



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José do Rio Preto

Carolina Olivati

Produção de uva passa de BRS Morena: pré-tratamento,
caracterização físico-química e composição fenólica

São José do Rio Preto

2016

Carolina Olivati

Produção de uva passa de BRS Morena: pré-tratamento,
caracterização físico-química e composição fenólica

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ellen Silva
Lago Vanzela

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto da
Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Isidro
Hermosín Gutiérrez

São José do Rio Preto

2016

Carolina Olivati

Produção de uva passa de BRS Morena: pré-tratamento,
caracterização físico-química e composição fenólica

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Ellen Silva Lago Vanzela

UNESP – São José do Rio Preto

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Natália Soares Jazantti

UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Afonso Mota Ramos

UFV – Viçosa

São José do Rio Preto

19 de fevereiro de 2016

Olivati, Carolina.

Produção de uva passa de BRS Morena : pré-tratamento, caracterização físico-química e composição fenólica / Carolina Olivati. --

São José do Rio Preto, 2016

105 f. : il., tabs.

Orientador: Ellen Silva Lago Vanzela

Corientador: Roberto da Silva

Corientador: Isidro Hermosín Gutiérrez

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e
Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Fenóis. 3. Uva – Brasil. 4.
Secagem.

I. Lago-Vanzela, Ellen Silva. II. Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e
Ciências Exatas.

III. Título.

CDU – 663.2

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE

UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

AGRADECIMENTOS

A 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.

A toda minha família pelos momentos de descontração e apoio.

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

A minha orientadora, Prof^a. Dra^a. Ellen, por acreditar no meu potencial e no meu trabalho, me incentivando e auxiliando durante todo esse período de aprendizado que foi o Mestrado.

Ao Prof. Dr. Isidro, pela ajuda nas análises cromatográficas, orientação e conhecimentos, sua ajuda foi de fundamental importância para a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto pela orientação e conhecimentos que me ajudaram a chegar aqui hoje.

As professoras do DETA, Prof^a. Dr^a. Cida pelo uso de seu laboratório de secagem e pela orientação, principalmente na secagem das uvas e, a Prof^a. Dr^a. Natália, pela paciência durante as análises estatísticas dos meus resultados, sua ajuda foi de grande importância.

A minha amiga, companheira de Mestrado e de laboratório Yara, por todos os momentos de apoio, descontração e por toda a ajuda e parceria durante e depois das análises.

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

A Marina e a Thaly, amigas de ontem hoje e sempre, o carinho, incentivo e apoio de vocês foi muito importante.

Ao técnico do Departamento de Engenharia de Alimentos Ginaldo pela amizade, colaboração, ajuda durante o desenvolvimento do meu trabalho, bem como ao técnico Luís principalmente pelos cafés de todos os dias.

A 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.

RESUMO

O processo de desidratação de uvas BRS Morena, pré-tratadas ou não com azeite extra-virgem (AV), para obtenção de passas, resultou em alterações na composição quantitativa e qualitativa dos compostos fenólicos identificados e quantificados utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo acoplada à sistema de ionização por eletronebulização e espectrômetro de massas de armadilha de íons (CLAE-DAD-IES-EM/EM). Resultado este evidenciado pela análise de componentes principais (ACP). Nas passas obtidas das uvas sem pré-tratamento, as antocianinas foram degradadas devido ao elevado tempo de exposição ao tratamento térmico. Com o pré-tratamento das uvas com AV, observou-se aceleração do processo de secagem para a obtenção das uvas passas (40% menor que o das uvas não pré-tratadas). Associado a maior permeabilidade de água nas bagas, houve uma maior difusão do oxigênio do ar exterior para dentro da uva, o que promoveu o desencadeamento de processos oxidativos de origem química e enzimática, que resultaram em retenções de flavonóis, derivados do ácido hidroxicinâmico e estilbenos menores quando comparadas as retenções para os mesmos compostos presentes nas passas sem pré-tratamento. Porém, grande concentração de antocianinas e proantocianidinas foram determinadas nestes produtos. Desse modo, pode-se inferir que o processamento com a adição de AV se mostrou eficiente do ponto de vista industrial, uma vez que promoveu redução do tempo total de secagem. Assim como, torna-se um processo alternativo interessante também do ponto de vista da saúde, já que preservou concentrações altas de flavonoides com importantes alegações de atividades biológicas.

Palavras-chave: BRS Morena. Composição fenólica. Uvas passas. Secagem.

ABSTRACT

The dehydration process of BRS Morena grapes, pretreated or not with extra virgin olive oil (AV), to obtain raisins, resulted in changes in the qualitative and quantitative composition of identified and quantified phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with detector diode arrangement coupled to the ionization system eletronebulização and spectrometer ion trap mass (HPLC-DAD-ESI-MS / MS). Result evidenced by principal component analysis (PCA). In raisin obtained without pretreatment, anthocyanins have been extensively degraded due to the high time of exposure to heat treatment. With the pretreatment with AV of grapes, there was a significant acceleration of the drying process for obtaining the raisins (40% lower than non-pretreated grapes). Associated with increased permeability of water in the grapes, there was a greater spread of outside air oxygen into the grape, which promoted oxidative processes of chemical and enzymatic origin, resulting in retention of flavonols, hydroxycinnamic acid derivatives and stilbene, lower when compared to retention values for the same compounds in raisins without pretreatment. Thus, it can inferred that the processing with the addition of AV was efficient from the industrial point of view, since it promoted reduction in total drying time. As become an interesting alternative process also from a health point of view, since high concentrations of flavonoids preserved with important biological activities claims.

Keywords: *BRS Morena. Phenolic composition. Raisins. Drying.*

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ilustração da uva BRS Morena (Fonte: LAGO-VANZELA, 2011).....	20
Figura 2. Principais compostos fenólicos classificados como flavonoides e não-flavonoides (Fonte: LAGO-VANZELA, 2011).....	21
Figura 3. Flavonol 3-O- <u>glicosídeos</u> identificados em uvas do gênero <i>Vitis vinifera</i> : a) flavonol 3-O- <u>glucosídeos</u> ; b) flavonol 3-O- <u>galactosídeos</u> ; c) flavonol 3-O- <u>glucuronídios</u> ; d) rutina (quercetina 3-O-(6"-ramnosil)- <u>glicosídeo</u>). Estruturas flavonoides de acordo com a substituição no anel B: Kaempferol (R1 = R2 = H); Quercetina (R1 = OH, R2 = H); Isoramnetina (R1 = OCH ₃ , R2 = H); Miricetina (R1 = R2 = OH); Laricitrina (R1 = OCH ₃ , R2 = OH); Siringetina (R1 = R2 = OCH ₃). (Fonte: HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011).....	26
Figura 4. Fórmula estrutural das procianidinas (Fonte: Adaptado de QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002).....	29
Figura 5. Estrutura geral dos ácidos hidróxicinâmicos e seus derivados apresentados neste estudo (Fonte: Adaptado de MEYER et al., 1998).....	31
Figura 6. Trans-resveratrol e seus derivados (Fonte: Adaptado de LAGO-VANZELA, 2011).....	32
Figura 7. Esquema de formação do GRP. (Fonte: LAGO-VANZELA, 2011).....	36
Figura 8. Estruturas das vitisinas A e B. (Fonte: Adaptado de MÁRQUEZ et al., 2012a).....	37
Figura 9. Ilustração do secador de leito fixo utilizado para a desidratação das uvas (A) e da pesagem das bandejas ao longo do processo de secagem (B)....	43
Figura 10. Antocianinas presentes na uva BRS Morena in natura, (a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 520 nm. A identificação dos picos está apresentada na Tabela 4.....	57
Figura 11. Análise dos componentes principais (a) das amostras de uvas BRS Morena in natura (MUINT-1, 2,3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1,2,3) e passas de BRS Morena com azeite (MPSA-1,2,3); (b) do perfil das antocianinas.....	64

Figura 12. Derivados dos ácidos hidróxicinâmicos e Estilbenos presentes na uva BRS Morena (in natura, a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 320 nm. A identificação dos picos está apresentada na Tabela 4	67
Figura 13. Análise dos componentes principais (a) das amostras de uvas BRS Morena in natura (MUINT-1, 2, 3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas de BRS Morena com azeite (MPSA-1, 2, 3); e (b) da composição de estilbenos e derivados hidróxicinâmicos.....	72
Figura 14. Flavonóis presentes na uva BRS Morena (in natura, a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 360nm. A identificação dos picos está apresentada na Tabela 6	75
Figura 15. Análise dos componentes principais (a) das amostras de uvas BRS Morena in natura (MUINT-1, 2, 3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas de BRS Morena com azeite (MPSA-1, 2, 3); e (b) da composição de flavonóis.....	80
Figura 16. Análise dos componentes principais (a) das amostras de uvas BRS Morena in natura (MUINT-1, 2, 3), passas sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas com azeite (MPSA-1, 2, 3); e (b) da composição de flavan-3-óis e proantocianidinas.....	87

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Estrutura da aglicona (cátion flavílio) e antocianidinas mais comuns presentes nas uvas (Fonte: adaptado de LAGO-VANZELA et.al., 2015).....	23
Tabela 2. Exemplos de flavan-3-óis presentes nas uvas: C: (+)-catequina; E: (-)-epicatequina; ECG: (-)-galato-3-epicatequina; GC: (+)-galocatequina; EGC: (-)-epigalocatequina; GCG: (+)-galato-3-galocatequina; EGCG: (-)-galato-3-epigalocatequina. *G: ácido gálico. Fonte: Adaptado de Lago-Vanzela (2011)...	27
Tabela 3. Características espectrais (EM/EM) das antocianinas identificadas na uva BRS Morena (in natura, uvas passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM (modo positivo de ionização) e proporção molar (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentração total expresso em kg de uva in natura e kg de uva passa. Compostos numerados segundo Figura 10	59
Tabela 4. Características espectrais (EM/EM) dos derivados dos ácidos hidróxicinâmicos (DAHC) e estilbenos identificados na uva BRS Morena (in natura, uvas passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM, e proporção molar (valor médio $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentração total. Compostos numerados segundo Figura 12	66
Tabela 5. Características espectrais (EM/EM) dos flavonóis identificados nas amostras de BRS Morena (in natura, passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentração total. Compostos numerados segundo Figura 14	76
Tabela 6. Concentrações dos Flavan-3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) de BRS Morena in natura e passas sem e com azeite.....	86
Tabela 7. Caracterização estrutural das proantocianidinas (MV $\pm$ SD: MDP, grau médio de polimerização; % Galoilação, % de unidades 3-galato; % Prodelfinidinas, % de epigalocatequina; e % de cada um dos monômeros de flavan-3-ol sob a forma de extensão e unidades terminais) de BRS Morena in natura, e passas sem e com azeite.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS

cy	Cianidina
dp	Delfinidina
mv	Malvidina
pg	Pelargonidina
pn	Peonidina
pt	Petunidina
glc	Glicosídeo
acglc	acetil-glicosídeo
cmglc	cumaril-glicosídeo
K	Kaempferol
Q	Quercetina
I	Isoramnetina
M	Miricetina
L	Laricitrina
S	Siringetina
C	(+)-catequina
E	(-)-epicatequina
ECG	(-)-galato-3-epicatequina
GC	(+)-galocatequina
EGC	(-)-epigalocatequina
GCG	(+)-galato-3-galocatequina
EGCG	(-)-galato-3-epigalocatequina
PPO	Polifenoloxidase
GRP	Ácido 2-S-glutationil- <i>trans</i> -caftárico
MUINT	Amostras de uvas BRS Morena <i>in natura</i>
MPSA	Uvas passas de BRS Morena sem azeite
MPCA	Uvas passas de BRS Morena com azeite
m/z	Relação massa carga
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
IES	Sistema de ionização por eletronebulização
EM	Espectometria de massas
EIC	Cromatogramas de íons extraídos
DAHC	Derivados do ácido hidróxicinâmico
PA	Proantocianidina
ND	Não detectado
ACP	Análise dos componentes principais
CP	Componente principal

