consumidores (53%), declarou consumir este tipo de produto mensalmente.

Figura 27 - Frequência de consumo dos alimentos relacionados aos produtos avaliados (1- desgosto muitíssimo; 5- não gosto/nem desgosto; 9- gosto muitíssimo).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

Figura 28 - Frequência de consumo dos alimentos relacionados aos produtos avaliados.



Fonte: elaborada pela autora (2020)

5.3.3.2. Análise Descritiva – RATA

Conforme os resultados apresentados pelas **Tabela 14 e Figura 29**, a aparência do drageado de uva passa de BRS Clara (CRD) foi descrita principalmente pela cor marrom, tendo sido esta apontada como aplicável (notas 4 e 5) para descrever a respectiva amostra por 88% dos consumidores, seguido pelo descritor “opacidade”, apontado como aplicável por 65% dos consumidores. Por outro lado, o descritor “rugosidade da cobertura” foi indicado com baixa aplicabilidade (notas de 1 a 3) por 57% dos consumidores e não aplicável (nota 0) por 27%.

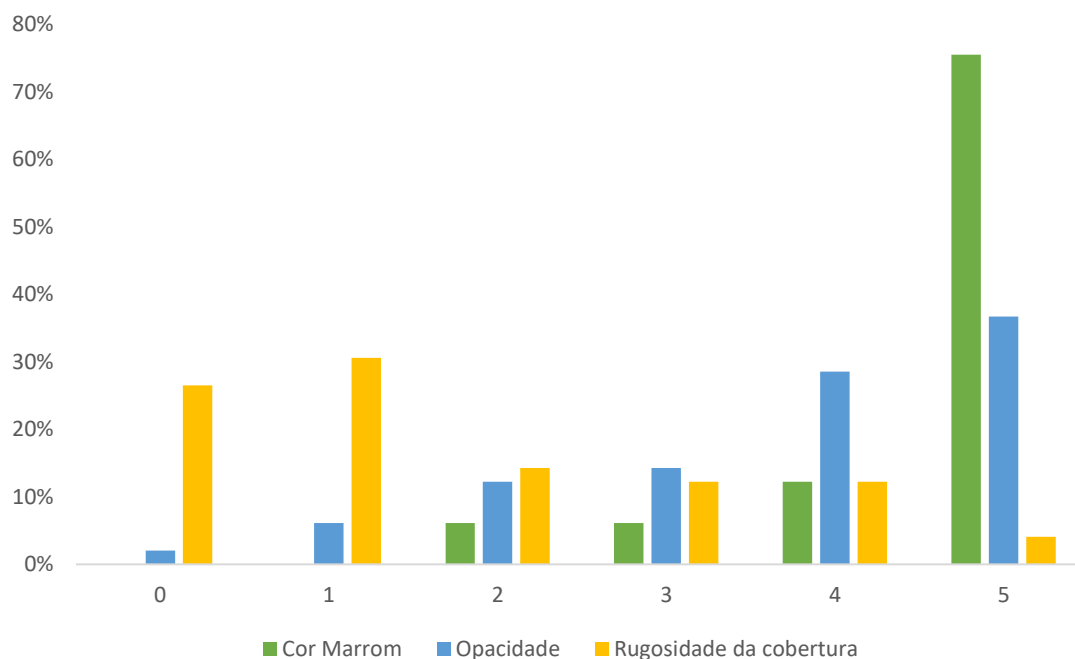
Em relação ao atributo odor de drageado de CRD, o descritor “odor de chocolate amargo”, foi aplicável (notas 4 e 5) por 53% dos consumidores. Já os descritores odor de “chocolate ao leite” e “gordura/manteiga de cacau” foram indicados como não aplicável (nota 0) às amostras de CRD por 14% e 12% dos consumidores, respectivamente, e com baixa/pouca aplicabilidade (notas de 1 a 3) por 55% e 51% dos consumidores, respectivamente (**Figura 30**).

Tabela 14 - Médias ($\pm$ desvio padrão, $n = 49$) atribuídas aos descritores sensoriais e termos hedônicos para o drageado de uva passa com chocolate a partir da cultivar BRS Clara.

Atributos sensoriais		Média $\pm$ desvio padrão
Aparência	Cor Marrom	4,57 $\pm$ 0,87
	Opacidade	3,71 $\pm$ 1,35
	Rugosidade da cobertura	1,65 $\pm$ 1,51
Odor	Chocolate amargo	3,33 $\pm$ 1,08
	Chocolate ao leite	2,47 $\pm$ 1,71
	Gordura/Manteiga de Cacau	2,65 $\pm$ 1,73
Gosto	Doce	3,86 $\pm$ 1,08
	Azedo	2,75 $\pm$ 1,81
	Amargo	1,88 $\pm$ 1,54
Sabor	Chocolate amargo	2,71 $\pm$ 1,65
	Chocolate ao leite	2,90 $\pm$ 1,61
	Uva passa	3,88 $\pm$ 1,45
	Gordura/Manteiga de Cacau/Amanteigado	2,12 $\pm$ 1,70
Textura	Macio	4,20 $\pm$ 0,96
	Adesivo	2,02 $\pm$ 1,70
Termos Hedônicos	Gostoso	4,37 $\pm$ 0,88
	Agradável	4,18 $\pm$ 1,15
	Natural	2,98 $\pm$ 1,73
	Interessante	4,14 $\pm$ 1,32
	Prazeroso	4,31 $\pm$ 1,08

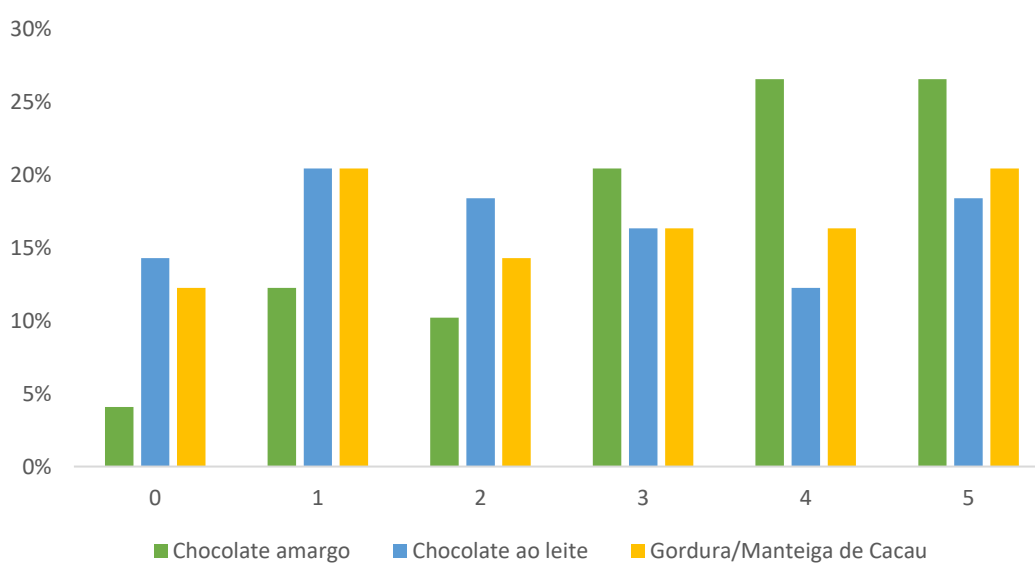
Fonte: elaborada pela autora (2020)

Figura 29 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos descritivos de aparência avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

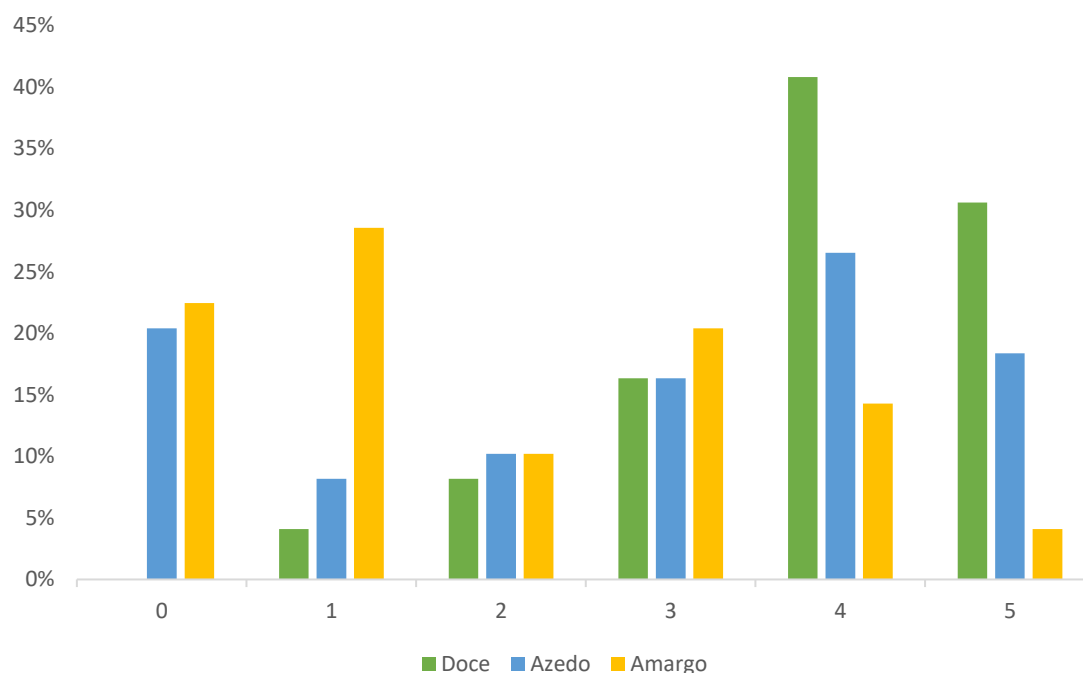
Figura 30 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de odor avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

Para o sabor, o drageado avaliado foi descrito principalmente pelo gosto doce, o qual foi indicado como aplicável (notas 4 e 5) por 71% dos consumidores. O descritor “azedo” foi considerado como não aplicável ao drageado por 22% dos consumidores, enquanto que “amargo” foi considerado como não aplicável por 20% dos consumidores. Além disso, ambos os descritores foram considerados de baixa aplicabilidade (notas 1 a 3) por 35% e 59% dos consumidores (**Figura 31**), respectivamente.

Figura 31 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de gosto avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).