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Objetivo Geral.....	17
2.2. Objetivos Específicos.....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1. Cenário no Brasil e no Estado de São Paulo para Processamento de Uvas Passas.....	18
3.2. Principais Compostos Fenólicos Presentes nas Uvas.....	20
3.2.1. <i>Antocianinas</i>	22
3.2.2. <i>Flavonóis</i>	25
3.2.3. <i>Flavan-3-óis e proantocianidinas</i>	27
3.2.4. <i>Derivados dos ácidos hidroxicinâmicos</i>	30
3.2.5. <i>Estilbenos</i>	31
3.3. Obtenção de Uvas Passas: Desafios Tecnológicos e Efeito Sobre os Compostos Fenólicos Presentes nas Uvas.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1. Reagentes Químicos.....	39
4.2. Uvas.....	41
4.3. Produção das Uvas Passas.....	42
4.4. Obtenção dos Extratos Fenólicos.....	44
4.5. Identificação e Quantificação de Compostos Fenólicos da Uva <i>In Natura</i> e Passas Com e Sem Azeite de BRS Morena por CLAE-DAD-ESI-EM ⁿ	45
4.5.1. <i>Antocianinas e compostos derivados, flavonóis, derivados do ácido hidroxicinâmico e estilbenos</i>	45

4.5.2. Flavan-3-óis monômeros e dímeros, e proantocianidinas (taninos condensados)	47
4.5.3. Quantificação das proantocianidinas por precipitação com metil-celulose.....	52
4.6. Análise Estatística.....	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1. Obtenção das Uvas Passas.....	54
5.2. Determinação do Perfil Qualitativo e Quantitativo de Compostos Fenólicos Presentes na Uva BRS Morena e Suas Respectivas Passas Produzidas Com eSem Azeite por CLAE-DAD-IES-EM/EM.....	56
5.2.1. Antocianinas.....	56
5.2.2. Derivados do ácido hidróxicinâmico e estilbenos.....	65
5.2.3. Flavonóis.....	73
5.2.4. Flavan-3-óis monômeros e dímeros e proantociandinas.....	81
6. CONCLUSÕES.....	90
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

1. INTRODUÇÃO

A uva é uma das frutas mais consumidas na sua forma *in natura* e considerada matéria prima economicamente importante devido seu uso na elaboração de produtos de consumo mundial, tal como vinhos, sucos, geleias e uvas passas (GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014). Nutricionalmente, a uva é considerada uma das mais importantes formas de incorporar compostos fenólicos (antocianinas, flavan-3-óis, flavonóis e estilbenos) na dieta (LAGO-VANZELA et al., 2011 a,b; MAXCHEIX; FLEURIET; BILLOT, 1990; REBELLO et al., 2013; RIBÉREAU-GAYON et al., 2000; XIA et al., 2010). Além disso, juntamente com os carotenoides, vitamina E e C, são compostos reconhecidos como promotores da saúde humana (CARTER et al. 2010; JIMENEZ-GARCIA et al., 2013; GIOXARI et al., 2016; LIU, 2013; OYEBODE et al., 2014; SZAJDEK; BOROWSKA, 2008; WANG et al., 2011).

Dentre os produtos derivados de uvas, as passas, elaboradas preferencialmente com uvas apirênicas, tem-se destacado na última década (BENLLOCH-TINOCO et al., 2015; PENSA, 2008) pois, além de aliar tendências de mercado como “saudabilidade e bem-estar” e “conveniência e praticidade”, permitem o aproveitamento integral e agregação de valor a fruta *in natura* e fácil incorporação em outros alimentos como iogurtes, bolos, panetones, sorvetes, granolas, barras de cereais, entre outros (DOYMAZ, 2006).

No Brasil, praticamente toda a uva passa consumida é importada de países como Estados Unidos Argentina, Chile, África do Sul, Emirados Árabes e Irã. O volume importado tem crescido significativamente (FREITAS et.al., 2013), sendo a cultivar *Thompson seedless* a matéria prima predominante para a produção de passas (BREKSA III et al., 2010). Consonante com a demanda de mercado, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem investido na prospecção e desenvolvimento, por melhoramento genético, de uvas de mesa apirênicas com potencial para elaboração de passas (CAMARGO et al.,

2003). Dentre elas, destaca-se a BRS Morena (*Marroo seedless* x *Centennial seedless*), uma vez que apresenta sabor agradável, textura firme e grandes bagas contendo importante concentração e perfil de compostos fenólicos (LAGO-VANZELA et al., 2011a; CAMARGO et al., 2003). Estudo preliminar demonstrou que as passas elaboradas com esta cultivar apresentaram sabor agradável, boa aparência e maciez, bem como aroma característico (FREITAS et al., 2013).

No processo de secagem de uvas para produção de passas, devida atenção tem sido dada as operações e eficiência do processo, pois as mesmas são diretamente influenciadas pelas características intrínsecas das uvas como, por exemplo, tamanho e volume das bagas, concentração de açúcar e, presença de pruína, membrana cuticular contínua cobrindo a epiderme das bagas que contém uma camada fina de cera (ESMAILI et al., 2007; DOYMAZ, 2006). A pruína, em particular, promove uma barreira efetiva contra a perda de água por parte da baga resultando em lenta taxa de remoção de água durante o processo de desidratação (JAIRAJ et al., 2009). Em consequência, os compostos fenólicos presentes na uva podem ser expostos por longos períodos de tempo a diferenciadas temperaturas e ao oxigênio, desencadeamento inúmeros processos degradativos de origem química e bioquímica que podem levar à formação de novos compostos com coloração e atividade biológica diferentes dos originalmente presentes na fruta *in natura* (CARRANZA-CONCHA et al., 2012; ESMAILI et al., 2007; KARADENIZ; DURST; WROLSTAD, 2000; YEUNG et al., 2003).

Para acelerar o processo de desidratação das uvas visando obtenção das passas, vários pré-tratamentos químicos já foram aplicados e investigados (JAIRAJ et al., 2009; BINGOL et al., 2012; TELIS et al., 2006; UHLIG; WALKER; STOREY, 1996; VAZQUEZ et al., 1997). Vazquez et al. (1997) relataram que a utilização de soluções de carbonato de potássio no pré-tratamento das uvas promove a formação de microfissuras nas cascas da uva, podendo acarretar alguns efeitos como

eliminação de ceras, desesterificação das pectinas e, colapso das células e ligações intracelulares da uva, além de também neutralizar os ácidos graxos livres, aumentando, consequentemente, a perda de água (GRNCAREVIC, 1963). Muitas vezes, uma solução alcalina é combinada com outros componentes como azeite (TELIS et al., 2006) ou oleato de etila (BINGOL et al., 2012; DOYMAZ, 2006; GABAS; MENEGALLI; TELIS-ROMERO, 1999) com o intuito de aumentar as taxas de secagem. Esse aumento na taxa de secagem ocorre tanto no princípio do processo, pela formação de micro poros sobre a superfície da casca, quanto nas fases posteriores de secagem, melhorando a difusão do vapor d'água e acelerando o processo de desidratação (GRNCAREVIC, 1963; RIVA; PERI; LOVINO, 1986). No entanto, a presença de resíduos de aditivos químicos nas uvas passas pode acarretar problemas para a saúde humana (ADILETTA et al., 2016).

Dessa maneira, estudos mais aprofundados visando a compreensão e melhoria de técnicas alternativas de pré-tratamentos, utilizando produtos ou compostos naturais, ao processo de secagem de uvas, bem como sobre os compostos fenólicos presentes nestes produtos elaborados com uvas brasileiras é condição *sine qua non* para alavancar a qualidade dos produtos nacionais.

Assim, este projeto objetivou a determinação das alterações qualitativas e quantitativas dos compostos fenólicos de uvas passas elaboradas a partir da cultivar apirênica BRS Morena, pré-tratadas ou não com azeite extra virgem como tensoativo natural. Para a obtenção das uvas passas foi empregada secagem convectiva convencional e o perfil dos compostos fenólicos das uvas *in natura* e processadas foi determinado por CLAE-DAD-IES-EM-EM. Um estudo comparativo da composição qualitativa e quantitativa dos compostos fenólicos entre as uvas passas e entre as passas e as uvas *in natura* foi realizado, utilizando análise multivariada de componentes principais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral foi a determinação das alterações qualitativas e quantitativas nos compostos fenólicos, ocasionadas pelo processo de secagem aplicado às uvas sem e com pré-tratamento com azeite extra virgem (tensoativo natural), utilizando CLAE-DAD-IES-EM-EMⁿ e análise multivariada de componentes principais.

2.2 Objetivos Específicos

- 1) Elaboração de uvas passas a partir da cultivar BRS Morena por secagem convectiva convencional com e sem a utilização de azeite extra-virgem como agente tensoativo;
- 2) Determinação da composição fenólica detalhada (antocianinas, flavonóis, derivados do ácido hidroxicinâmico, estilbenos, flavan-3-óis monômeros e dímeros e, proantocianidinas) das uvas *in natura* e passas utilizando CLAE-DAD-ESI-EM-EMⁿ, com intuito de identificar as alterações qualitativas e quantitativas ocasionadas após o processo de secagem;
- 3) Estudo comparativo dos resultados referentes ao perfil de compostos fenólicos bem como das concentrações totais das principais classes de compostos fenólicos presentes nas uvas passas (com e sem pré-tratamento com azeite extra virgem utilizando análise multivariada de componentes principais, a fim de apontar as principais diferenças com relação a composição fenólica presente na uva *in natura*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cenário no Brasil e no Estado de São Paulo para Processamento de Uvas Passas

Segundo dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), a uva está entre as cinco frutas mais produzidas no mundo (aproximadamente 69 milhões de toneladas), sendo que no Brasil, a produção de uvas, entre 2010 e 2013, apresentou um crescimento de aproximadamente 11,75% (FAO, 2014). O crescente desenvolvimento na tecnologia de produção de uvas é resultado de um esforço conjunto de produtores, empresários, técnicos e pesquisadores, responsáveis pela inserção de conceitos como melhoramento genético, padrões de qualidade, segurança alimentar, alimentos funcionais e sustentabilidade ambiental e econômica.

No Estado de São Paulo, considerado maior polo de produção de frutas no Brasil, há uma expressiva produção de uvas (3ª maior do país, atrás do Rio Grande do Sul e Pernambuco) (MELLO, 2013), com potencial de crescimento. A viticultura no Estado é baseada, principalmente, em pequenas propriedades, sendo grande geradora de renda e empregos.

Na região do Noroeste Paulista, no município de Jales, por exemplo, a produção de uvas pirênicas (com sementes) e apirênicas (traços ou ausência de sementes), sucos e vinhos já vêm sendo incentivada há alguns anos, por entidades ligadas à agricultura como Sindicato Rural, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) e EMBRAPA. Os produtores desta região estão interessados em investir no desenvolvimento de novos produtos derivados de uvas utilizando mão de obra familiar, sustentáveis no contexto local para aumento da renda familiar.

A produção de uvas desidratadas (passas), especialmente utilizando secagem convectiva, pode ser uma alternativa viável para agregar valor a

fruta, uma vez que esta técnica é simples e necessita de baixos investimentos (MRKIĆ; UKRAINCZYK; TRIPALO, 2007; GUINÉ et al., 2009).

A uva passa é fonte de carboidratos, além de conter ferro, vitaminas A, B1, B2, B3, B6 e minerais (DOYMAZ, 2006). Possuem grande importância dentro das frutas desidratadas não só devido seu valor nutricional como também por serem utilizadas como ingredientes secundários na produção de cereais, lácteos e produtos de panificação e confeitaria (DOYMAZ, 2006). Até o momento, há poucos produtores nacionais no mercado específico de uvas de mesa apirênicas (HORTINET, 2014), que são as matérias-primas ideais para a produção de passas. Dentre as uvas de mesa mais utilizadas para esta finalidade incluem: *Thompson seedless*, *Black corinto*, *Fiesta*, *Muscats* e *Sultans*, sendo mais da metade das uvas passas produzidas no mundo provenientes da Thompson Seedless, das quais 90% são originárias da Califórnia (ROMANOWSKI, 2014). No período entre 2005 e 2012, o volume de uvas passas importadas pelo Brasil aumentou cerca de 36% (SOUZA et al., 2014).

Com o intuito de desenvolver novas cultivares de uvas com maior adaptação climática e/ou com maior concentração de pigmentos visando o uso como matéria-prima para melhorar as características de produtos derivados, a Embrapa Uva e Vinho possui um Programa de Melhoramento Genético (CAMARGO, 2003; RITSCHER et al, 2012; MAIA, 2009). Em estudo recente, a Embrapa identificou algumas cultivares apirênicas com bom potencial para a elaboração de uvas passas, dentre as quais pode-se citar a BRS Morena (FREITAS et al., 2013).

A uva BRS Morena (**Figura 1**), desenvolvida através do cruzamento de *Marroo Seedless* e *Centennial Seedless*, é uma cultivar tinta, apirênica, com cacho de tamanho médio a grande, polpa incolor, bom equilíbrio entre açúcar e acidez, o que lhe confere além de sabor agradável um elevado potencial glucométrico (próximo de 20 °Brix)

(CAMARGO et al., 2003). Esta cultivar apresenta interessante perfil e concentração de compostos fenólicos (LAGO-VANZELA et al., 2011a).

Figura 1: Ilustração da uva BRS Morena

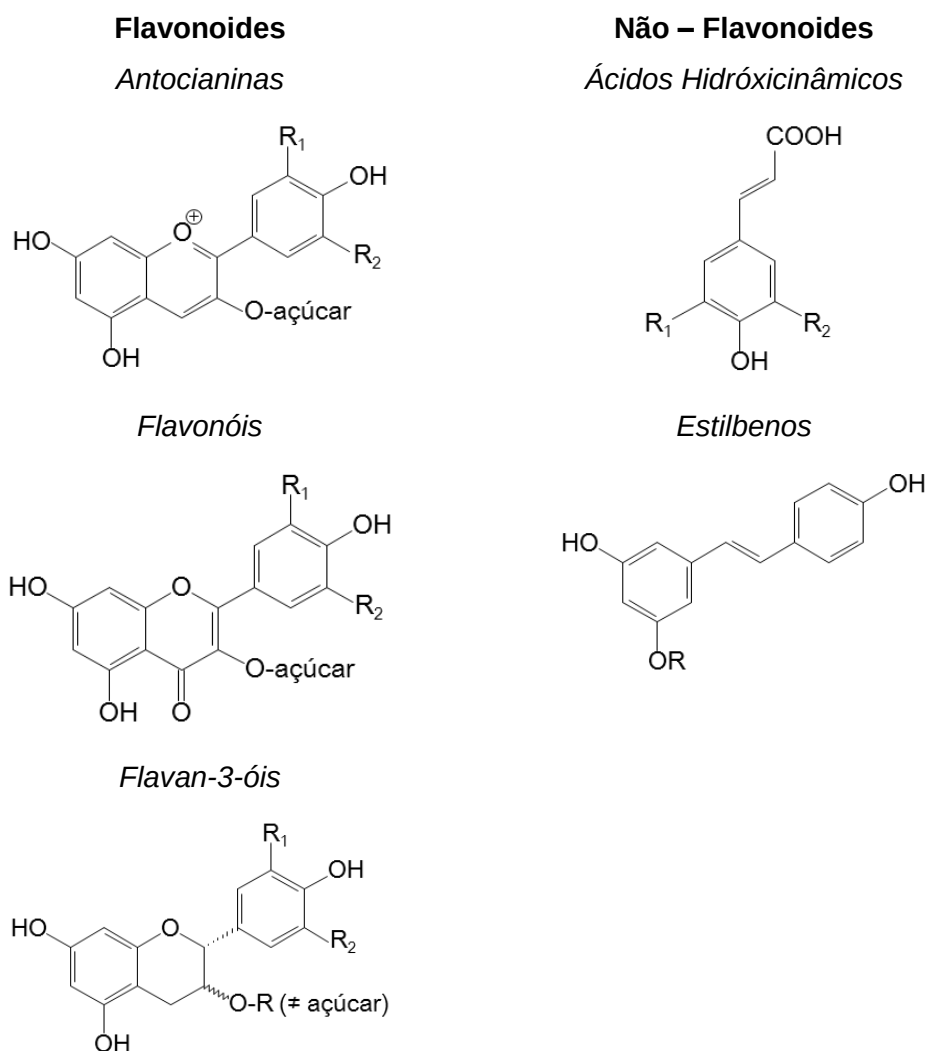


Fonte: LAGO-VANZELA, 2011.

3.2. Principais Compostos Fenólicos Presentes nas Uvas

De maneira geral, os compostos fenólicos encontrados nas uvas podem ser divididos em dois grandes grupos, os flavonoides e os não-flavonoides. O primeiro grupo é encontrado, principalmente, nas cascas das uvas e, ocasionalmente, na polpa. Entre os compostos desse grupo (flavonoides) podem-se destacar as antocianinas, os flavonóis e os flavan-3-óis. Já no segundo grupo (não-flavonoides), encontrado principalmente na casca e na semente, podemos destacar os derivados do ácido hidroxicinâmico e os estilbenos, com destaque para o resveratrol (**Figura 2**) (JACKSON, 1994; LAGO-VANZELA, 2011).

Figura 2. Principais compostos fenólicos classificados como flavonoides e não-flavonoides.



Fonte: LAGO-VANZELA, 2011.

Estes compostos têm grande destaque na literatura mundial em função das suas possíveis alegações de propriedades funcionais. Isto se deve, em grande parte, a possibilidade de alguns compostos fenólicos atuarem como sequestradores de radicais livres das células (PRIOR et al., 1998), além de participarem da regeneração de outros antioxidantes como a vitamina E o ácido ascórbico, o que resulta na proteção dos

constituintes celulares contra danos oxidativos (FRANKEL; WATERHOUSE; TEISSEDRE, 1995; HERTOOG et al. 1993; KAUR; KAPOOR, 2001, 2002).

Essas habilidades de um composto fenólico e seus metabólitos sequestrarem radicais livres, quelar metais com atividade redox e, atenuar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, estão diretamente ligadas à estrutura química da molécula, em especial o número, posição e tipos de substituintes presentes (HEIM; TAGLIAFERRO; OBILYA, 2002), por exemplo, a presença do grupo *orto*-dihidroxi (ou grupos catecol) no anel B, dupla ligação (C2-C3) conjugada com a função 4-oxo, e grupos hidroxilas na posição 3 e 5 (LAGO-VANZELA, 2011; HAENEN et al., 2006; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002).

Para melhor entendimento das características químicas dos compostos fenólicos presentes nas partes comestíveis da uva e como isto pode influenciar na sua estabilidade durante o seu processamento na forma de passas, a seguir está apresentado com mais detalhes as principais classes de compostos fenólicos.

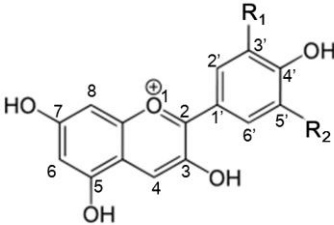
3.2.1. Antocianinas

Dentre os compostos fenólicos do tipo flavonoides, as antocianinas são o segundo grupo mais importante de pigmentos de origem vegetal, atrás apenas da clorofila (HARBORNE; GRAYER, 1995). Responsáveis pela coloração de uvas tintas e seus produtos, ocorrem principalmente nas cascas das uvas, com exceção de algumas variedades/cultivares, nas quais estes compostos estão também presentes na polpa (MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009; LAGO-VANZELA et al., 2015).

A estrutura básica destes compostos é a aglicona, sendo formada por dois anéis fenólicos A e B e um anel heterocíclico pirano C (**Tabela 1**) (HARBORNE; WILLIAMS, 1995). Elas podem atuar como agentes eletrófilos (forma flavílio) através do seu C-2 e C-4, posicionados no anel C, ou como nucleófilos formado através do seu C-6 e C-8, posicionados

no anel A, de acordo com o pH do meio onde estão inseridas (MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009).

Tabela 1. Estrutura da aglicona (cátion flavílio) e antocianidinas mais comuns presentes nas uvas.

Estrutura básica da Aglicona	Antocianidina	Grupos Substituintes
	Pelargonidina (Pg)	R ₁ = R ₂ = H
	Cianidina (Cy)	R ₁ =OH; R ₂ = H
	Peonidina (Pn)	R ₁ = OCH ₃ ; R ₂ = H
	Delfinidina (Df)	R ₁ = R ₂ = OH
	Petunidina (Pt)	R ₁ = OH; R ₂ = OCH ₃
	Malvidina (Mv)	R ₁ = R ₂ = OCH ₃

Fonte: adaptado de LAGO-VANZELA et al., 2015.

Em meio ácido ou neutro, coexistem em equilíbrio quatro diferentes estruturas das antocianidinas: o cátion flavílio (vermelho) (**Tabela 1**), a base quinoidal (azul), o hemicetal ou pseudo-base carbinol (incolor) e a chalcona (incolor) (MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009).

As agliconas livres possuem alta reatividade em função da deficiência eletrônica do cátion flavílio, fazendo com que sejam encontradas, geralmente, unidas a uma ou mais moléculas de açúcar (glicose, arabinose, ramnose, galactose, etc ou di- e trissacarídeos constituídos por estes açúcares) por meio de uniões hemiacetálicas (LAGO-VANZELA et.al., 2015; BROUILLARD, 1982). As antocianinas podem ser classificadas em mono-, di- e triglicosídeos, de acordo com o número de açúcares ligados a antocianidina (LAGO-VANZELA et.al., 2015; MAZZA; MINIATI, 1993).

Em muitos casos, os açúcares das antocianinas estão esterificados com ácidos orgânicos, os quais estão normalmente ligados ao carbono 6 da molécula de açúcar. Entre os ácidos orgânicos mais comuns estão ácido acético, *p*-cumárico, cafeíco, entre outros, que resultaram nas antocianinas aciladas denominadas antocianinas acetiladas, *p*-cumariladas e cafeiladas, respectivamente. As antocianinas não esterificadas são denominadas não aciladas.

Na casca de uvas viníferas (*V. vinifera*) são encontradas, principalmente, as antocianinas 3-O-monoglicosiladas das seis principais antocianidinas (pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina), que diferem entre si pelo número e posição dos grupos hidroxila e metoxila no anel B da molécula (MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009). Já em uvas não viníferas (*V. labrusca* e variedades americanas híbridas) ocorrem, principalmente, antocianidinas-3,5-diglicosídeos (BALDI et al. 1995; VIDAL et al. 2004; MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009). A concentração e proporção das antocianinas nas uvas variam de acordo com a maturação, condições climáticas, local de produção e variedade/cultivar da mesma (ROGGERO et al., 1986a; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ et al., 1990; VIVAS et al., 2001). De modo geral, nas uvas *V. vinifera* tintas a malvidina-3-glicosídeo e seus derivados (principalmente os derivados acetilados e *p*-cumarilados) são as principais antocianinas encontradas. Porém, em uvas não viníferas, a antocianidina majoritária pode diferir, tal como relatado para a uva BRS Violeta, no qual houve predominância das antocianinas derivadas da delphinidina (REBELLO et al., 2013).

Desta maneira, o perfil antociânico tem sido usado como critério quimiotaxonomico para estabelecer diferenças entre as variedades e/ou cultivares de uva, sendo que a relação entre as concentrações individuais e totais das diferentes antocianinas tem sido proposta para a caracterização varietal (ROGGERO et al., 1986b; ORTEGA MEDER et al.,

1994; BALDI et al., 1993; MATTIVI et al., 2006; MONAGAS; BARTOLOMÉ, 2009).