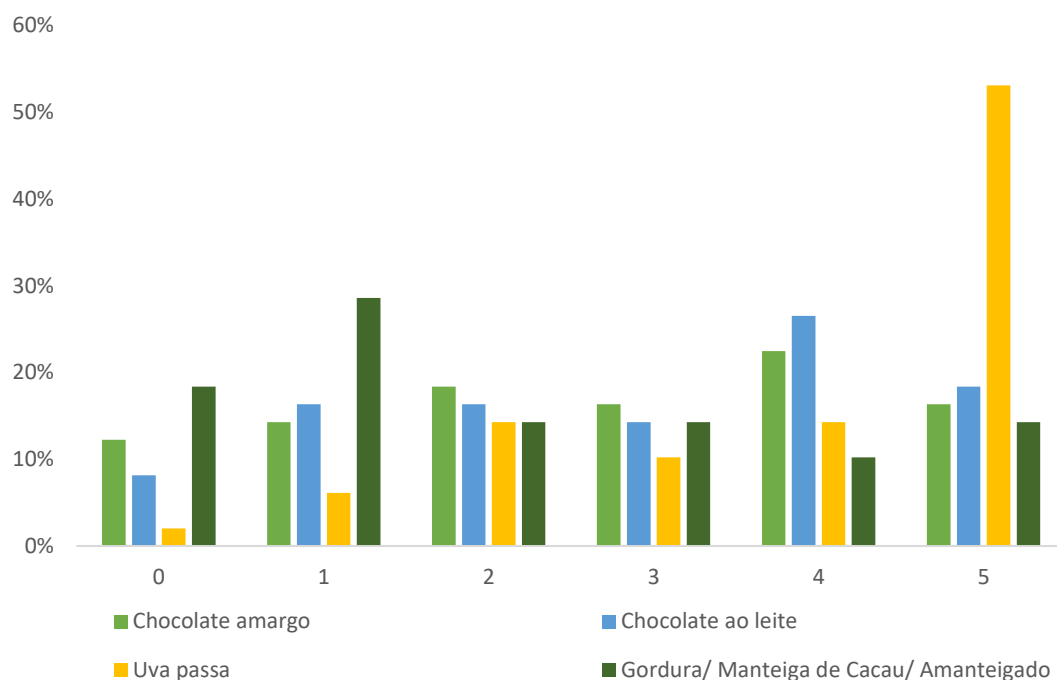


Fonte: elaborada pela autora (2020)

Para os atributos sensoriais de sabor, a amostra CRD foi melhor descrita pelo sabor de “uva passa”, termo indicado como aplicável (notas 4 e 5) por 67% dos consumidores (**Figura 32**). O termo descritor de sabor de “gordura/ manteiga de cacau/ amanteigado” foi considerado como não aplicável por 18% dos consumidores, e de baixa aplicabilidade por 57%, já para os termos de “chocolate ao leite” e “chocolate amargo”, essas avaliações de não aplicabilidade

ou baixa aplicabilidade do termo, foi indicada por 12% e 49% e 8% e 47% dos consumidores, respectivamente.

Figura 32 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de sabor avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).

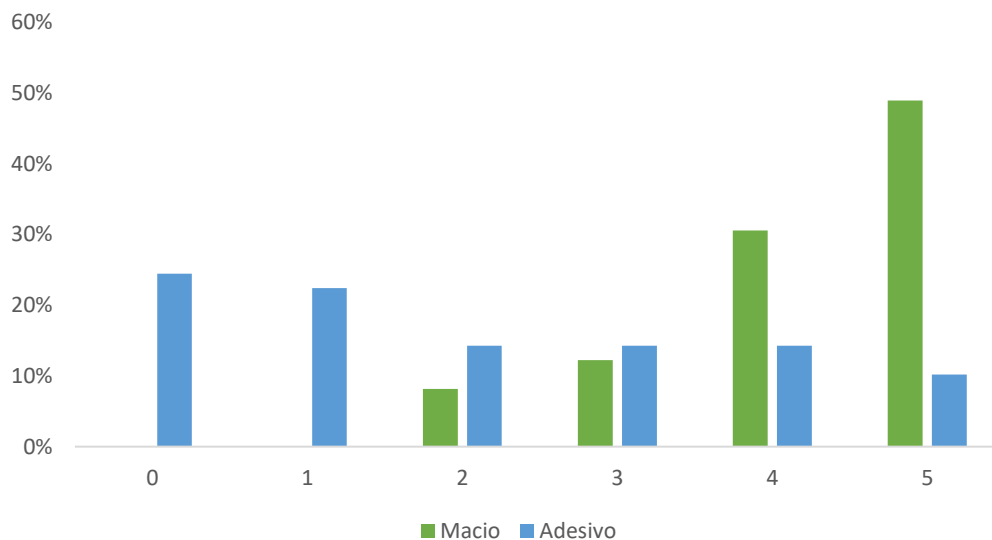


Fonte: elaborada pela autora (2020)

Quanto a textura, o drageado CRD avaliado foi descrito pela sua maciez (**Tabela 14**), sendo o “macio” apontado como aplicável por 80% dos consumidores que avaliaram o drageado. Em contrapartida, o descritor “adesivo” foi considerado como não aplicável por 24% dos consumidores, e de baixa aplicabilidade por 51% deles (**Figura 33**).

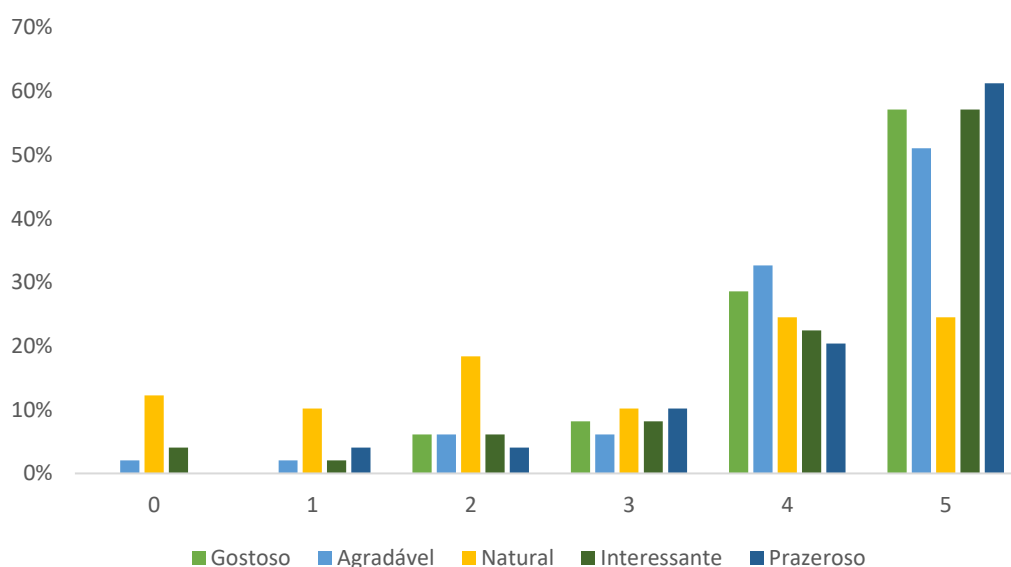
Todas os termos hedônicos apresentados na ficha sensorial, a exceção do termo “Natural” (**Tabela 14**), foram considerados como aplicáveis ao drageado CRD. O termo “Natural” foi indicado como não aplicável por 12% dos consumidores, e de baixa aplicabilidade por 39%. Os demais termos hedônicos apresentados, “Gostoso”, “Agradável”, “Prazeroso” e “Interessante” foram considerados como aplicável por 86%, 84%, 80% e 82% dos consumidores, respectivamente (**Figura 34**).

Figura 33 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos de textura avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

Figura 34 - Frequência (%) de notas atribuídas aos termos hedônicos avaliados para a amostra de drageado (0 – não aplicável; 1 – pouco aplicável; 5- muito aplicável).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

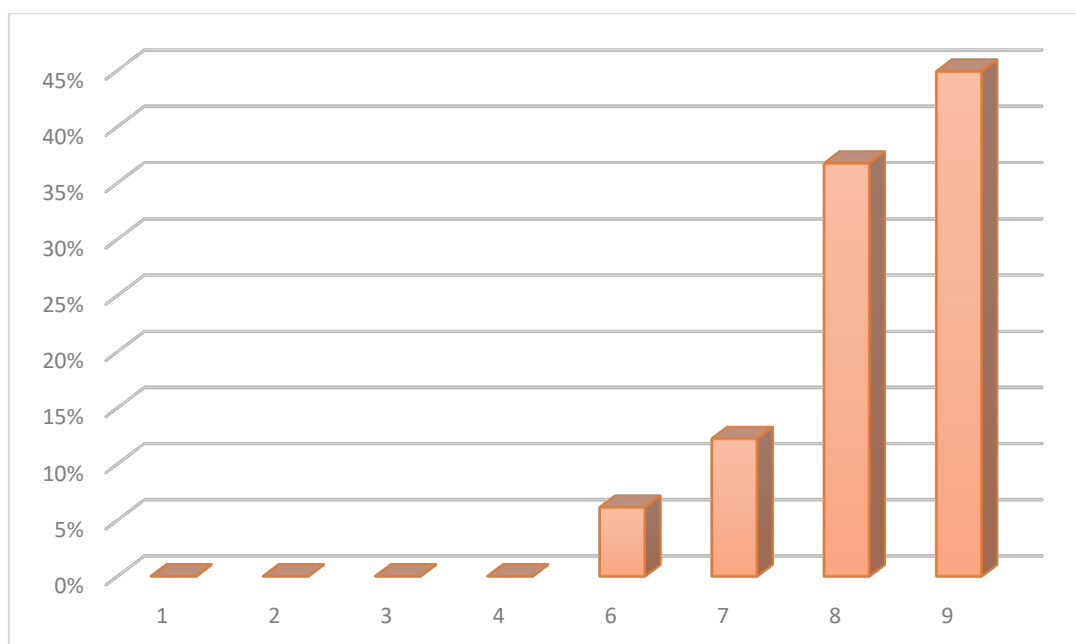
Vale mencionar que os descritores cor marrom, gosto doce e textura macia, além dos termos hedônicos gostoso e prazeroso foram considerados

aplicáveis por todos os consumidores que avaliaram o drageado de uva passa com chocolate a partir da cultivar BRS Clara.

5.3.3.3. Aceitação global dos drageados

A maioria dos consumidores, 82%, declararam gostar muito ou muitíssimo (notas 8 e 9 - **Figura 35**) do drageado da uva passa de BRS Clara avaliado, o que é claramente refletido na nota média para a aceitação global do produto ($8,20 \pm 0,89$), nenhum consumidor declarou desgostar do drageado avaliado, ou seja, todos os consumidores avaliaram positivamente o produto (notas de 6 a 9), evidenciando assim a excelente aceitação do drageado avaliado pelos consumidores.

Figura 35 - Frequência de notas para aceitação global do drageado avaliado (1- desgostei muitíssimo; 5- não gostei/nem desgostei; 9- gostei muitíssimo).