Com relação a atividade biológica, estudos revelaram que as antocianinas apresentam atividade antioxidante, propriedade esta que desempenha um importante papel na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, entre outras (KAMEI et al., 1995; KOŃCZAK; ZHANG, 2004, LULE; XIA, 2005; NICHENAMETLA et al., 2006). Isto porque as antocianinas são capazes de capturar os radicais livres pela doação de átomos de hidrogênio fenólico (CHEN et al., 1996; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

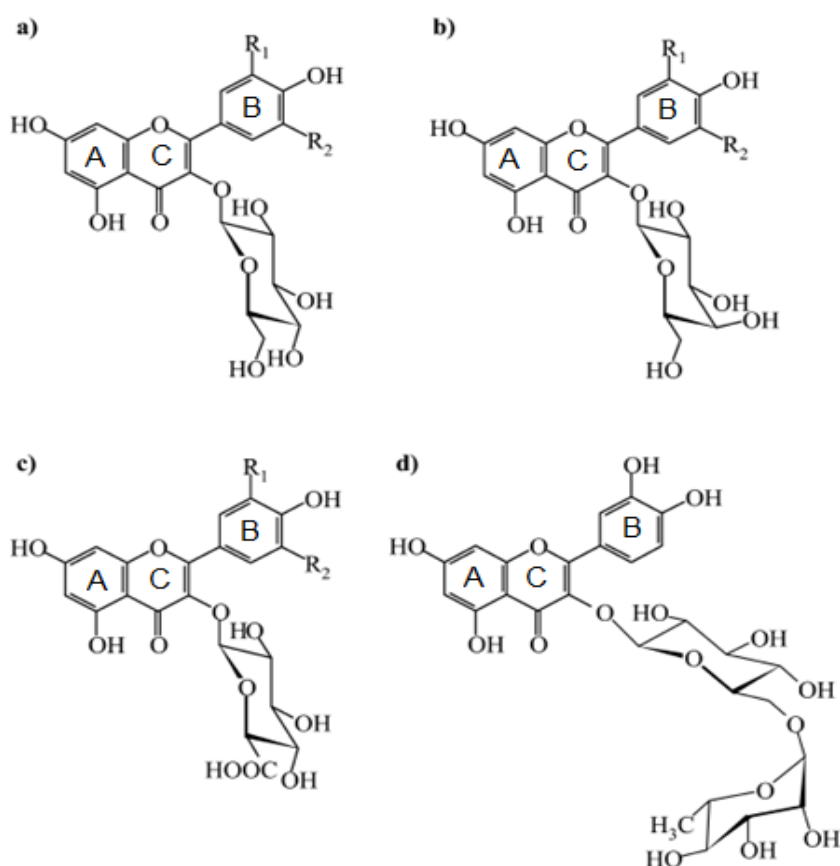
3.2.2. Flavonóis

Nas uvas, os flavonóis ocorrem, principalmente, na casca, geralmente sob a forma de glicosídeos (FLINT; JORDAN; CALDWELL, 1985). Além disso, nas uvas brancas são os principais compostos contribuintes da atividade antioxidante (RUIZ et al., 2015) e podem ser utilizados na classificação taxonômica das variedades de uvas (MASA et al., 2007). Assim como os demais compostos fenólicos, a concentração e o perfil dos flavonóis nas uvas dependem não somente do fator genético, mas também do grau de maturação e das condições do ambiente onde as mesmas se encontram (DOWNEY; DOKOOZLIAN; KRSTIC, 2006).

Estes compostos possuem uma estrutura básica semelhante as antocianidinas, porém, como característica principal, possuem os grupos carbonilo e hidroxílico no anel C (LAGO-VANZELA, 2011). A **Figura 3** apresenta as principais estruturas de flavonóis encontradas, principalmente, nas variedades de uvas tintas (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011). Nestas últimas, os mais encontrados são os derivados da miricetina e da quercetina (LEONG; OEY, 2012), geralmente, nas formas glicosiladas e, em menor grau, ligados a galactosídeos e glucuronídeos (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Embora alguns autores descrevam que as formas glicosiladas de miricetina e de isoramnetina ocorrem,

especificamente, em uvas tintas (CHEYNIER; RIGAUD, 1986), alguns estudos demonstram a presença destes compostos em variedades de uvas brancas (RODRIGUEZ-MONTEALEGRE et al., 2006; SERRATOSA et al., 2008).

Figura 3. Flavonol 3-O-glicosídeos identificados em uvas do gênero *Vitis vinifera*: a) flavonol 3-O-glucosídeos; b) flavonol 3-O-galactosídeos; c) flavonol 3-O-glucuronídeos; d) rutina (quercetina 3-O-(6"-ramnosil)-glicosídeo). Estruturas flavonoides 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).



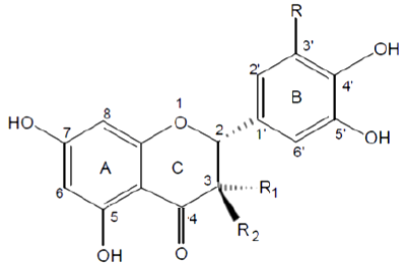
Fonte: HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al. (2011).

Estes compostos têm sido amplamente estudados devido a seus possíveis efeitos biológicos importantes que estão relacionados com atividade antioxidante (TAI et al., 2012). Dentre suas alegações de propriedade funcional reportadas na literatura tem-se a proteção contra patologias tais como vários tipos de câncer (TSIMPLOULI et al., 2012), doenças cardiovasculares (PEREZ-VIZCAINO; DUARTE, 2010), além de suas propriedades antibacterianas (URZUA; ECHEVERRIA; ESPINOZA, 2012).

3.2.5. Flavan3-óis e proantocianidinas

Os flavan-3-óis são compostos encontrados em maior quantidade nas sementes e nos engaços das uvas e são responsáveis pelo sabor e adstringência, principalmente, em sucos e vinhos. Dentre os flavan-3-óis, os principais encontrados nas uvas são a (+)-catequina e seu isômero (-)-epicatequina, os quais podem estar em parte esterificados pelo ácido gálico (**Tabela 2**) (LAGO-VANZELA, 2011).

Tabela 2. Exemplos de flavan-3-óis presentes nas uvas: C: (+)-catequina; E: (-)-epicatequina; ECG: (-)-galato-3-epicatequina; GC: (+)-galocatequina; EGC: (-)-epigalocatequina; GCG: (+)-galato-3-galocatequina; EGCG: (-)-galato-3-epigalocatequina. *G: ácido gálico.

Estrutura básica	Flavanóis agliconas	Grupos substituintes*
	C	R= H; R ₁ = OH; R ₂ = H
	E	R= H; R ₁ = H; R ₂ = OH
	ECG	R= H; R ₁ = H; R ₂ = O-G
	GC	R= OH; R ₁ = OH; R ₂ = H
	EGC	R= OH; R ₁ = H; R ₂ = OH
	GCG	R= OH; R ₁ = H; R ₂ = O-G
	EGCG	R= OH; R ₁ = O-G; R ₂ = H

Fonte: Adaptado de Lago-Vanzela (2011).

Já as proantocianidinas (taninos condensados) consistem em várias unidades monoméricas de catequinas e epicatequinas associadas, podendo ser dímeras, trímeras, oligoméricas ou poliméricas (ADAMS, 2006), variações essas decorrentes da posição de ocorrência das ligações, quantidade de monômeros ligados, oxigenação nos anéis A e B, e, estereoquímica dos substituintes no anel C (TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009).

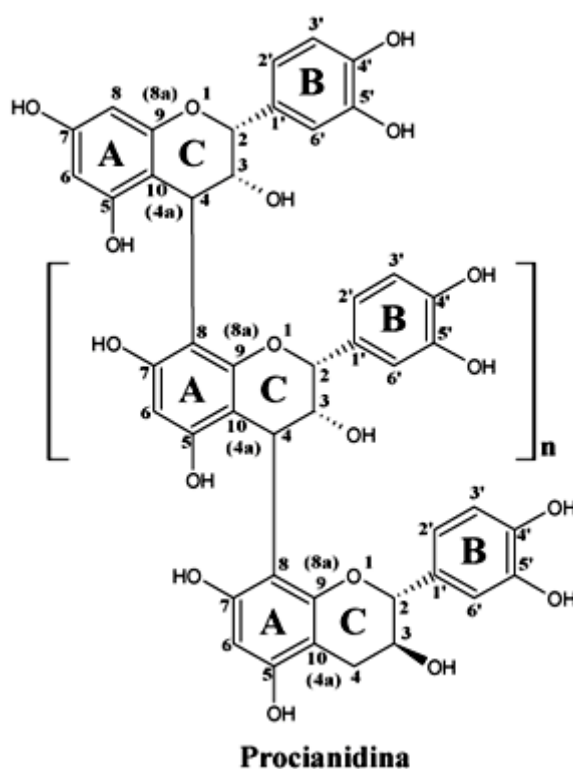
As proantocianidinas, quando aquecidas em meio ácido e/ou alcoólico podem liberar antocianidinas mediante a ruptura das ligações entre as unidades monoméricas e posterior oxidação (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Entre as antocianidinas liberadas, no caso da uva, temos, principalmente, a cianidina e, em menor proporção, as delphinidinas, cujas moléculas precursoras recebem o nome de procianidinas, constituídas de (+)-catequina e (-)-epicatequina, e prodelfinidinas constituídas de (+)-galocatequina e (-)-epigalocatequina, respectivamente (LAGO-VANZELA, 2011). Nas cascas das uvas são encontradas tanto prodelfinidinas quanto procianidinas (LABARBE et al., 1999; SOUQUET et al., 1996), enquanto que nas sementes são encontrados apenas procianidinas (LABARBE et al., 1999; PRIEUR et al., 1994).

As procianidinas dímeras são classificadas de acordo com o seu tipo de ligação interflavanólica, sendo divididas em dois grupos: A e B. As procianidinas do tipo B ($C_{30}H_{26}O_{12}$) são resultantes da condensação das unidades flavan-3-óis através de uma ligação entre o carbono 4 do anel C com o carbono 6 ou 8 do anel A. Os compostos formados pelas ligações C4-C8 compõem a série das procianidinas B1, B2, B3 e B4, enquanto os compostos formados pelas ligações C4-C6 compõem a série das procianidinas B5, B6, B7 e B8 (**Figura 4**).

As formas polimerizadas das proantocianidinas são os principais flavan-3-óis encontrados nas uvas, constituídas por um elevado número de unidades monoméricas, unidas tanto na posição terminal, quanto na posição superior, sendo a quantidade, o grau e a estrutura de

polimerização destes compostos alterada de acordo com sua localização nas diferentes partes das uvas (MONAGAS; BARTOLOMÉ; GÓMEZ-COROVÉS, 2005).

Figura 4. Fórmula estrutural de procianidinas.



Fonte: Adaptado de QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002.

As proantocianidinas são encontradas em todas as partes das uvas, porém, em uvas *V. vinífera* as cascas contêm menores concentrações que as sementes, e as suas características estruturais também se diferem (BOURZEIX; WEYLAND; HEREDIA, 1986; RICARDO-DA-SILVA et al., 1991). Já em uvas híbridas, tal como a uva BRS Violeta, é possível observar o oposto, isto é, as cascas podem conter maior concentração de proantocianidinas que as suas sementes (REBELLO et al., 2013). Além disso, as proantocianidinas das cascas têm, normalmente, um maior grau

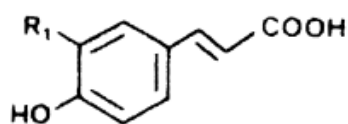
de polimerização (mDP) e uma menor porcentagem de subunidades de galoilação do que aqueles provenientes das sementes (CHEYNIER et al., 1997; MOUTOUNET et al., 1996).