Fonte: elaborada pela autora (2020)

5.3.3.4. Correlação entre termos descritos e aceitação global

Com o objetivo de verificar quais termos descritores avaliados tiveram uma correlação com a aceitação global do drageado CRD, e se houve uma correlação dos termos descritos utilizados entre si, foi realizada uma Análise de Correlação de Pearson, com 95% de nível de confiança (**Tabela 15**).

Tabela 15– Correlação de Pearson entre termos descritivos e aceitação global do drageado avaliado.

	CM	OP	RC	OCA	OCL	OG	D	AZ	AM	SCA	SCL	SUP	SG	M	AD	G	AG	N	INT	P	Aceit
CM	1																				
OP	,071	1																			
RC	-,212	,206	1																		
OCA	,353*	,223	,116	1																	
OCL	-,072	-,022	,356*	-,192	1																
OG	-,171	-,204	,193	-,343*	,275	1															
D	,067	,071	,289*	-,022	,410**	,018	1														
AZ	-,095	-,106	,060	-,008	,240	,059	-,029	1													
AM	,038	-,117	,350*	,409**	,102	,023	-,036	,116	1												
SCA	,117	-,047	,178	,472**	-,048	-,219	,012	,347*	,489**	1											
SCL	,073	,005	,148	-,116	,699**	,227	,447**	,034	-,098	-,341*	1										
SUP	,007	-,050	,332*	,057	,158	,240	,281	,361*	,161	,299*	,128	1									
SG	-,119	-,219	,333*	-,090	,488**	,652**	,021	,145	,348*	-,002	,369**	,343*	1								
M	,057	-,018	,238	,084	,297*	,132	,009	,114	,032	,197	,190	,093	,189	1							
AD	,006	-,025	,385**	,194	,226	,251	,330*	-,032	,471**	,106	,221	,313*	,373**	-,015	1						
G	,101	,194	,317*	,334*	,063	-,051	,100	,110	,188	,189	,056	-,110	-,155	,353*	,092	1					
AG	,332*	,075	-,023	,098	-,077	,022	-,046	-,048	,178	,006	-,035	-,049	-,129	,079	,019	,487**	1				
N	,050	,211	,350*	,043	,321*	,116	,222	,139	-,009	-,039	,404**	,115	,065	,457**	-,021	,456**	,317*	1			
I	,291*	,163	,015	,134	,145	,050	-,117	,041	,122	-,057	,193	-,143	,011	,273	-,066	,400**	,764**	,403**	1		
P	,276	,089	,207	,298*	,022	-,198	-,015	,071	,236	,190	-,053	-,187	-,303*	,320*	-,015	,751**	,606**	,404**	,463**	1	
Aceit	,251	-,020	-,024	,137	-,078	,006	-,251	-,059	-,042	,083	-,087	-,206	-,086	,440**	-,196	,380**	,289*	,301*	,382**	,366**	1

Abreviações: CM, Cor Marrom; OP, Opacidade; RC, Rugosidade da cobertura; OCA, Odor de Chocolate amargo; OCL, Odor de chocolate ao leite; OG, Odor de Gordura/Manteiga de Cacau; D, Gosto doce; AZ, gosto azedo; AM, gosto amargo; SCA, Sabor de Chocolate amargo; SCL, Sabor de Chocolate ao leite; SUP, Sabor de Uva passa; SG, Sabor de Gordura/Manteiga de Cacau/Amanteigado; M, textura macia; A, textura adesiva; G, Gostoso; AG, Agradável; N, Natural; INT, Interessante; P, Prazeroso; Aceit, aceitação global; * Correlação significativa ($p \leq 0,05$). Fonte: elaborada pela autora (2020)

A aceitação global do drageado teve correlação moderada com o descritor “macio” do atributo textura (0,440), e com os termos hedônicos gostoso (0,380), agradável (0,289), natural (0,301), interessante (0,382) e prazeroso (0,366). Entre os termos descritores, foi possível verificar uma forte correlação ($p \leq 0,01$) entre o odor e sabor de chocolate ao leite (0,699) e entre os termos hedônicos interessante e agradável (0,764), gostoso e prazeroso (0,751) e agradável e prazeroso (0,606).

Vale mencionar, as correlações negativas entre o sabor de chocolate ao leite e o sabor de chocolate amargo (-0,341), odor de gordura/manteiga de cacau/amanteigado e odor de chocolate amargo (-0,343), e o termo prazeroso e o sabor de gordura/manteiga de cacau/ amanteigado (-0,303). Essas correlações negativas permitem notarmos que os consumidores puderam discriminar entre sabor de chocolate ao leite e sabor de chocolate amargo, e entre o odor de chocolate amargo e odor gordura/ manteiga de cacau/ amanteigado. Além disso, foi possível notar também que os consumidores em questão não apreciam/esperam neste tipo de produto o sabor de gordura/manteiga de cacau/amanteigado, e que a presença desse sabor deixaria o produto menos prazeroso na percepção do consumidor.

Diante dos resultados de perfil de fenólicos e análises sensoriais apresentados, pôde-se observar que o chocolate e frutas secas combinadas produzem uma matriz complexa, uma vez que são substratos com grandes diferenças composicionais. Dessa maneira, as diferenças de resultados entre o produto estudado e os dados encontrados na literatura para cacau e produtos de cacau são esperados e podem ser justificados pelas diferenças nos processos tecnológicos aplicados, como também da metodologia aplicada para a extração dos compostos de interesse.

No presente estudo, os drageados produzidos possuem uma proporção de 50% m/m de chocolate e uva passa e a complexidade da matriz formada, bem como a eficiência máxima de extração de compostos fenólicos nem sempre será alcançada com a utilização do mesmo solvente para ambos produtos (frutas secas e chocolate com frutas secas) (KOMES *et al.*, 201; WOLLGAST; ANKLAM, 2003). Independentemente desses fatores, os resultados apresentados permitem concluir que o drageamento com chocolate foi responsável por um aumento na concentração de compostos fenólicos, principalmente para a classe dos flavan-3-óis e proantocianidinas, em comparação com a uva passa utilizada como seu núcleo. Pode-se afirmar então que o drageado de uva passa BRS Clara com chocolate amargo é

um alimento com interessante perfil e concentração de compostos fenólicos, com ótima aceitação sensorial e considerado gostoso e prazeroso pelos consumidores.

6. CONCLUSÃO

Uvas passas foram produzidas a partir da cultivar BRS Clara. No processo de obtenção destas uvas passas foi avaliado um pré-tratamento com aplicação de azeite de oliva extra virgem diretamente sobre as bagas da uva com o objetivo de acelerar o processo de desidratação, e consequentemente, preservar ao máximo os compostos fenólicos presentes.

As uvas provenientes das três safras utilizadas como matéria-prima para elaboração das passas apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas no perfil fenólico e estas diferenças, juntamente com outros fatores inerentes do processo de desidratação (tamanho das bagas, umidade relativa do ar e tempo de desidratação), influenciaram os perfis fenólicos das passas produzidas.

O emprego do pré-tratamento das uvas com o azeite (1,43 mL de azeite/kg uva) promoveu uma redução significativa nos tempos de secagem (34%-45%), confirmando sua efetividade na aceleração do processo de desidratação das uvas. De forma geral, o pré-tratamento auxiliou para melhora nas retenções da maioria dos compostos fenólicos presentes nas uvas (DAHC, estilbenos, flavan-3-óis e proantocianidinas), com exceção da classe dos flavonóis, obtendo-se então passas ainda com elevada concentração de compostos fenólicos.

Ao apostar no uso das passas produzidas, com o emprego do pré-tratamento com azeite, como núcleos naturais de drageados de chocolate pode-se verificar que a mistura de chocolate e passas resultou em um produto com perfil de compostos fenólicos mais complexo e de elevada concentração. Além disso a avaliação sensorial do drageado produzido mostrou um produto com ótima aceitação sensorial e descrito principalmente pela cor marrom, gosto doce e textura macia, além dos termos hedônicos gostoso e prazeroso pelos consumidores. Estes resultados demonstram o potencial da uva BRS Clara para a produção de uvas passas e a aplicação dessas passas como núcleos naturais no desenvolvimento de drageados de chocolate com elevada concentração de compostos fenólicos e aceitação.

7. CONCLUSIÓN

Se ha estudiado el proceso de producción de pasas a partir de uvas de la variedad BRS Clara, evaluando el efecto de la aplicación directa sobre las uvas de un pretratamiento con aceite de oliva virgen extra en la duración del proceso de secado y el contenido en compuestos fenólicos.

Las uvas BRS Clara de las tres cosechas utilizadas como materia prima para la preparación de pasas mostraron diferencias cualitativas y cuantitativas en el perfil fenólico y estas diferencias, junto con otros factores inherentes al proceso de deshidratación (tamaño de las bayas, humedad relativa y tiempo de deshidratación), influyeron en los perfiles fenólicos de las pasas producidas.

La aplicación del pretratamiento con aceite de oliva en las uvas (1,43 mL de aceite/kg uva) promovió una reducción significativa en los tiempos de secado (34%-45%), lo que confirma su efectividad para acelerar el proceso de deshidratación de las uvas. En general, el pretratamiento ayudó a mejorar la retención de la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en las uvas (DAHC, estilbenos, flavan-3-ols y proantocianidinas), con la excepción de la clase de flavonol, obteniendo pasas aún con alta concentración de compuestos fenólicos.

En estudio del uso de pasas producidas con el pretratamiento con aceite de oliva, como centros naturales de grageas de chocolate, se pudo verificar que la mezcla de chocolate y pasas dio como resultado un producto con un perfil fenólico más complejo y de elevada concentración. Además, la evaluación sensorial de la gragea producida mostró que se trata de un producto con buena aceptación sensorial y atractivo para el consumidor.

Estos resultados demuestran el potencial de la uva BRS Clara para producción de pasas y la aplicación de esas pasas como centros naturales en el desarrollo de grageas de chocolate con alta concentración de compuestos fenólicos.

REFERÊNCIAS

- ACKAR, D. J. *et al.* Cocoa polyphenols: can we consider cocoa and chocolate as potential functional food? **Journal of Chemistry**, New York, v. 2013, p. 1-7, dec. 2013.
- ADAMS, D. O. Phenolics and ripening in grape berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 57, p. 249-256, 2006.
- ADILETTA, G.; RUSSO, P.; SENADEERA, W.; DI MATTEO, M. Drying characteristics and quality of grape under physical pretreatment. **Journal of Food Engineering**, London, v. 172, p. 9-18, 2016.
- AL ASKARI, G.; KAHOUADJI, A.; KHEDID, K.; CHAROF, R.; MENNANE, Z. Physicochemical and microbiological study of "Raisin", local and imported (Morocco). **Middle East Journal of Scientific Research**, Faisalabad, v. 11, p. 1-6, 2012.
- ALBAK, F.; TEKIN, A. R. Effect of cinnamon powder addition during conching on the flavor of dark chocolate mass. **Journal of Food Science and Technology**, New Delhi, v. 52, p. 1960-1970, 2015.
- ALCANTARA, M.; FREITAS-SÁ, D. G. C. Metodologias sensoriais descritivas mais rápidas e versáteis: uma atualidade na ciência sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, p. e2016179, 2018.
- ALOWAIESH, B.; SINGH, Z.; FANG, Z.; KAILIS, S. G. Harvest time impacts the fatty acid compositions, phenolic compounds and sensory attributes of Frantoio and Manzanilla olive oil. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 234, p. 74–80, 2018.
- ANDRES-LACUEVA, C. *et al.* Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 3111-3117, 2008.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th edition, Washington, 2001.
- ARES, G. *et al.* Further investigations into the reproducibility of check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization elicited by consumers. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 36, p. 111-121, 2014a.
- ARES, G.; BARREIRO, C.; DELIZA, R.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 25, p. 67-86, 2010.
- ARES, G. *et al.* Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 36, p. 87-95, 2014b.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply questions: influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 28, p. 141-153, 2013.

ARLORIO, M. *et al.* Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, Barking, v. 106, p. 967-975, 2008.

ARTS, I. C.W.; HOLLMAN, P. C.H.; KROMHOUT, D. Chocolate as a source of tea flavonoids. **Lancet**, London, v. 354, n. 9177, p. 488, 1999.

ASCHEMANN-WITZEL, J.; VARELA, P.; PESCHEL, A. O. Consumers' categorization of food ingredients: do consumers perceive them as 'clean label' producers expect? An exploration with projective mapping. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 71, p. 117-128, 2019.

ASIOLI, D. *et al.* Making sense of the "clean label" trends: a review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. **Food Research International**, Ottawa, v. 99, p. 58-71, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES EXPORTADORES DE FRUTAS E DERIVADOS. **Estatística de exportações de frutas em 2019**. Brasília, DF: Abrafrutas, 2020. Disponível em: <https://abrafrutas.org/2020/01/28/8825>. Acesso em: 10 fev. 2020.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

AVELAR, M. H. M.; SILVA, L. B.; AZEVEDO, F. B.; EFRAIM, P. A by product of uvaia (*Eugenia pyriformis*) processing as a natural source for coloring sugarhard-panning confections. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 42, n. 7, p. 1-8, 2019.

BALLUS, C. A. *et al.* Profile of phenolic compounds of Brazilian virgin olive oils by rapid resolution liquid chromatography coupled to electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry (RRLC-ESI-TOF-MS). **Food Chemistry**, Oxford, v. 170, p. 366-377, 2015.

BAZARDEH, M. E.; ESMAILI, M. Sorption isotherm and state diagram in evaluating storage stability for sultana raisins. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 59, p. 140-145, 2014.

BECKETT, S. **Industrial chocolate manufacture and use**. 4. ed. Hoboken: Blackwell Publishing, 2009.

BELING, R. R.; FILTER, C. F. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2017**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2017.

BELING, R. R.; FILTER, C. F. **Anuário Brasileiro de uva 2016**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2016.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIERBERLE, P. **Food chemistry**. 4. ed. New York: Springer, 2009.

BELŠČAK, A.; KOMES, D.; HORŽIĆ, D.; GANIĆ, K. K.; KARLOVIĆ, D. Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. **Food Research International**, Ottawa, v. 42, p. 707-716, 2009.

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A. *et al.* Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. **Food Chemistry**, Barking, v. 167, p. 61-70, 2015.

BENLLOCH-TINOCO, M.; CARRANZA-CONCHA, J.; CAMACHO, M. M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. **Processing and impact on active components in food**. Amsterdam: Elsevier, 2015.

BERGGREN, C. The cumulative power of incremental innovation and the role of project sequence management. **International Journal of Project Management**, Guildford, v. 37, p. 461-472, 2019.

BERNA, A.; ROSSELLÓ, C.; MULET, A. **Drying kinetics of Majorcan seedless grape variety**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 455-462.

BIGLIARDI, B.; GALANAKIS, C. 10 - Innovation management and sustainability in the food industry: concepts and models. *In*: GALANAKIS, C. B. T. (org.). **The interaction of food industry and environment**. New York: Academic Press, 2020. p. 315-340.

BINGOL, G.; ROBERTS, J. S.; BALABAN, M. O.; DEVRES, Y. O. Effect of dipping temperature and dipping time on drying rate and color change of grapes. **Drying Technology**, New York, v. 30, p. 597-606, 2012.

BŁASZCZYK, A.; SADY, S.; SIELICKA, M. The stilbene profile in edible berries. **Phytochemistry Reviews**, Dordrecht, v. 18, p. 37-67, 2019.

BORDIGA, M.; COISSON, J. D.; PIANA, G.; TRAVAGLIA, F.; ARLORIO, M. HS-SPME/GC×GC/TOF-MS: a useful tool for the aroma characterization in Italian white wine "Moscato d'Asti" and "Asti Spumante" DOCG. *In*: WORLD CONGRESS OF VINE AND WINE 2009, 32., 2009, Zagreb. **Proceedings...** Zagreb: CRO, 2009. p. II.74.

BORDIGA, M.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, J. D.; MAZZA, G.; ARLORIO, M. Evaluation of the effect of processing on cocoa polyphenols: antiradical activity, anthocyanins and procyanidins profiling from raw beans to chocolate. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 50, p. 840-848, 2015.

BOSKOU, D.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M. **Olive oil composition**. 2. ed. Urbana: AOCS Press, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 264**, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para chocolate e produtos de cacau. Brasília, DF, 2005a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 272**, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Brasília, DF, 2005b.

BRASIL. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 8**, de 6 de março de 2013. Brasília, DF, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Instrução Normativa n 60**, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF, 26 dez. 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 331**, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Brasília, DF, 26 dez. 2019b.

BREKSA III, A. P.; TAKEOKA, G. R.; HIDALGO, M. B.; VILCHES, A.; VASSE, J.; RAMMING, D. W. Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. **Food Chemistry**, Barking, v. 121, p. 740-745, 2010.

BRUZZONE, F.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A. Consumers' texture perception of milk desserts. II - comparison with trained assessors' data. **Journal of Texture Studies**, Dordrecht, v. 43, n. 3, p. 214-226, 2012.

CÁDIZ-GURREA, M.; LOZANO-SANCHEZ, J.; CONTRERAS-GÁMEZ, M.; LEGEAL-MALLET, L.; FERNÁNDEZ-ARROYO, S.; SEGURA-CARRETERO, A. Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of Theobroma cacao extract. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 10, p. 485-498, 2014.

CAFFEYOYL aspartic acid structure. *In*: PHENOL-explorer: database on polyphenol content in foods. 2002. Disponível em: <http://phenol-explorer.eu/compounds/551>. Acesso em: 20 out. 2018.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C.; MAIA, J. D. G.; OLIVEIRA, P. R. D.; PROTAS, J. F. S. **BRS Clara**: nova cultivar de uva branca de mesa sem semente. Bento Gonçalves: Embrapa, 2003. (Comunicado Técnico, 46).

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, Exeter, v. 51, p. 15-25, 2013.

CARRANZA-CONCHA, J.; BENLLOCH, M.; CAMACHO, M. M.; MARTÍNEZ NAVARRETE, N. Effects of drying and pretreatment on the nutritional and functional quality of raisins. **Food and Bioprocess Processing**, Rugby, v. 90, p. 243-248, 2012.

CARRASCO-PANCORBO, A.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; GALLINA-TOSCHI, T.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Analytical determination of polyphenols in olive oils. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 28, p. 837–858, 2005.

CASADO, C. G.; HEREDIA, A. Structure and dynamics of reconstituted cuticular waxes of grape berry cuticle (*Vitis vinifera* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 175–182, 1999.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, p. 7883-7891, 2009a.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ, M. V.; VELDEERS, A. H.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol 3-Oglycosides series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, p. 209-219, 2009b.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 992-1002, 2007.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* white grape cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, p. 699-705, 2010.

CEJUDO-BASTANTE, M. J.; PÉREZ-COELLO, M. S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Identification of new derivatives of 2-S-Glutathionylcaftaric acid in aged white wines by HPLC-DAD-ESI-MSn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 11483-11492, 2010.

CHENG, C. M.; JALIL, A. M. M.; ISMAIL, A. Phenolic and theobromine contents of commercial dark, milk and white chocolates on the Malaysian market. **Molecules**, Basel, v. 14, p. 200-209, 2009.

CHRISTENSEN, L. P. (ed.). The raisin drying process. In: CHRISTENSEN, L. P.; PEACOCK, W. L. **Raisin production manual**. Oakland: University of California: Agriculture & Natural Resources, 2000. p. 207-216.

CODEX ALIMENTARIUS. NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS. **Norma para las uvas pasas CXS 67-1981**. Adoptada en 1981. Enmendada en 2019. [s.l.]: FAO: OMS, 2019.

CONSTANTINOU, S.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; GOULAS, V.; SEGURA-CARRETERO, A.; KOUNDOURAS, S.; MANGANARIS, G. A. The impact of postharvest dehydration methods on qualitative attributes and chemical composition

of 'Xynisteri' grape (*Vitis vinifera*) must. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 135, p. 114-122, 2018.

CONSTANTINOU, S.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; GOULAS, V.; SEGURA-CARRETERO, A.; MANGANARIS, G. A. Metabolic fingerprinting of must obtained from sun-dried grapes of two indigenous Cypriot cultivars destined for the production of 'Commandaria': a protected designation of origin product. **Food Research International**, Ottawa, v. 100, p. 469-476, 2017.

COSTA, J. D. S. *et al.* Caracterização física e físico-química de uva Itália desidratada. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 16, n. 2, p. 273-280, 2015.

COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; COLLIN, S. Food chemistry chocolate and cocoa: new sources of trans -resveratrol and trans -piceid. **Food Chemistry**, Barking, v. 98, p. 649-657, 2006.

CRIZEL, R. L.; HOFFMANN, J. F.; ZANDONÁ, G. P.; LOBO, P. M. Shild; JORGE, R. O.; CHAVES, F. C. Characterization of Extra Virgin Olive Oil from Southern Brazil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 122, p. 11–14, 2020.

D'SOUZA, R. N.; GRIMBS, S.; BEHREND, B.; BERNAERT, H.; ULLRICH, M. S.; KUHNERT, N. Origin-based polyphenolic fingerprinting of Theobroma cacao in unfermented and fermented beans. **Food Research International**, Ottawa, v. 99, p. 550-559, 2017.

DA-SILVA, R.; LAGO-VANZELA, E. S.; BAFFI, M. A. **Uvas e vinhos: química, bioquímica e microbiologia**. São Paulo: EdUnesp, 2015.