Estudos têm mostrado que as proantocianidinas podem desempenhar um papel positivo na saúde humana, em particular sobre a proteção cardiovascular (KRUGER et al., 2014) e sua capacidade de sequestrar radicais (BAGCHI et al., 2014; DE SÁ et al., 2014). Dessa maneira, as proantocianidinas são consideradas antioxidantes potentes (MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005). Uma das razões para sua alta capacidade antioxidante é devido à presença de um grupo catecol no anel B (anel B di-hidroxilado) capaz de doar hidrogenio para estabilizar radicais livres (WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004). Deve-se destacar que suas atividades biológicas dependem em grande parte de suas estruturas e, especialmente, do seu grau de polimerização.

3.2.3. Derivados dos Ácidos Hidróxicinâmicos

Os derivados dos ácidos hidróxicinâmicos são encontrados tanto nas cascas quanto nas polpas das uvas, principalmente, sob a forma de ésteres tartáricos, como os ácidos caftárico e *p*-cutárico (LAGO-VANZELA, 2011; BEER et al., 2002; JACKSON, 1994). Apesar de sua baixa concentração, são considerados como os principais compostos fenólicos em uvas brancas (SINGLETON, 1992; LAGO-VANZELA, 2011). Dados recentes apontam efeitos biológicos, como funções antioxidantes, inibição de desordens cardiovasculares e neurológicas, redução do desenvolvimento de câncer e de doenças como Alzheimer e Parkinson (RUIZ et al. 2015), permitindo a esses compostos auxiliar em tratamento preventivo e/ou como agentes terapêuticos de várias doenças relacionadas com o estresse oxidativo, tais como a aterosclerose, lesão inflamatória, e câncer (FRESCO et al., 2006; RAZZAGHI-ASL et al., 2010). A **Figura 5** apresenta a estrutura básica para os derivados do ácido hidróxicinâmico.

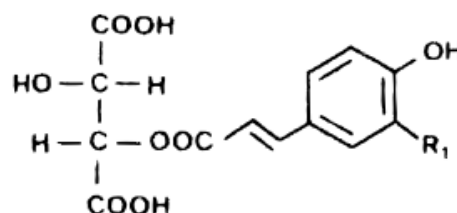
Figura 5. Estrutura geral dos ácidos hidróxicinâmicos e seus derivados apresentados neste estudo.



R1 = H : ácido *p*-cumárico

R1 = OH : ácido cafeico

R1 = OCH₃ : ácido ferúlico



R1 = H : ácido *p*-cutárico

R1 = OH : ácido caftárico

R1 = OCH₃ : ácido fertárico

Fonte: Adaptado de MEYER et al. (1998).

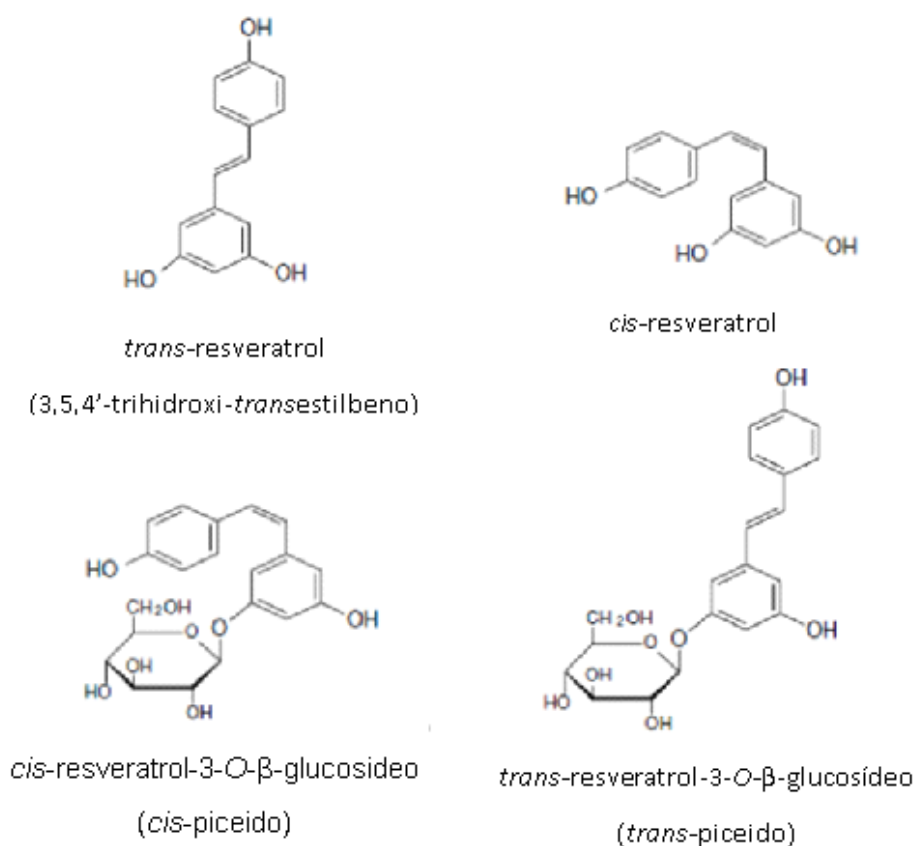
3.2.5. Estilbenos

Os estilbenos são compostos naturais que ocorrem nas uvas *V. vinifera*, bem como nos produtos derivados, especialmente, vinhos (BAVARESCO et al., 2007). Dentre os principais compostos pertencentes a esta classe dos não flavonoides destacam-se o resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), o piceido (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O-D-glicosídeo) e a astringina (3'-hidróxi-*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O-D-glicosídeo) (FLANZY, 2000). Na uva, o resveratrol se encontra unido a uma molécula de glicose através de um grupo fenol na posição 3 (3-O-glicosídeo de resveratrol) também conhecido pelos nomes de piceido e polidatina, podendo apresentar-se nas formas *cis* e *trans* (**Figura 6**) (LASTRA; VILLEGAS, 2007).

A capacidade antioxidante dos estilbenos tem recebido grande atenção, sendo esses compostos apontados como auxiliares na prevenção de algumas doenças crônicas como câncer, doenças cardíacas, diabetes, como também auxiliam no combate a inflamação patológica, infecção viral, entre outros (BAHT; KOSMEDER; PEZZUTO,

2001; BAUR; SINCLAIR, 2006; FERNÁNDEZ-MARÍN et al., 2013; GAO et al., 2002; HUNG et al., 2000; LÓPEZ-VÉLEZ; MARTINEZ-MARTINEZ; DEL VALLE-RIBES, 2003; URPI-SARDA et al., 2005; VIRGILI; CONTESTABILE, 2000).

Figura 6. *Trans*-resveratrol e seus derivados.



Fonte: Adaptado de LAGO-VANZELA (2011).

3.3. Obtenção de Uvas Passas: Desafios Tecnológicos e Efeito Sobre os Compostos Fenólicos Presentes nas Uvas

A uva é uma fruta muito perecível e, por conseguinte, há grandes perdas no período de safra, o que demanda investimentos na cadeia de viticultura para melhor aproveitamento do excedente da safra em produtos derivados.

Processos de desidratação e/ou secagem são as mais utilizadas na conservação de alimentos em geral, pois sua aplicação tem como principal objetivo reduzir a umidade e a atividade de água no produto final, minimizando assim a possibilidade de deterioração microbiana, bem como de reações químicas e bioquímicas indesejáveis. Além disso, possibilita o armazenamento do produto à temperatura ambiente por um longo período de tempo, permitindo que o produtor comercialize sua produção a preços mais competitivos e que isso seja feito também fora da época de safra (CORNEJO et al., 2003). No entanto, na produção de uvas passas, entraves surgem devido à influência de algumas características das uvas sobre as operações e eficiência de processo. Fatores 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.

Para melhor entendimento sobre as dificuldades enfrentadas durante o processo de obtenção das passas, faz-se necessário uma descrição mais detalhada sobre a uva.

A uva é constituída pelas bagas, que é a parte carnosa, correspondendo a 91 a 97% do cacho e, por uma parte herbácea chamada de engaço, cuja extremidade é chamada de pedicelo. Este último possui a função de ligar as bagas ao engaço servindo de canal de transporte de elementos nutritivos. As bagas são constituídas pela casca, polpa e pelas sementes, quando não for uma variedade/cultivar apirênica (PEYNAUD, 1981).

A casca da uva, em particular, desempenha papel crítico no controle do processo de secagem, uma vez que constitui o envoltório protetor da baga. É composta por três camadas sobrepostas, a saber, a externa (epiderme); a epiderme intermediária, com uma ou duas camadas; e, a camada interna, a hipoderme, no qual se encontra a maioria dos compostos fenólicos das uvas tintas. A camada mais externa da casca é formada por ácidos graxos hidroxilados e recebe o nome de cutina, a qual

é recoberta com uma camada fina de ceras hidrofóbicas, conhecida por pruína (LAGO-VANZELA, 2011). A pruína é constituída por plaquetas planas de textura irregular, que se sobrepõem parcialmente. Esse seu espaçamento ordenado e seu arranjo químico fornecem uma forte repulsão à água e resistência à perda de vapor, o que pode levar a processos de secagem demasiadamente prolongados (CHRISTENSEN; PEACOCK, 2000; LECAS; BRILLOUET, 1994).

Diferentes técnicas de secagem associadas ou não a pré- e pós-tratamentos têm sido empregadas (CARRANZA-CONCHA et al., 2012; ESMAILI et al., 2007) para promover o rompimento da pruína e facilitar o processo de desidratação das uvas. Como pré-tratamento, as uvas são comumente imersas em soluções alcalinas diluídas a base de carbonato de potássio (K_2CO_3) (BINGOL et al., 2012; 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) ou hidróxido de sódio (NaOH) (BERNA et al., 1991; CARRANZA-CONCHA et al., 2012; FEMENIA et al., 1998; VAZQUEZ et al., 1997) que, muitas vezes, são combinados a outros tratamentos como o uso de azeite (TELIS et al., 2006) ou oleato de etila ($C_{20}H_{38}O_2$) (BINGOL et al., 2012; DOYMAZ, 2006; GABAS; MENEGALLI; TELIS-ROMERO, 1999).

A composição, concentração, pH, temperatura da solução de imersão e o tempo de pré-tratamento são fatores importantes que podem influenciar na eficácia dessa etapa (ESMAILI et al., 2007). Telis et al. (2006), por exemplo, após avaliarem o efeito de pré-tratamento químico, com suspensões aquosas contendo diferentes concentrações de K_2CO_3 e azeite, em diferentes tempos de imersão, sobre as taxas de secagem de uva Rubi (*Vitis vinifera*) a 50 °C para produção de passas, observaram que o azeite tem um importante efeito na aceleração do processo de secagem. Os autores relataram que o melhor pré-tratamento consistiu na imersão das uvas, por 2 minutos, em emulsão contendo 5% de azeite de oliva e 6% de K_2CO_3 .

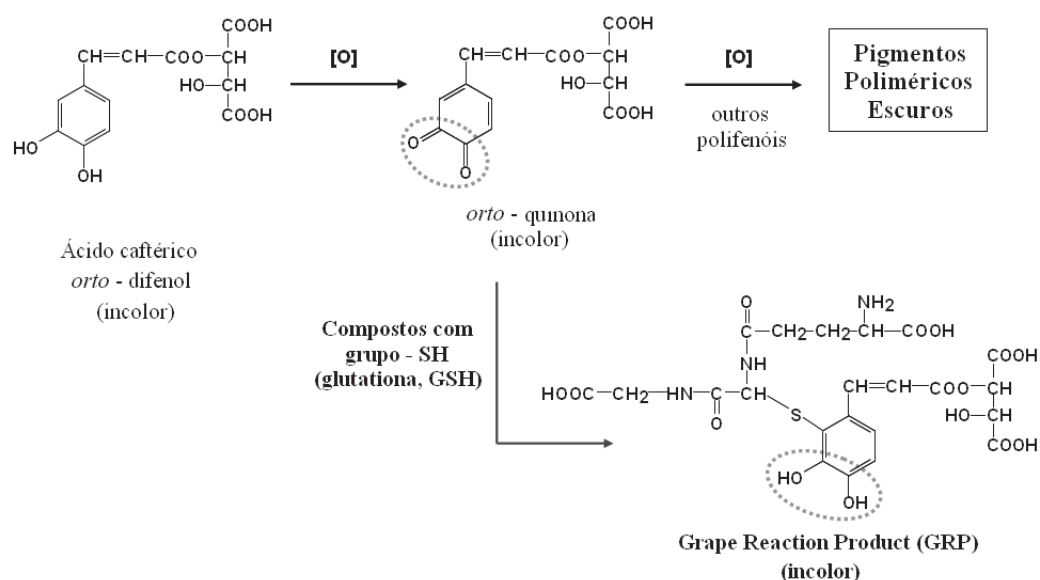
Levando em consideração os aspectos nutricionais, Carranza-Concha et al. (2012), após avaliarem a estabilidade de macro- e micronutrientes, incluindo os compostos fenólicos, durante secagem convencional (60 °C) de uvas apirênicas Imperial e Thompson (*Vitis vinifera*) pré-tratadas com solução de NaOH (0,03%) a 95 °C por 45 segundos, observaram que houve decréscimo de todos os componentes das uvas estudados, exceto dos compostos fenólicos. Segundo os autores, maior facilidade de extração destes compostos como resultado de alterações na estrutura das cascas das uvas pré-tratadas com NaOH pode ser responsável pelas altas concentrações de compostos fenólicos obtidas.

Durante o processo de desidratação tanto por secagem convencional quanto solar podem ocorrer alterações na coloração das uvas devido a reações de escurecimento enzimático e não-enzimático (KARADENIZ; DURST; WROLSTAD, 2000). Em uvas *in natura* saudáveis (com o tecido intacto, sem injúrias), a enzima polifenoloxidase (PPO) é encontrada separada dos compostos fenólicos. Entretanto, devido às alterações físicas promovidas pela desidratação (rompimento de parede celular, murchamento, etc.) as enzimas podem entrar em contato com tais compostos, que servem como substrato, desencadeando assim as reações de escurecimento (MARQUEZ et al., 2012b).

A PPO apresenta elevada afinidade com os derivados dos ácidos hidróxicinâmicos, especialmente, de seus ésteres tartáricos, como o ácido caftárico e, em menor extensão, o ácido cutárico, oxidando-os nas respectivas O-quinonas. O ácido caftárico, por exemplo, após ser oxidado a ácido cafeilcaftárico-O-quinona, torna-se um potente oxidante capaz de oxidar espontaneamente outros componentes da uva, que não são substratos para a PPO. Assim, ocorre a denominada oxidação acoplada. Outro composto denominado ácido 2-S-glutationil-*trans*-caftárico (GRP) pode ser formado devido o contato do ácido *trans*-caftárico com a PPO, que na presença de oxigênio induz a produção enzimática das O-

quinonas (**Figura 7**) (LAGO-VANZELA et al., 2015; MACHEIX et al., 1991).

Figura 7. Esquema de formação do GRP.



Fonte: LAGO-VANZELA (2011).

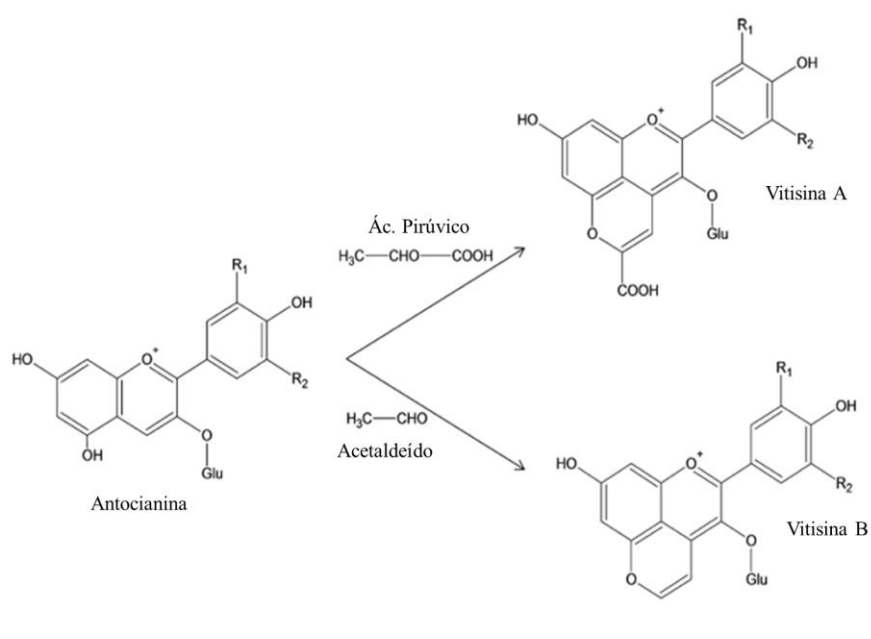
As O-quinonas são compostos altamente reativos e muito instáveis, que podem reagir facilmente com outros compostos fenólicos de modo a formar adutos polimerizados (CHEYNIER, OSSE, RIGAUD, 1988; CHEYNIER et al., 1990). Quando a O-quinona é formada a partir do ácido caftérico (ou cutárico), o peptídeo glutatona pode reagir com ele, regenerando o grupo O-difenol e, formando então o GRP (SINGLETON et al., 1985; CHEYNIER et al., 1986; CEJUDO-BASTANTE; PÉREZ-COELLO; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010).

Além do escurecimento enzimático, pode ocorrer também o escurecimento pela reação de Maillard (KIM; LEE, 2008). Esta reação é facilitada no processo de desidratação das uvas devido a presença de aminoácidos e monossacarídeos em altas concentrações decorrentes do efeito de concentração dos compostos durante a desidratação das bagas (MARQUEZ et al., 2012b). Dentre os produtos originários da reação de

Maillard, pode-se destacar o 5-hidróxi-2-metil-furaldeído (5-HMF) (BOZKURT; GOGUS; EREN, 1999; ZHAO; HALL, 2008).

Outros compostos formados durante o processo de desidratação das uvas tintas são as piranoantocianinas. Dentre esta classe de compostos destacam-se as vitisinas A e B (Figura 8) (BLANCO-VEGA et al, 2011; MÁRQUEZ et al., 2012a).

Figura 8. Estruturas das vitisinas A e B.



Fonte: Adaptado de MÁRQUEZ et al., 2012a.

O ácido pirúvico e o acetaldeído são formados devido a uma alteração no metabolismo da fruta gerada pela situação de estresse durante o processo de desidratação (KAYS, 1997). Bellicontro et al. (2004) reportaram que essa situação de estresse ocorre quando a perda de massa pela baga de uva encontra-se entre 10-15%, alterando o metabolismo da fruta de aeróbico para anaeróbico (CHKAIBAN et al., 2007). Com isso, tem-se a elevação da concentração de acetaldeído e de ácido pirúvico nas uvas, compostos estes que reagem com os compostos

fenólicos das uvas para formação das piranoantocianinas (VIVAR-QUINTANA et al., 1999; HAYASAKA; ASENSTORFER et al., 2002; ROMERO; BAKKER, 2000; BENABDELJALIL et al., 2000).

Por último, vale ressaltar que os processos de secagem com o uso de calor podem ocasionar inúmeros outros processos de origem química e enzimática que podem levar à formação de novos compostos com coloração e atividade biológica diferentes dos originalmente presentes nas frutas (GAO et al., 2012; LEONG; OEY, 2012).

Assim, considerando-se a escassez de trabalhos científicos sobre a influência do processo de secagem nos compostos fenólicos presentes em uvas brasileiras destinadas a elaboração de uvas passas, objetivou-se a determinação das alterações qualitativas e quantitativas dos compostos fenólicos, utilizando CLAE-DAD-IES-EM-EM, de passas elaboradas com a uva apirênica BRS Morena, pré-tratadas ou não com azeite extra virgem como tensoativo natural.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes Químicos

Todos os solventes utilizados possuíam grau cromatográfico (> 99%), todos os produtos químicos eram de grau analítico (> 95%) e a água destilada utilizada era ultrapura (sistema Milli-Q). Foram utilizados os seguintes padrões comerciais da PHYTOLAB (Vestenbergsgreuth, Alemanha): malvidina-3-glicosídeo, ácidos caféico e *p*-cumárico, ácido *trans*-caftárico, *trans*-piceido, (-)-epigallocatequina, (-)-galocatequina e procianidina B1. Do Extrasynthese (Genay, França), foram utilizados os seguintes padrões comerciais: 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, (-)-epigallocatequina-3-galato. Os compostos ácido gálico, *trans*-resveratrol, (+)-catequina, (-)-epicatequina e (-)-galocatequina-3-galato foram adquiridos Sigma (Tres Cantos, Madrid, Espanha) enquanto a procianidina B4 foi obtida por doação. Outros padrões de flavonóis não comerciais (miricetina-3-glicosídeo e quercetina-3-glucuronídeo) foram doados ou isolados a partir da casca da uva Petit Verdot (laricitrina-3-glicosídeo) (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Os isômeros *trans* de resveratrol e piceido (resveratrol-3-glucosídeo) foram transformados nos seus respectivos isômeros *cis* utilizando irradiação UV (366 nm de luz durante 5 minutos em ampolas de quartzo) em solução metanólica de 25% dos seus respectivos isômeros *trans*. Os padrões de vitisinas A e B foram obtidos por reação de malvidina-3-glicosídeo com ácido pirúvico e acetaldeído, (Schwarz et al., 2003). Além de metil-celulose e sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) obtidos da Sigma.

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:

- Antocianinas e derivados dos ácidos hidroxicinâmicos: os perfis molares foram baseados nas áreas cromatográficas, já que foi utilizado um único padrão (mais representativo de cada família de compostos fenólicos) para as determinações das concentrações totais de antocianinas e de derivados do ácido hidroxicinâmico (incluído o GRP), baseadas nas curvas de calibração construídas com os padrões malvidina-3-glicosídeo e ácido *trans*-caftárico, respectivamente;
- Vitisinas A (10-carboxi-piranomalvidina-3-glicosídeo) e B (piranomalvidina-3-glicosídeo): a quantificação destes compostos foi realizada com base nas curvas de calibração construídas com os seus respectivos padrões;
- 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 estava 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;
- Estilbenos: a quantificação dos compostos identificados (forma glicosilada do resveratrol - piceído) na sua forma *trans* e *cis* foi realizada com base na curva de calibração construída com o padrão de *trans*-piceído.

As concentrações obtidas da análise cromatográfica foram em mg/L dos extratos referentes a cada amostra injetada no cromatógrafo> Os respectivos extratos foram resultado de várias etapas que se iniciaram nas uvas *in natura* ou uvas passas. Deste modo, para comparar os

resultados obtidos, foi necessário realizar uma correção para obter os resultados quantitativos expressos em mg/kg de uva *in natura*, como descrito a seguir:

$$\text{Concentração (mg/kg uva FW)} = \text{Conc. em vial (mg/L)} * (1/\text{FC}) * (\text{V/ESE}) * (\text{ESO/PUF})$$

Onde,

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

FC – fator de correção (se necessário)

V – volume do extrato ressuspensionado (L) após passar pelos cartuchos de extração em fase sólida

ESE – massa (kg) do extrato liofilizado utilizado para ressuspensão

ESO – massa total (kg) do extrato liofilizado obtido

PUF – massa de uva (kg) utilizada para produzir o extrato

No caso das uvas passas, para possibilitar a comparação entre os valores obtidos com os referentes a uva *in natura*, o valor da concentração obtido foi multiplicado pelo rendimento do processo de secagem.

Para o cálculo da retenção foi levada em consideração a mudança de massa durante o processamento e o rendimento do processo de secagem (Massa da uva passa produzida kg/ massa da uva *in natura* utilizada kg).

4.2.Uvas

Lote representativo da uva BRS Morena (safra 2014) foi doado pela Estação Experimental de Viticultura Tropical da EMBRAPA, 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). Para o transporte, as frutas 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 foram misturadas manualmente para obtenção de um lote homogêneo, sendo então 5 kg congelados para realização das análises propostas enquanto outros 10 kg foram armazenados sob refrigeração (± 7 °C) para a produção de passas e, posterior, análise dos compostos fenólicos.