DE ROSSO, M. *et al.* Identification of new flavonols in hybrid grapes by combined liquid chromatography-mass spectrometry approaches. **Food Chemistry**, Barking, v. 163, p. 244-251, 2014.

DEL RIO, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; SPENCER, J. P. E.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER, A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, Larchmont, v. 18, p. 1818-1892, 2013.

DENG, L. Z. *et al.* Chemical and physical pretreatments of fruits and vegetables: effects on drying characteristics and quality attributes—a comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 59, p. 1408-1432, 2019.

DI LORENZO, C. *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory activity of raisins (*Vitis vinifera* L.) in human gastric epithelial cells: a comparative study. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 7, 2016a.

DI LORENZO, C. *et al.* Phenolic profile and antioxidant activity of different raisin (*Vitis vinifera* L.) samples. **BIO Web of Conferences**, Les Ulis, v. 7, p. 04006, 2016b.

DIAS, M. I.; SOUSA, M. J.; ALVES, R. C.; FERREIRA, I. C. F. R. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: a review. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 82, p. 9-22, 2016.

DILLINGER, T. L.; BARRIGA, P.; ESCÁRCEGA, S.; JIMENEZ, M.; LOWE, D. S.; GRIVETTI, L. E. Food of the Gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 130, p. 2057S-2072S, 2000.

DOOLEY, L.; LEE, Y.; MEULLENET, J. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 21, p. 394-401, 2010.

DOYMAZ, I. Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. **Journal of Food Engineering**, London, v. 76, p. 212-217, 2006.

DU, L. J.; GAO, Q. H.; JI, X. L.; MA, Y. J.; XU, F. Y.; WANG, M. Comparison of flavonoids, phenolic acids, and antioxidant activity of explosion-puffed and sun-dried jujubes (*ziziphus jujuba* mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, p. 11840-11847, 2013.

DURAK, A.; GAWLIK-DZIKI, U.; SUGIER, D. Coffee enriched with willow (*Salix purpurea* and *Salix myrsinifolia*) bark preparation – Interactions of antioxidative phytochemicals in a model system. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 18, p. 1106-1116, 2015.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 181-201, 2011.

ESMAILI, M.; SOTUDEH-GHAREBAGH, R.; CRONIN, K.; MOUSAVI, M. A. E.; REZAZADEH, G. Grape drying: a review. **Food Reviews International**, New York, v. 23, p. 257-280, 2007.

EYAMO EVINA, V. J.; DE TAEYE, C.; NIEMENAK, N.; YOUNBI, E.; COLLIN, S. Influence of acetic and lactic acids on cocoa flavan-3-ol degradation through fermentation-like incubations. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 68, p. 514-522, 2016.

FABANI, M. P. *et al.* Changes in the phenolic profile of Argentinean fresh grapes during production of sun-dried raisins. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 58, p. 23-32, 2017.

FADINI, A. L.; SILVA, L. B.; QUEIROZ, M. B. **Saudabilidade e naturabilidade em drageados de chocolate**. Campinas: ITAL, 2016.

FANG, Y. L. *et al.* Health risk assessment of trace elements in Chinese raisins produced in Xinjiang province. **Food Control**, Guildford, v. 21, p. 732-739, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and agriculture data**. Rome: FAOSTAT, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 10 fev. 2020.

FELDBERG, N. P.; DA-MOTA, R. V.; SIMÕES, W. L.; REGINA, M. D. E. A. Viabilidade da utilização de descartes de produção de uvas sem sementes para elaboração de passas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 30, n. 3, p. 846-849, 2008.

FEMENIA, A.; SÁNCHEZ, E. S.; SIMAL, S.; ROSSELLÓ, C. Effects of drying pretreatments on the cell wall composition of grape tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 271-276, 1998.

FERREIRA, K. C. **Caracterização integral de frutos tamarindo (*Tamarindus indica* L.) do cerrado de Goiás, Brasil e aplicação em produtos drageados**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Effects on colour and phenolic composition of sugar concentration processes in dried-on- or dried-off-vine grapes and their aged or not natural sweet wines. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 31, p. 36-54, 2013.

FIGUEIREDO-GONZALEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GANDARA, J. Evolution of colour and phenolic compounds during Garnacha Tintorera grape raisining. **Food Chemistry**, Barking, v. 141, p. 3230-3240, 2013.

FLAMINI, R.; MATTIVI, F.; DE ROSSO, M.; ARAPITSAS, P.; BAVARESCO, L. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 10, p. 19651-19669, 2013.

FLINT, S. D.; JORDAN, P. W.; CALDWELL, M. M. Plant protective response to enhanced UV-B radiation under field conditions: leaf optical properties and photosynthesis. **Photochemistry and Photobiology**, Lawrence, v. 41, p. 95-99, 1985.

FRANCISQUETTI, M. C. C. **Produção de uvas-passas variedade Crimson: modelagem matemática e estudo experimental**. 2017. 154 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

FREITAS, D. G. C. *et al.* **Aceitação de uvas passas brasileiras e suas características sensoriais segundo a percepção do consumidor**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2013. (Comunicado Técnico, 192).

GABAS, A. L.; MENEGALLI, F. C.; TELIS-ROMERO, J. Effect of chemical pretreatment on the physical properties of dehydrated grapes. **Drying Technology**, New York, v. 17, n. 6, p. 1215-1226, 1999.

GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols - a chemical perspective. **Food Research International**, Ottawa, v. 54, p. 1844-1858, 2013.

GEORGIEV, V. I.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, Basel, v. 6, p. 391-415, 2014.

GESCHWINDNER, G.; DROUVEN, H. Manufacturing processes: chocolate panning and inclusions. *In*: TALBOT, G. (ed.). **Science and technology of enrobed and filled chocolate, confectionery and bakery products**. Amsterdam: Elsevier, 2009. p. 397-413.

GHRAIRI, F. *et al.* Physicochemical composition of different varieties of raisins (*Vitis vinifera* L.) from Tunisia. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 43, p. 73-77, 2013.

GIOXARI, A.; KOGIANNOU, D. A. A.; KALOGEROPOULOS, N.; KALIORA, A. C. Phenolic compounds: bioavailability and health effects. *In*: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (ed.). **Encyclopedia of food and health**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 339-345. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00774-1. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472007741>. Acesso em: 19 jun. 2017.

GONZÁLEZ-BARRIO, R.; NUÑEZ-GOMEZ, V.; CIENFUEGOS-JOVELLANOS, E.; GARCÍA-ALONSO, F. J.; PERIAGO-CASTÓN, M. J. Improvement of the flavanol profile and the antioxidant capacity of chocolate using a phenolic rich cocoa powder. **Foods**, Basel, v. 9, p. 1-12, 2020.

GOWD, V.; JIA, Z.; CHEN, W. Anthocyanins as promising molecules and dietary bioactive components against diabetes – A review of recent advances. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 68, p. 1-13, 2017.

GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; MACIEL, L. G. NUNES, D. S. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **TRAC Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 80, p. 266-279, 2016.

GRNCAREVIC, M.; RADLER, F. A Review of the Surface Lipids of Grapes and Their Importance in the Drying Process. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 22, p. 80 – 86, 1971.

GRNCAREVIC, M. Effect of various dipping treatments on the drying rate of grapes for raisins. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 14, p. 230-234, 1963.

GU, L.; HOUSE, S. E.; WU, X.; OU, B.; PRIOR, R. L. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 4057-4061, 2006.

GUERRERO, R. F.; PUERTAS, B.; FERNÁNDEZ, M. I.; PALMA, M.; CANTOS-VILLAR, E. Induction of stilbenes in grapes by UV-C: comparison of different subspecies of vitis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 11, n. 1, p. 231-238, 2010.

GUINÉ, R. P. F.; ALMEIDA, I. C.; CORREIA, A. C.; GONÇALVES, F. J. Evaluation of the physical, chemical and sensory properties of raisins produced from grapes of the cultivar Crimson. **Journal of Food Measurement and Characterization**, Basel, v. 9, n. 3, p. 337-346, 2015.

GUINÉ, R. P. F.; PINHO, S.; BARROCA, M. J. Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*). **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 89, n. 4, p. 422-428, 2011.

HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E. Flavonol profiles for grape and wine authentication. **ACS Symposium Series**, Washington, v. 1081, p. 113-129, 2011.

HERNÁNDEZ, M. M.; SONG, S.; MENÉNDEZ, C. M. Influence of genetic and vintage factors in flavan-3-ol composition of grape seeds of a segregating *Vitis vinifera* population. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 97, n. 1, p. 236-243, 2017.

HORNSEY, I. **The chemistry and biology of winemaking**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2007.

HUFNAGEL, J. C.; HOFMANN, T. Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 1376–1386, 2008.

HURST, W. J.; GLINSKI, J. A.; MILLER, K. B.; APGAR, J.; DAVEY, M. H.; STUART, D. A. Survey of the trans -Resveratrol and trans -Piceid Content of Cocoa-Containing and Chocolate Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 8374-8378, 2008.

HURST, W. J.; STANLEY, B.; GLINSKI, J. A.; DAVEY, M.; PAYNE, M. J.; STUART, D. A. Characterization of primary standards for use in the HPLC analysis of the procyanidin content of cocoa and chocolate containing products. **Molecules**, Basel, v. 14, n. 10, p. 4136-4146, 2009.

INTERNATIONAL NUTS & DRIED FRUITS. **Statistical Yearbook 2018/2019**. Reus: INC, 2020. Disponível em: https://www.nutfruit.org/files/tech/1553521370_INC_Statistical_Yearbook_2018.pdf. Acesso em: 20 fev. 2020.

INTERNATIONAL ORGANIZATION OF VINE AND WINE. **World Vitiviniculture Situation 2016**. Paris: OIV, 2016. (OIV Statistical Report on World Vitiviniculture). DOI: 64/19/6835 [pii]\n10.1158/0008-5472.CAN-04-1678. Disponível em: <http://www.oiv.int/public/medias/5029/world-vitiviniculture-situation-2016.pdf>. Acesso em: 17 out. 2019.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE, **OIV. RECOMENDACIONES DE LA OIV RESPECTO DE LA PRODUCCIÓN DE UVAS PASAS**. Bucarest, OIV, 2013. (Resolución OIV-VITI 493-2013)

JACKSON, R. S. **Wine science: principles and applications**. San Diego: Academic Press, 1994.

JAEGER, S. R. *et al.* Check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization by consumers: Investigations into the number of terms used in CATA questions. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 42, p. 154-164, 2015.

JAEGER, S. R. *et al.* Check-all-that-apply (CATA) responses elicited by consumers: within-assessor reproducibility and stability of sensory product characterizations. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 30, n. 1, p. 56-67, 2013a.

JAEGER, S. R. *et al.* Investigation of bias of hedonic scores when co-eliciting product attribute information using CATA questions. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 30, n. 2, p. 242-249, 2013b.