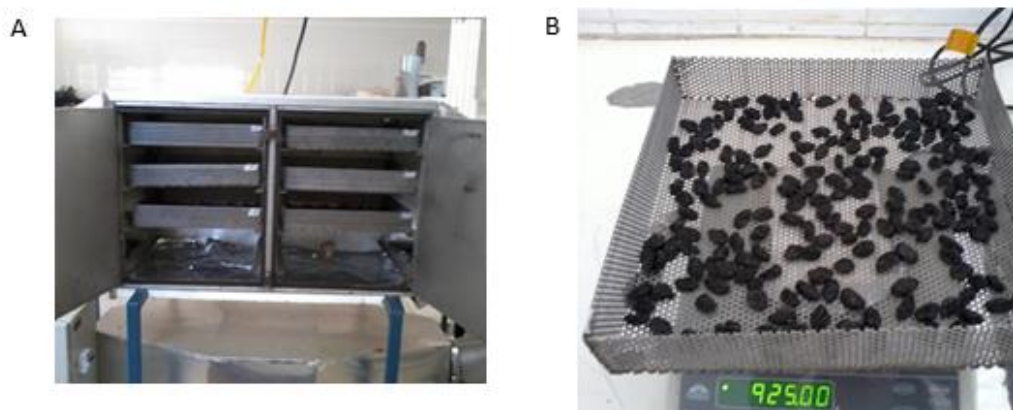
As características físicas e químicas obtidas para a uva BRS Morena foram: umidade, 79,48%; sólidos solúveis totais, 18,03 °Brix; açúcares totais, 16 g/100 g de fruta; acidez total, 0,66 g de ácido tartárico/100 g de fruta; pH, 3,61; e, tamanho médio das bagas, $2,25 \pm 0,09 \times 1,55 \pm 0,13$ cm.

4.3. Produção das Uvas Passas

As bagas das uvas foram lavadas com água potável, sanitizadas em solução clorada (50 mg/L de cloro ativo) durante 20 minutos, enxaguadas com água potável para retirada do excesso de cloro e, dispostas sobre papel toalha em bancada, previamente, higienizada com álcool 70%, para a retirada do excesso de água proveniente das etapas anteriores. As bagas foram então pesadas e separadas em seis porções, sendo três previamente tratadas com azeite extra virgem (agente tensoativo natural, Marca Andorinha com acidez máxima $\leq 0,50\%$ e índice de peróxidos $\leq 20,00$ meq O₂/kg). Este pré-tratamento foi efetuado a partir da homogeneização manual de 5 mL de azeite para cada 3,5 kg de uva, visando auxiliar no rompimento da cera presente na casca da uva e favorecer a saída da água durante o processo de secagem. As uvas referentes as porções pré-tratadas ou não foram classificadas por tamanho (para obtenção de desidratação mais uniforme e homogênea), pesadas e dispostas em bandejas de secagem (vazadas para melhor circulação do ar quente). A secagem foi conduzida em secador de bandejas com convecção forçada de ar aquecido a 60 °C e velocidade do

ar controlada (1,0 m/s), sendo o fluxo de ar paralelo às amostras (**Figura 9A**). 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 (**Figura 9B**).

Figura 9. Ilustração do secador de leito fixo utilizado para a desidratação das uvas (A) e da pesagem das bandejas ao longo do processo de secagem (B).



Após a desidratação, uvas passas produzidas em uma mesma batelada foram misturadas manualmente 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 características físicas e químicas obtidas para as passas de uva BRS Morena sem adição de azeite foram: umidade, 18,32%; açúcares totais, 87%; atividade de água à 25 °C, 0,425; acidez total, 3,09 g de ácido tartárico/100 g de passa; pH, 3,48; tamanho médio das bagas desidratadas, $1,58 \pm 0,35$, $0,75 \pm 0,17$ cm, já para as passas de uva BRS Morena com adição de azeite os resultados foram: umidade, 18,90%; açúcares totais, 90%; atividade de água à 25 °C, 0,440; acidez total 2,69 g de ácido

tartárico/100 g de passa; pH 3,35; tamanho médio das bagas desidratadas, $1,52 \pm 0,33$, $0,72 \pm 0,16$ cm. Estas uvas passas foram armazenadas sob congelamento até o momento das análises.

4.4. Obtenção dos Extratos Fenólicos

Para a determinação da composição fenólica detalhada das amostras *in natura* e passas da uva BRS Morena, pré-tratadas ou não com azeite, primeiramente, realizou-se uma extração dos compostos de interesse utilizando metodologia descrita por Lago-Vanzela et al. (2011a, b) com pequenas modificações.

Para as uvas *in natura*, cada 100 g de amostra foi homogeneizada, com o auxílio de mixer, com 100 mL de solução extratora contendo metanol e ácido fórmico (98,5: 1,5, v/v). No caso das uvas passas, cada 10 g de amostra foi homogeneizada, com auxílio de mixer, com 25 mL de solução extratora contendo metanol, água e ácido fórmico (50: 48,5: 1,5, v/v). A mudança nas proporções dos solventes utilizados na solução extratora para obtenção dos extratos fenólicos das uvas passas levou em conta a sua redução da umidade durante o processo de secagem. Após a homogeneização, as soluções foram mantidas em banho ultrassônico por 10 minutos e, centrifugadas (Modelo CR-G111 series, Hitachi) à 9400 g por 5 °C durante 10 minutos para separação dos sobrenadantes. Estes sobrenadantes foram reservados sob refrigeração (± 7 °C), e com os respectivos precipitados realizou-se duas subseqüentes extrações com 50 e 25 mL de solução 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. Todas as extrações foram realizadas em triplicata. Cada extrato produzido foi rotoevaporado (Modelo Hei-Vap Advantage, Heidolph) a 37 °C para a eliminação do metanol, liofilizado, pesado e acondicionado em frascos de vidro âmbar

adequadamente lacrados e congelados a -80 °C até o momento do envio para o Laboratório de Investigación em Enologia da Universidade de Castilla La-Mancha - UCLM (Ciudad Real, Espanha), onde foram realizadas as análises dos compostos fenólicos utilizando CLAE-DAD-ESI-EM/EM.

4.5. Identificação e Quantificação de Compostos Fenólicos da Uva *In Natura* e Passas Com e Sem Azeite de BRS Morena por CLAE-DAD-ESI-EMⁿ

Antocianinas e os compostos fenólicos não antociânicos presentes nas uvas *in natura* e uvas passas sem e com pré-tratamento com azeite de BRS Morena, foram separadamente analisados de acordo com metodologia descrita por Rebello et al. (2013).

4.5.1. Antocianinas e compostos derivados, flavonóis, derivados do ácido hidoxicinâmico e estilbenos

Para a separação, identificação e quantificação destes compostos presentes nas amostras de uva *in natura* e passas foi utilizado sistema cromatográfico composto por cromatógrafo Agilent 1100 Series (Agilent, Alemanha) equipado com detector de arranjo de diodos (Modelo G1315B, Agilent, Alemanha) e 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 (IES-EMⁿ). 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 minuto.

Para a determinação do perfil qualitativo e quantitativo das antocianinas e dos compostos derivados (vitisinas A e B), alíquotas dos extratos liofilizados obtidos das amostras foram ressuspensas em solução de HCL 0,1N (1:10, v/v), filtradas (0,20 µm, membrana de poliéster, Chromafil PET 20/25, Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) diretamente em

vial cromatográfico e injetadas (10 µL) na coluna cromatográfica. Os solventes (Sol.) utilizados na fase móvel para análise de antocianinas 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; enquanto o gradiente linear para estes solventes foi: zero minuto, 94% A e 6% B; 10 minutos, 70% A e 30% B; 30 minutos, 50% A e 50% B; 34 minutos, 100% B; 36 minutos, 100% B; 42 minutos, 96% A e 4% B; e, 50 minutos, 96% A e 4% B.

Já para a análise de flavonóis, derivados do ácido hidroxicinâmico e estilbenos, alíquotas dos extratos liofilizados obtidos foram ressuspensas em solução de HCL 0,1N e 3 mL de cada amostra, em triplicata, foram submetidas a extração em fase sólida com auxílio de cartucho Bond Elute Plexa PCX (Agilent; 6 cm³, 500 mg de adsorvente), que combina uma mistura de adsorvente de fase reversa e troca catiônica, com o intuito de obter um extrato livre de antocianinas, que poderiam interferir notoriamente na separação cromatográfica e identificação dos compostos de interesse, particularmente, os flavonóis. Os cartuchos foram previamente condicionados com 5 mL de metanol e 5 mL de água. Após a eluição das amostras e lavagem dos cartuchos com 5 mL de solução de HCl 0,1N seguido de 5 mL de água, as frações dos extratos livres das antocianinas foram eluídas com 3 vezes de 5 mL de metanol. Os eluatos foram secos em rotoevaporador (35 °C), redissolvidos em 1 mL de 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 utilizado foi: zero minuto, 98% A e 2% B; 8 minutos, 96% A e 4% B; 37 minutos, 70% A, 17% B e 13% C; 51 minutos, 50% A, 30% B e 20% C; 51,5 minutos, 30% A, 40% B e 30% C; 56 minutos, 50%

B e 50% C; 57 minutos, 50% B e 50% C; e, 64 minutos, 96% de A e 4% de B.

Para a identificação, um analisador de massas de armadilha de íons (*íon trap*) IES-EM/EM foi usado no modo positivo para determinação das antocianinas e, no modo negativo para determinação de flavonóis e derivados do ácido hidroxicinâmico e estilbenos, 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 (malvidina-3-glicosídeo no modo de ionização positivo; quercetina-3-glicosídeo, ácido caftárico e resveratrol-3-glicosídeo no modo de ionização negativo, respectivamente, para flavonóis, derivados hidroxicinâmicos e estilbenos.

A identificação foi, principalmente, baseada nos dados de espectroscópicos (UV-vis e EM/EM) obtidos de padrões originais ou descobertas anteriores (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009; LAGO-VANZELA et al., 2011, a,b; REBELLO et al., 2013). Para quantificação, os cromatogramas-DAD foram extraídos a 520 nm (antocianinas), a 510 nm (vitisina A e B), a 360 nm (flavonóis) e a 320 nm (derivados do ácido hidroxicinâmico e formas do resveratrol). As análises foram realizadas em triplicata.

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

Para analisar estes compostos foi realizada, primeiramente, uma separação individual dos compostos por CLAE, seguida de sua identificação, através do uso de um analisador de massas com ionização por *eletrospray*. 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).

A separação, identificação e quantificação destes compostos presentes nas amostras de uva *in natura* e passas foi realizada utilizando sistema cromatográfico composto por cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent 1200 Series (Agilent, Alemanha) equipado com detector de arranjo de diodos (Agilent, Alemanha) e acoplado ao analisador de massas do tipo híbrido quadrupolo-armadilha linear de íons (AB Sciex 3200 Q TRAP, Applied Biosystems) por sistema de ionização por eletronebulização (IES-EMⁿ). Utilizou-se coluna cromatográfica de fase reversa Eclipse XDB-C18 (2,1 × 150 mm; tamanho de partícula de 3,5 µm, Agilent, Alemanha) termostatizada a 16 °C, com uma taxa de fluxo de 0,1 mL por minuto.

Para a análise dos flavan-3-óis monômeros, procianidinas dímeras do tipo B e proantocianidinas poliméricas, primeiramente, os extratos liofilizados obtidos das amostras de uva *in natura* e passas foram redissolvidos e, alíquotas de 2 mL de cada extrato foram misturadas 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) e, o resíduo dissolvido em metanol (2 mL).