JALIL, A. M. M.; ISMAIL, A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health? **Molecules**, Basel, v. 13, n. 9, p. 2190-2219, 2008.

JAVED, H. U. *et al.* Changes of free-form volatile compounds in pre-treated raisins with different packaging materials during storage. **Food Research International**, Ottawa, v. 107, n. 2017, p. 649-659, 2018.

JESZKA-SKOWRON, M.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A.; STANISZ, E.; WAŚKIEWICZ, A. Potential health benefits and quality of dried fruits: Goji fruits, cranberries and raisins. **Food Chemistry**, Barking, v. 221, p. 228-236, 2017.

KAMMERER, D.; CLAUS, A.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 14, p. 4360-4367, 2004.

KANAPITSAS, A.; BATRINO, A.; ARAVANTINOS, A.; MARKAKI, P. Effect of γ -radiation on the production of aflatoxin B1 by *Aspergillus parasiticus* in raisins (*Vitis vinifera* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 106, p. 327-332, 2015.

KARADENIZ, F.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Polyphenolic composition of raisins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 11, p. 5343-5350, 2000.

KELEBEK, H.; JOURDES, M.; SELLI, S.; TEISSEDRE, P. Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 93, n. 12, p. 2963-2972, 2013.

KENNEDY, J. A. Grape and wine phenolics: observations and recent findings. **Ciencia e Investigación Agraria**, Chile, v. 35, n. 2, p. 77-90, 2008.

KHIARI, R.; ZEMNI, H.; MIHOUBI, D. Raisin processing: physicochemical, nutritional and microbiological quality characteristics as affected by drying process. **Food Reviews International**, New York, v. 35, n. 3, p. 246-298, 2019.

KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2018.

KITA, A.; LACHOWICZ, S.; FILUTOWSKA, P. Effects of package type on the quality of fruits and nuts panned in chocolate during long-time storage. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 125, n. p. 109212, January 2020.

KOMES, D.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; ŠKRABAL, S.; VOJVODIĆ, A.; BUŠIĆ, A. The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 53, n. 1, p. 360-369, 2013.

LAGO-VANZELA, E. S. **Estudos bioquímicos, físico-químicos e tecnológicos de uvas paulistas**. 2011. 211 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

LAGO-VANZELA, E. S.; DA-SILVA, R.; GOMES, E.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the Brazilian seedless table grape varieties BRS clara and BRS morena. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 15, p. 8314-8323, 2011a.

LAGO-VANZELA, E. S.; DA-SILVA, R.; GOMES, E.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 24, p. 13136-13146, 2011b.

LAGO-VANZELA, E. S.; PAVEZZI, F. C.; MARTIN, N.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Isolation and characterization of latent and active polyphenoloxidase in BRS Clara (CNPUV 154-147 × Centennial seedless) and BRS Morena (Marroo seedless × Centennial seedless) seedless table grapes. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 49, n. 11, p. 1251-1258, 2011c.

LASTRA, C. A.; VILLEGAS, I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 35, p. 156-1160, 2007.

LECAS, M.; BRILLOUET, J. M. Cell wall composition of grape berry skins. **Phytochemistry**, London, v. 35, p. 1241-1243, 1994.

LIN, X.; ZHANG, I.; LI, A.; MANSON, J. E.; SESSO, H. D.; WANG, L.; LIU, S. Cocoa flavanol intake and biomarkers for cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 146, n. 11, p. 2325-2333, 2016. DOI: 10.3945/jn.116.237644.

LINGUA, M. S.; THEUMER, M. G.; KRUYNSKI, P.; WUNDERLIN, D. A.; BARONI, M. V. Bioaccessibility of polyphenols and antioxidant properties of the white grape by simulated digestion and Caco-2 cell assays: comparative study with its winemaking product. **Food Research International**, Ottawa, v. 122, n. May, p. 496-505, 2019.

MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; LOPEZ-TOLEDANO, A.; MERIDA, J. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. **Food Chemistry**, Barking, v. 130, n. 1, p. 111-120, 2012c.

MARQUEZ, A.; DUEÑAS, M.; SERRATOSA, M. P.; MERIDA, J. Formation of vitisins and anthocyanin-flavanol adducts during red grape drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 27, p. 6866-6874, 2012a.

MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; LOPEZ-TOLEDANO, A.; MERIDA, J. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. **Food Chemistry**, Barking, v. 130, n. 1, p. 111-120, 2012b.

MARTINELLI, M.; MENDES, F. T.; DOS SANTOS, J. R. P.; DE ALBUQUERQUE MARANHÃO, C. M.; CASTRICINI, A. Sensory and quality assessment of processed raisins from three cultivars produced in the semiarid region of Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2017131, 2018.

MARTINI, S.; CONTE, A.; TAGLIAZUCCHI, D. Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. **Food Research International**, Ottawa, v. 112, p. 1-16, 2018.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013.

MASCARENHAS, R. J.; SILVA, S. M.; LIMA, M. A. C.; MENDONÇA, R. M. N.; HOLSCHUH, H. J. Characterization of maturity and quality of Brazilian apirenic grapes in the São Francisco river Valley. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 1, p. 26-33, 2012.

MATTIVI, F.; GUZZON, R.; VRHOVSEK, U.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 20, p. 7692-7702, 2006.

MAXCHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. The main phenolics of fruits. In: BILLOT, J. **Fruit phenolics**. Boca Raton: CRC Press, 1990.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2018**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2019.

MENIN, D.; PEREIRA, E. A. Análise das propriedades mecânicas de dureza de drageado de uva passa com cobertura de chocolate. **Synergismus Scyentifica UTFPR**, Pato Branco, v. 13, n. 1, p. 115-116, 2018.

MININ, V. P. R.; DA-SILVA, C. S. N. **Análise sensorial descritiva**. Viçosa: UFV, 2016.

MONGIA, G. Fruit ingredients in confectionery applications. **The Manufacturing Confectioner**, Princeton, v. 94, p. 73-82, 2014.

MONTEALEGRE, C.; ALEGRE, M. L. M.; GARCÍA-RUIZ, C. Traceability markers to the botanical origin in olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 28–38, 2010.

MOREIRA, R. T.; VIEIRA, D. M.; DE FREITAS, S. T.; BIASOTO, A. C. T.; RYBKA, A. C. T.; FIGUEIRÊDO NETO, A. Potencial de uva de mesa “BRS Vitória” para produção de uva passa. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 11., 2015, Campinas. **Anais...** Campinas: Galoá, 2015. Disponível em: <https://proceedings.galoa.com.br/slaca/slaca-2015/trabalhos/potencial-da-uva-de-mesa-brs-vitoria-para-a-producao-de-uva-passa>. Acesso em: 8 jul. 2018.

MRKIĆ, V.; UKRAINCZYK, M.; TRIPALO, B. Applicability of moisture transfer Bi-Di correlation for convective drying of broccoli. **Journal of Food Engineering**, London, v. 79, n. 2, p. 640-646, 2007.

MUDENUTI, N. V. R.; DE CAMARGO, A. C.; SHAHIDI, F.; MADEIRA, T. B.; HIROOKA, E. Y.; GROSSMANN, M. V. E. Soluble and insoluble-bound fractions of phenolics and alkaloids and their antioxidant activities in raw and traditional chocolate: a comparative study. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 50, n., p. 164-171, July 2018.

MUHAMMAD, D. R. A.; PRASEPTIANGGA, D.; VAN DE WALLE, D.; DEWETTINCK, K. Interaction between natural antioxidants derived from cinnamon and cocoa in binary and complex mixtures. **Food Chemistry**, Barking, v. 231, p. 356-364, 2017.

NATARAJAN, S. B.; HWANG, J. W.; KIM, Y. S.; KIM, E. K.; PARK, P. J. Ocular promoting activity of grape polyphenols: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 50, p. 83-90, 2017.

NI, J.; DING, C.; ZHANG, Y.; SONG, Z. Impact of different pretreatment methods on drying characteristics and microstructure of goji berry under electrohydrodynamic (EHD) drying process. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 61, p. 102318, 2020.

NICULESCU, V. C.; PAUN, N.; IONETE, R. E. The evolution of polyphenols from grapes to wines. In: JORDÃO, A. M.; COSME, F. **Grapes and wines: advances in production, processing, analysis and valorization**. London: IntechOpen, 2017. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/grapes-and-wines-advances-in-production-processing-analysis-and-valorization/the-evolution-of-polyphenols-from-grapes-to-wines>. Acesso em: 18 mar. 2018.

NUNES, M. A.; PIMENTEL, F.; COSTA, A. S. G.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Cardioprotective properties of grape seed proanthocyanidins: an update. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 57, p. 31-39, 2016.

OLIVATI, C. **Produção de uva passa de BRS Morena**: pré-tratamento, caracterização físico-química e composição fenólica. 2016. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2016.

OLIVATI, C. *et al.* Effect of the pre-treatment and the drying process on the phenolic composition of raisins produced with a seedless Brazilian grape cultivar. **Food Research International**, Ottawa, v. 116, p. 190-199, 2019.

ORACZ, J.; ZYZELEWICZ, D.; NEBESNY, E. The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.), depending on variety, growing region, and processing operations: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 55, n. 9, p. 1176-1192, 2015.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, Ottawa, v. 74, p. 10-36, 2015.

ORTEGA, N. *et al.* Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 20, p. 9621-9627, 2008.

PANGAVHANE, D. R.; SAWHNEY, R. L.; SARSAVADIA, P. N. Effect of various dipping pretreatment on drying kinetics of Thompson seedless grapes. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 2, p. 211-216, 1999.

PAHLAVANZADEH, H.; BASIRI, A.; ZARRABI, M. Determination of parameters and pretreatment solution for grape drying. **Drying Technology**, Philadelphia, v. 19, p. 217-226, 2001

PARKER, T. L.; WANG, X. H.; PAZMIÑO, J.; ENGESETH, N. J. Antioxidant capacity and phenolic content of grapes, sun-dried raisins, and golden raisins and their effect on ex vivo serum antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 21, p. 8472-8477, 2007.

PATEL, A. K.; DAVIS, A.; RODRIGUEZ, M. E.; AGRON, S.; HACKAM, A. S. Protective effects of a grape-supplemented diet in a mouse model of retinal degeneration. **Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 384-390, 2016.

PATRAS, M. A.; MILEV, B. P.; VRANCKEN, G.; KUHNERT, N. Identification of novel cocoa flavonoids from raw fermented cocoa beans by HPLC-MSn. **Food Research International**, Ottawa, v. 63, p. 353-359, 2014.

PEINADO, J.; DE LERMA, N. L.; MORENO, J.; PEINADO, R. A. Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different

stages of the off-vine drying process. **Food Chemistry**, Barking, v. 114, n. 3, p. 1050-1055, 2009.

PEINADO, J.; LÓPEZ DE LERMA, N.; PERALBO-MOLINA, A.; PRIEGO-CAPOTE, F.; DE CASTRO, C.; MCDONAGH, B. Sunlight exposure increases the phenolic content in postharvested white grapes: an evaluation of their antioxidant activity in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 5, n. 4, p. 1566-1575, 2013.

PENSEC, F. *et al.* Changes in the triterpenoid content of cuticular waxes during fruit ripening of eight grape (*Vitis vinifera*) cultivars grown in the upper rhine valley. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, p. 7998–8007, 2014.

PÉREZ-NAVARRO, J. *et al.* First chemical and sensory characterization of Moribel and Tinto Fragoso wines using HPLC-DAD-ESI-MS/MS, GC-MS, and Napping® techniques: comparison with Tempranillo. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 99, n. 5, p. 2108-2123, 2019.

PIANO, F.; BERTOLONE, E.; PES, D.; ASPROUDI, A.; BORSA, D. Focusing on bioactive compounds in grapes: Stilbenes in Uvalino cv. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 237, n. 6, p. 897-904, 2013.

PINTO, C. S. G. **Desenvolvimento de tabletes de chocolate com aroma e drageados de chocolate**. Porto: Universidade do Porto, 2013.

PLAEHN, D. CATA penalty/reward. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 24, n. 1, p. 141-152, 2012. DOI: 10.1016/j.foodqual.2011.10.008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950329311002217>. Acesso em: 18 abr. 2017.

PRICE, S. F.; BREEN, P. J.; VALLADAO, M.; WATSON, B. T. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot Noir grapes and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 2, p. 187-194, 1995.

PUBCHEM Compound Database: grape reaction product (CID=71308212). Rockville Pike: National Center for Biotechnology Information, 2017. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71308212>. Acesso em: 10 jul. 2017.

QUALITY máquinas e equipamentos: drageadeira QM - D100. 2017. Disponível em: <http://www.qualitymontagemindustrial.com.br/products.php?product=drageadeira-qm-%252d-d100>. Acesso em: 28 ago. 2016.

QUIDEAU, S.; DEFFIEUX, D.; DOUAT-CASASSUS, C.; POUYSÉGU, L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 50, n. 3, p. 586-621, 2011. DOI: 10.1002/anie.201000044.

RAMIRES, S. S. **Desenvolvimento de drageados de chocolate**. 2012. 77 f. Relatório de Estágio (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, 2012.

REBELLO, L. P. G. *et al.* Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Food Research International**, Ottawa, v. 54, n. 1, p. 354-366, 2013.

RENTZSCH, M.; WILKENS, A.; WINTERHALTER, P. Non-flavonoid phenolic compounds. *In*: MORENO-ARRIBAS, M. C.; POLO, M. C. (org.). **Wine chemistry and biochemistry**. New York: Springer, 2009. p. 509-527.

RIBÉREAU-GAYON, J. *et al.* **Tratado de enología**: química del vino, estabilización y tratamientos. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 2003.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, R.; SIMONSEN, U. Natural Triterpenoids from Olive Oil: Potential Activities Against Cancer. *In*: DIEDERICH, M.; NOWORYTA, K. (org.). **Natural Compounds as Inducers of Cell Death**. [s.l.] : Springer Science+Business Media. Dordrecht, 2012. p. 447–461.

RUIZ, A. *et al.* Hydroxycinnamic acids and flavonols in native edible berries of South Patagonia. **Food Chemistry**, Barking, v. 167, p. 84-90, 2015.

RUSCONI, M.; CONTI, A. Theobroma cacao L., the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 5-13, 2010.

RUSTIONI, L.; FIORI, S.; FAILLA, O. Evaluation of tannins interactions in grape (*Vitis vinifera* L.) skins. **Food Chemistry**, Barking, v. 159, p. 323-327, 2014.

SAMOTICHA, J.; WOJDYLO, A.; GOLIS, T. Phenolic composition, physicochemical properties and antioxidant activity of interspecific hybrids of grapes growing in Poland. **Food Chemistry**, Barking, v. 215, p. 263-273, 2017.

SÁNCHEZ-QUESADA, C.; LÓPEZ-BIEDMA, A.; GAFORIO, J. J. Oleanolic acid, a compound present in grapes and olives, protects against genotoxicity in human mammary epithelial cells. **Molecules**, Basel, v. 20, p. 13670–13688, 2015.

SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; JÁUREGUI, O.; CASALS, I.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). **Journal of Mass Spectrometry**, Chichester, v. 38, n. 1, p. 35-42, 2003.

SANTOS, E. H. B.; AZEVÊDO, L. C.; BATISTA, F. P. R.; MATOS, L. P.; LIMA, M. S. Caracterização química e sensorial de uvas desidratadas, produzidas no Vale do São Francisco para infusão. **Revista Semiárido De Visu**, Petrolina, v. 1, n. 2, p. 134-147, 2011.

SARAVACOS, G. D.; MAROUSIS, S. N.; RAOUZEOS, G. S. Effect of ethyl oleate on the rate of air-drying of foods. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 7, p. 263–270, 1988.

SARNECKIS, C. J.; DAMBERGS, R. G.; JONES, P.; MERCURIO, M.; HERDERICH, M. J.; SMITH, P. A. Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 12, n. 1, p. 39-49, 2006.

SASIKUMAR, K.; DUBEY, V.; GHOSH, A. R. Oleanolic acid from black raisins, *vitis vinifera* with antioxidant and antiproliferative potentials on hct 116 colon cancer cell line. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 56, p. 1–7, 2020.

SCHWINGSHACKL, L. *et al.* Impact of different types of olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and network meta-analysis. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, Oxford, v. 29, p. 1030–1039, 2019.

SERAFINI, M.; BUGIANESI, R.; MAIANI, G.; VALTUENA, S.; SANTIS, D. S.; CROZIER, A. Plasma antioxidants from chocolate. **Nature**, Paris, v. 424, p. 1013, 2003.

SERRATOSA, M. P.; LOPEZ-TOLEDANO, A.; MERIDA, J.; MEDINA, M. Changes in color and phenolic compounds during the raisining of grape Cv. Pedro Ximenez. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 8, p. 2810-2816, 2008.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 18, pt B, p. 820-897, 2015. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.018.

SHARMA, A. K.; SATISHA, J.; SOMKUWAR, R. G. **Raisin quality**: the deciding factors. Pune: National Research Centre for Grapes, 2013.

SHI, J.; PAN, Z.; MCHUGH, T. H.; WOOD, D.; ZHU, Y.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; HIRSCHBERG, E. Effect of berry size and sodium hydroxide pretreatment on the drying characteristics of blueberries under infrared radiation heating. **Journal of Food Science**, Malden, v. 73, n. 6, 2008.

SILVA, R. C. S. N.; MINIM, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S.; NASCIMENTO, M.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A. Quantitative sensory description using the optimized descriptive profile: comparison with conventional and alternative methods for evaluation of chocolate. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 30, n. 2, p. 169-179, 2013.

SIM, S. Y. J.; NG, J. W.; NG, W. K.; FORDE, C. G.; HENRY, C. J. Plant polyphenols to enhance the nutritional and sensory properties of chocolates. **Food Chemistry**, Barking, v. 200, p. 46-54, 2016.

SINGH, S. P.; JAIRAJ, K. S.; SRIKANT, K. Universal drying rate constant of seedless grapes: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 16, n. 8, p. 6295-6302, 2012.

SINGLETON, V. L.; SALGUES, M.; ZAYA, J.; TROUSDALE, E. Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 36, n. 1, p. 50-56, 1985.

SOLEAS, G. J.; DAM, J.; CAREY, M.; GOLDBERG, D. M. Toward the fingerprinting of wines: cultivar-related patterns of polyphenolic constituents in Ontario wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 10, p. 3871-3880, 1997.

SOUZA, R. T. *et al.* **Uvas-passas brasileiras**: matéria-prima e processamento. Bento Gonçalves: Embrapa, 2015. (Circular Técnica, 115).

STĂNCIUC, N. *et al.* Microencapsulation of anthocyanins from grape skins by whey protein isolates and different polymers. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 10, n. 9, p. 1715-1726, 2017.

STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2003.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3. ed. New York: Academic Press, 2004. DOI: 10.1016/b978-012672690-9/50008-1.

TAYOUB, G.; SULAIMAN, H.; ALORFI, M. Total resveratrol concentrations in some Syrian grape varieties. **Journal of Natural Products**, Gorakhpur, v. 7, p. 141-146, 2014.

TEIXEIRA, A. C. T.; FERNANDES, A. C.; GARCIA, A. R.; ILHARCO, L. M.; BROGUEIRA, P.; GONÇALVES DA SILVA, A. M. P. S. Microdomains in mixed monolayers of oleanolic and stearic acids: thermodynamic study and BAM observation at the air-water interface and AFM and FTIR analysis of LB monolayers. **Chemistry and Physics of Lipids**, Clare, v. 149, p. 1-13, 2007.

TEIXEIRA, A. C. T.; GARCIA, A. R.; ILHARCO, L. M.; GONÇALVES DA SILVA, A. M. P. S.; FERNANDES, A. C. Phase behaviour of oleanolic acid, pure and mixed with stearic acid: Interactions and crystallinity. **Chemistry and Physics of Lipids**, Clare, v. 163, p. 655-666, 2010.

TELIS, V. R. N.; LOURENÇON, V. A.; GABAS, A. L.; TELIS-ROMERO, J. Drying rates of Rubi grapes submitted to chemical pretreatments for raisin production. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 3, p. 503-509, 2006.

TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. *In*: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. (org.). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009. p. 463-507.

TODOROVIC, V.; REDOVNIKOVIC, I. R.; TODOROVIC, Z.; JANKOVIC, G.; DODEVSKA, M.; SOBAJIC, S. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 41, p. 137-143, 2015.

TOKER, O. S.; PALABIYIK, I.; KONAR, N. Chocolate quality and conching. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 91, p. 446-453, 2019.

TOMAS-BARBERÁN, F. A. *et al.* A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 10, p. 3926-3935, 2007.

TRIVEDI, P.; NGUYEN, N.; HYKKERUD, A. L.; HÄGGMAN, H.; MARTINUSSEN, I.; JAAKOLA, L.; KARPPINEN, K. Developmental and environmental regulation of cuticular wax biosynthesis in fleshy fruits. **Frontiers in Plant Science**, Zurich, v. 10, 2019.

TRUONG, T.; DAHAL, D.; URRUTIA, P.; ALVAREZ, L.; ALMONACID, S.; BHANDARI, B. Crystallisation and glass transition behaviour of Chilean raisins in relation to their sugar compositions. **Food Chemistry**, Barking, v. 311, p. 125929, 2020.

UHLIG, B. A.; WALKER, R. R.; STOREY, R. Mode of action of the drying emulsion used in dried vine fruit production: 1. The effect of inorganic ions and fatty acid esters. **Australian Journal of Grape and Vine Research**, Adelaide, v. 2, p. 84-90, 1996.

VALIÑAS, M. A.; LANTERI, M. L.; TEN HAVE, A.; ANDREU, A. B. Chlorogenic acid, anthocyanin and flavan-3-ol biosynthesis in flesh and skin of Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*). **Food Chemistry**, Barking, v. 229, p. 837-846, 2017.

VÁSQUEZ-PARRA, J. E.; OCHOA-MARTÍNEZ, C. I.; BUSTOS-PARRA, M. Effect of chemical and physical pretreatments on the convective drying of cape gooseberry fruits (*Physalis peruviana*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 119, p. 648-654, 2013.

VAZQUEZ, G.; CHENLO, F.; MOREIRA, R.; CRUZ, E. Grape drying in a pilot plant with a heat pump. **Drying Technology**, New York, v. 15, p. 899-920, 1997.

VIEIRA, D. M. **Avaliação física, química e sensorial de genótipos de uvas com potencial para produção de passas no submédio do vale do São Francisco**. 2016. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

VINHOLES, J.; SILVA, B. M.; SILVA, L. R. Hydroxycinnamic acids (HCAS): structure, biological properties and health effects. *In*: BERHARDT, L. V. **Advances in Medicine and Biology**. New York: Nova Science Publisher, 2015. v. 88, cap. 8, p. 1-33.

VIVAR-QUINTANA, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; FRANCA-ARICHA, E.; RIVAS-GONZALO, J. C. Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valência, v. 5, p. 347-352, 1999.

WAN, J.; VINSON, J. A.; ETHERTON, T. D.; PROCH, J.; LAZARUS, S. A.; KRIS-ETHERTON, P. M. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative

susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 74, p. 596-602, 2001.

WANG, D.; DUAN, C.-Q.; SHI, Y.; ZHU, B.-Q.; JAVED, H. U.; WANG, J. Free and glycosidically bound volatile compounds in sun-dried raisins made from different fragrance intensities grape varieties using a validated HS-SPME with GC–MS method. **Food Chemistry**, Barking, v. 228, p. 125-135, 2017.

WATERHOUSE, A. L.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. The occurrence of piceid, a stilbene glucoside, in grape berries. **Phytochemistry**, London, v. 37, p. 571-573, 1994.

WILLIAMSON, G.; CARUGHI, A. Polyphenol content and health benefits of raisins. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 30, p. 511-519, 2010.

WOLLGAST, J. **The contents and effects of polyphenols in chocolate**. 2004. 346 f. Tese (Doutorado) – Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences, Home Economics and Environmental Management, University Giessen, Gissen, 2004.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, Ottawa, v. 33, p. 423-447, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Promoting fruit and vegetable consumption around the world**. Genebra: WHO, 2016.

WORLD WEATHER ONLINE. **São José do Rio Preto historical weather**. 2020. Disponível em: <https://www.worldweatheronline.com/sao-jose-do-rio-preto-weather-history/sao-paulo/br.aspx>. Acesso em: 9 maio 2020.

XIA, E.; DENG, G.; GUO, Y.; LI, H. Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 11, p. 622-646, 2010.

XIE, L.; SU, H.; SUN, C.; ZHENG, X.; CHEN, W. Recent advances in understanding the anti-obesity activity of anthocyanins and their biosynthesis in microorganisms. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 72, p. 13-24, 2018.

ZHANG, Y.; BUTELLI, E.; MARTIN, C. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 19, p. 81-90, 2014.

ZHAO, B.; HALL, C. A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, Barking, v. 108, p. 511-518, 2008.

ŽIBERNA, L. *et al.* Oleanolic acid alters multiple cell signaling pathways: Implication in cancer prevention and therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 18, p. 1–16, 2017.

ZUITER, A. S. Proanthocyanidin: Chemistry and Biology : From Phenolic Compounds to Proanthocyanidins. In: REEDIJK, J. (ed.). **Reference module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**. Amsterdam, Elsevier, 2014. p. 1-29.

ZUPANCIC, S.; LAVRIC, Z.; KRISTL, J. Stability and solubility of trans-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 93, p. 196-204, 2015.

ŻYŻELEWICZ, D.; KRYSIAK, W.; ORACZ, J.; SOSNOWSKA, D.; BUDRYN, G.; NEBESNY, E. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. **Food Research International**, Ottawa, v. 89, p. 918-929, 2016.

8.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido –TCLE (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “Análise descritiva de drageados de uva passa com chocolate (RATA – *Rate All That Apply*)” sob responsabilidade da pesquisadora Carolina Olivati. O estudo será realizado através de análises sensoriais de drageados de uva passa com chocolate produzidos para a avaliação descritiva dos mesmos. Os riscos físicos à sua saúde são mínimos, embora os produtos sejam de consumo comum, além de serem manipulados utilizando-se as Boas Práticas de Manipulação/Fabricação. Você deverá informar a pesquisadora responsável caso possua alergia e/ou intolerância a algum dos ingredientes utilizados na formulação dos produtos: uva, chocolate, cacau e/ou goma acácia. Você poderá consultar a pesquisadora responsável em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone da instituição, para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos, independentemente do fato destes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre eventuais resultados decorrentes da pesquisa. No caso de eventual problema de saúde (efeito adverso) decorrente de sua participação nos testes sensoriais, você será encaminhado à Seção Técnica de Saúde do IBILCE, situado à Rua Cristóvão Colombo, 2265- Jardim Nazareth – São José do Rio Preto/SP – Telefones (17) 3221.2415 – 3221.2416 – 3221.2485.

Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, por favor, informe seus dados abaixo e assine este Termo.

Nome: _____ R.G. _____
Endereço: _____ Fone: _____
São José do Rio Preto, ____ de _____ de 2017

Usuário ou responsável legal

Pesquisador responsável

OBS.: Termo apresentado em duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante e a outra ao pesquisador.

Nome: Carolina Olivati	Cargo/Função: Aluna de Doutorado
Instituição: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos/Ibilce/Unesp	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Jardim Nazareth – São José do Rio Preto/SP – Telefone (17) 3221.2719	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP	
São José do Rio Preto – Fone (17) 3221.2480 e 3221.2545	

APÊNDICE B – Ficha Descritiva Prévia

Lista prévia de termos para sensorial de uvas passas drageadas com chocolate – Avaliadores treinados

Nome: _____ Data: _____

Amostra: _____

Termo descritor		Intensidade				
Aparência		1	2	3	4	5
		(fraca)		(moderada)		(forte)
☐	Cor Marrom	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Opacidade	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Rugosidade da cobertura	☐	☐	☐	☐	☐
Odor						
☐	Chocolate amargo	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Chocolate ao leite	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Gordura/Manteiga de Cacau	☐	☐	☐	☐	☐
Gosto e Sabor						
☐	Doce	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Azedo	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Amargo	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Chocolate amargo	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Chocolate ao leite	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Uva passa	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Gordura/ Manteiga de Cacau/ Amanteigado	☐	☐	☐	☐	☐
Textura						
☐	Maciez (<i>força necessária para obter uma deformação, penetração ou ruptura de um alimento</i>)	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Adesividade (<i>força requerida para remover o alimento de uma superfície (dentes, palato, etc)</i>)	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Textura gordurosa	☐	☐	☐	☐	☐
☐	Textura de umidade	☐	☐	☐	☐	☐

APÊNDICE C – Ficha de Recrutamento

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: ()F ()M Fumante: ()Sim ()Não

Escolaridade: _____

1. Indique de acordo com a escala abaixo a frequência com que você consome os seguintes produtos:

- | | |
|---|---------------------------|
| () Uva passa | (5) Diariamente |
| () Chocolate meio amargo | (4) Até 3x/semana |
| () Produtos que contenham uva passa
(ex. bolos, sorvetes, iogurtes, bolachas, cereais, etc) | (3) 1x/semana |
| () Produtos que contenham chocolate meio amargo
(ex. bolos, sorvetes, bolachas, cereais, etc) | (2) Quinzenalmente |
| | (1) Mensalmente |

2. Indique de acordo com a escala abaixo o quanto você gosta ou desgosta de cada um dos seguintes produtos

- | | |
|--|------------------------------------|
| () Uva passa | (9) Gosto muitíssimo |
| () Chocolate meio amargo | (8) Gosto muito |
| () Produtos que contenham uva passa | (7) Gosto moderadamente |
| () Produtos que contenham chocolate meio amargo | (6) Gosto ligeiramente |
| | (5) Não gosto/ nem desgosto |
| | (4) Desgosto ligeiramente |
| | (3) Desgosto moderadamente |
| | (2) Desgosto muito |
| | (1) Desgosto muitíssimo |

APÊNDICE D – Ficha de Aceitação Global

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

Você está recebendo um drageado de uva passa com chocolate (uva passa recoberta com chocolate), por favor, prove-o e indique na escala abaixo com um X o quanto você gostou ou desgostou do produto:

- () Gosto extremamente
- () Gosto muito
- () Gosto moderadamente
- () Gosto levemente
- () Não gosto/nem desgosto
- () Desgosto levemente
- () Desgosto moderadamente
- () Desgosto muito
- () Desgosto extremamente

APÊNDICE E – Ficha Descritiva Utilizada para Análise Final

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

Avalie o DRAGEADO DE UVA PASSA COM CHOCOLATE (uva passa recoberta com chocolate) e indique com um X o quão, em sua opinião, os termos se aplicam ou não a amostra.

	0 Não aplicável	1 Pouco aplicável	2	3	4	5 Muito aplicável
Aparência						
Cor Marrom	()	()	()	()	()	()
Opacidade	()	()	()	()	()	()
Rugosidade da cobertura	()	()	()	()	()	()
Odor						
Chocolate amargo	()	()	()	()	()	()
Chocolate ao leite	()	()	()	()	()	()
Gordura/Manteiga de Cacau	()	()	()	()	()	()
Gosto						
Doce	()	()	()	()	()	()
Azedo	()	()	()	()	()	()
Amargo	()	()	()	()	()	()
Sabor						
Chocolate amargo	()	()	()	()	()	()
Chocolate ao leite	()	()	()	()	()	()
Uva passa	()	()	()	()	()	()
Gordura/ Manteiga de Cacau/ Amanteigado	()	()	()	()	()	()
Textura						
Macio	()	()	()	()	()	()
Adesivo	()	()	()	()	()	()
Termos Hedônicos						
Gostoso	()	()	()	()	()	()
Agradável	()	()	()	()	()	()
Natural	()	()	()	()	()	()
Interessante	()	()	()	()	()	()
Prazeroso	()	()	()	()	()	()

Comentários: _____