Cada 0,25 mL dos extratos, previamente submetidos a extração em fase sólida, foi diluído com 4,75 mL de solução contendo água e ácido fórmico (98,5:1,5, v/v) diretamente em vial cromatográfico e injetado (10 µL) na coluna cromatográfica. A informação estrutural das proantocianidinas foi obtida pelo método de despolimerização por catálise ácida induzida por pirogallol (BORDIGA et al., 2009). Para tanto, 0,50 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 0,25 mL de cada extrato, previamente submetido a extração em fase sólida e, então a mistura foi mantida a 30 °C por 40 minutos. Após finalizada a reação foram adicionados a cada mistura 2,25 mL de acetado de sódio 67 mM e 2 mL de água, 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 (10 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 minuto, 5%; 2 minutos, 5%; 25 minutos, 30%; 40 minutos, 55%; 50 minutos, 65%; 55 minutos, 95%; 65 minutos, 95%; 70 minutos, 5%; e, 80 minutos, 5%.

Para a identificação dos compostos citados foi utilizado sistema de varredura EIS-EM/EM operado no modo de ionização negativo, sendo utilizado uma combinação de experimentos de -EEM (referentes aos íons moleculares, condições EM) e de -EPI (referentes aos íons produtos, condições EM/EM). Já para a quantificação foi utilizado modo de aquisição por monitoramento de reações múltiplas (MRM, condições EM/EM). As condições do analisador de massas para ambos os tipos de varredura empregados são 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. Obtiveram-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:

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

- **Porcentagem de galoilação**, por meio da equação 2:

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

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:

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

- **Somatório das unidades terminais**, por meio da equação 4:

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

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

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

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

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 prodelphinidinas**, por meio da equação 7:

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

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 prodelphinidina, dada em função de que ao despolimerizar-se a proantocianidina, em meio ácido, se origina a delphinidina. Para estas características são englobados os seguintes compostos: galocatequina (GC) e (-)-epigalocatequina (EGC).

4.5.3. Quantificação de proantocianidinas por precipitação com metil-celulose

A concentração total de proantocianidinas também foi determinada pelo método de precipitação com metil celulose (SARNECKIS et al., 2006), que é um polímero que, 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 nos extratos de uva *in natura* e uvas passas 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 correlacionou com a concentração de proantocianidinas, expressa em equivalentes de (-)-epicatequina, que se emprega como padrão de quantificação externo.

4.6. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de média pelo teste de Student-Newman-Keuls para permitir verificar diferenças na porcentagem molar de cada composto fenólico bem como nas concentrações totais das classes de compostos fenólicos (antocianinas, flavonóis, derivados do ácido hidroxicinâmico, estilbenos, flavan-3-óis monômeros e dímeros e proantocianidinas) estudadas entre as amostras de BRS Morena *in natura* e uvas passas, pré-tratadas ou não com azeite extra virgem.

Uma análise multivariada (análise de componentes principais - ACP) de cada classe de compostos para as mesmas amostras foi realizada para reduzir o número de variáveis bem como a detecção de “outlier”, tendências e uma visão global do estudo.

Para a construção dos gráficos foram escolhidos os CPs que permitiram uma melhor separação entre as amostras. No texto foram 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”. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico IBM SPSS Sytstatistics (SPSS Inc., IBM), versão 20.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção das Uvas Passas

As uvas passas foram elaboradas a partir da uva BRS Morena pré-tratada ou não com azeite extra-virgem. Em função das uvas apresentarem tamanhos muito diferenciados, para melhor controle do processo de secagem, realizou-se a separação das bagas em bandejas de acordo com o tamanho das mesmas previamente ao processo de secagem. Em função disto, bandejas de uma mesma batelada tiveram tempos de secagem diferentes, sendo que para as uvas passas produzidas sem azeite o tempo de secagem variou de 27 a 41 horas, enquanto que para as passas com azeite a variação no tempo de secagem foi entre 14,5 e 22,5 horas. Após o cálculo de um tempo médio de secagem das uvas, a adição do azeite como agente tensoativo proporcionou uma redução média de 45,13% no tempo total de secagem para a produção das passas.

Reduções de tempo similares de secagem, porém, ligeiramente superiores, foram observadas na literatura para pré-tratamentos da uva *Thompson seedless* utilizando uma combinação de oleato de etila associado a agente alcalino (carbonato de potássio - K_2CO_3) visando facilitar a transferência de água pelo rompimento da casca da uva (BINGOL et al., 2012). Estes autores pré-trataram as uvas, por imersão, utilizando solução contendo 5% de K_2CO_3 e 2% de oleato de etila a temperatura de 60 °C. Após a desidratação em secador convencional a 60 °C, observaram redução de 50% no tempo de secagem. Também já foi empregado como solução de imersão em uvas o azeite associado ao carbonato de potássio. Os autores relataram que a presença do azeite foi de fundamental importância para acelerar o processo de desidratação, uma vez que as uvas pré-tratadas com a solução resultaram em menores conteúdos de umidade do que as pré-tratadas somente com solução de

carbonato de potássio, nas mesmas condições de secagem (TELIS et al., 2006).

Essas reduções de tempos de secagem das uvas descritas na literatura podem ter sido superiores as alcançadas no presente trabalho, em virtude da combinação no pré-tratamento, do azeite e/ou oleato de etila com uma substância alcalina. Isto porque o uso de carbonato de potássio (K_2CO_3) e o oleato de etila, utilizados sozinhos ou em combinação podem aumentar a taxa de secagem, tanto no princípio, pela formação de micro poros sobre a superfície da casca, quanto nas fases posteriores de secagem, melhorando a difusão de água interna. (ESMAILI et al., 2007).

Supõe-se que um dos componentes do azeite possua um efeito tensoativo, uma vez que, como já relatado na literatura, a composição específica de agentes químicos (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 (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013; BINGOL et al., 2012; PANGAVHANE; SAWHNEY, 2002). Outros estudos são necessários para melhor entendimento dos efeitos do azeite extra virgem sobre as cascas da uva BRS Morena durante o processo de secagem.

Vale ressaltar que o processo de secagem gera no produto final um efeito de concentração dos constituintes não voláteis presentes nas uvas decorrente da remoção da água, que as tornam um alimento altamente energético.

As uvas passas produzidas a partir da BRS Morena apresentaram umidade entre 18 e 19 %, o que está de acordo com a Resolução CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) nº 12 de 1978 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que preconiza que frutas secas devem apresentar umidade inferior a 25% (BRASIL, 1978).

Tal como ocorreu para os açúcares, os compostos fenólicos, que são os constituintes de interesse no presente trabalho, também foram concentrados durante o processo de secagem. Este fato já foi relatado por outros autores após estudo da desidratação parcial de variedades tintas distintas de uva para posterior uso na elaboração de vinhos doces, como exemplo, Sangiovese, Merlot e Syrah (BELLICONTRO et al., 2014) e, Merlot e Tempranillo (MARQUEZ et al. 2012a, b). Deve-se destacar que, concomitantemente, com este efeito de concentração ocorre a degradação daqueles compostos fenólicos mais suscetíveis a oxidação de origem química ou enzimática, provavelmente, após o rompimento do tecido celular durante as primeiras horas de secagem das uvas.

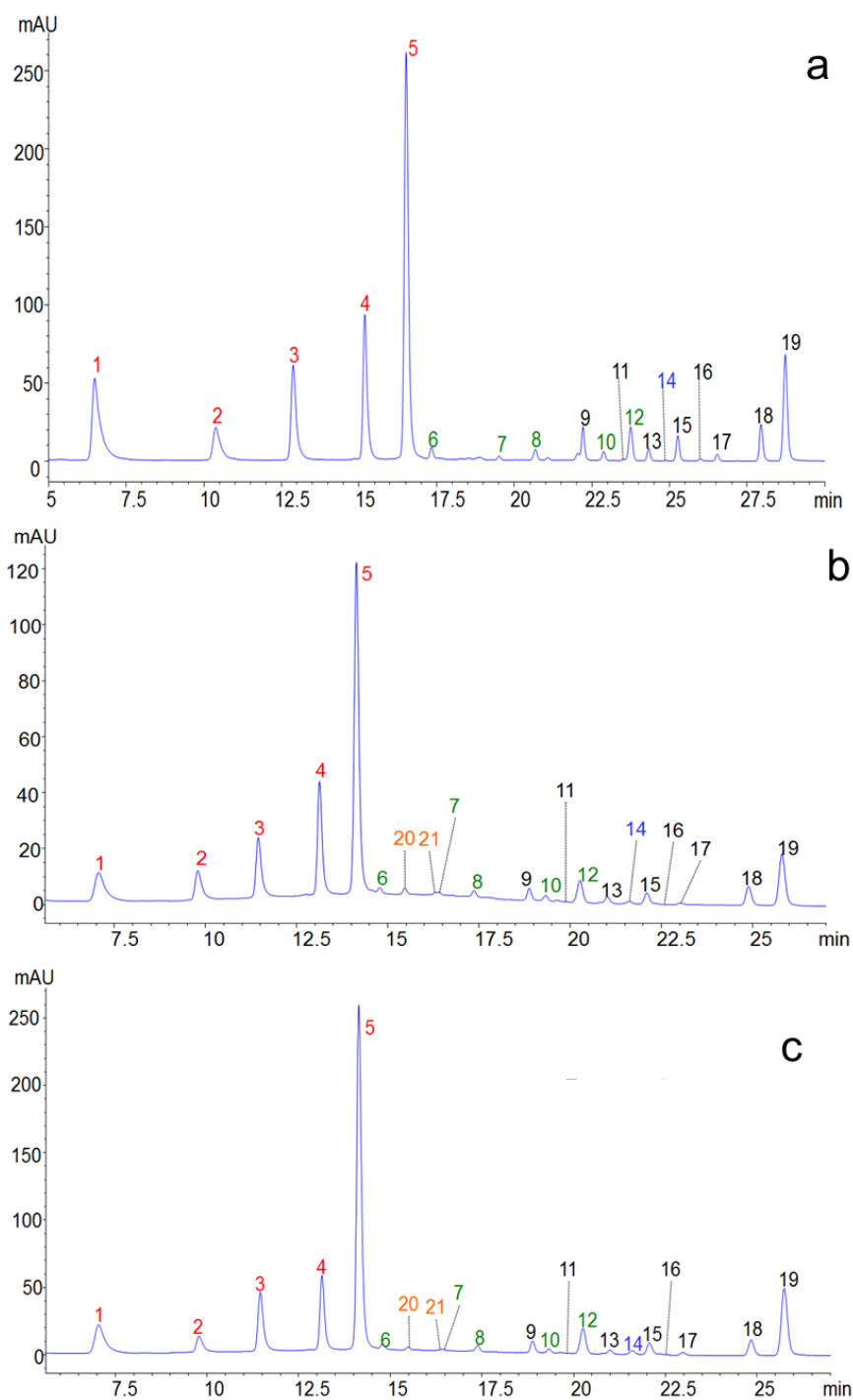
Assim, a seguir estão apresentadas as alterações na composição qualitativa e quantitativa dos compostos fenólicos presentes nas uvas após o processo de secagem utilizando ou não pré-tratamento com azeite extra virgem e as hipóteses para tais alterações.

5.2. Determinação do Perfil Qualitativo e Quantitativo de Compostos Fenólicos Presentes na Uva BRS Morena e Suas Respectivas Passas Produzidas Com e Sem Azeite por CLAE-DAD-IES-EM/EM

5.2.1. Antocianinas

Os perfis cromatográficos típicos das antocianinas presentes na uva BRS Morena e suas passas, produzidas sem e com a utilização de azeite extra virgem como agente tensoativo, estão apresentados na **Figura 10a, b e c**, respectivamente.

Figura 10. Antocianinas presentes na uva BRS Morena *in natura* (a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 520 nm. A identificação dos picos está apresentada na **Tabela 3**.



Observou-se a presença das cinco principais antocianidinas (delfinidina, cianidina, malvidina, peonidina e petunidina), sendo todas monoglicosiladas, tal como comumente encontradas em uvas *V. vinífera* (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Com a ajuda dos cromatogramas de íons extraídos (EIC) obtidos com os valores de m/z correspondentes a cada uma das diferentes antocianidinas (agliconas), foi possível detectar um total de 19 antocianinas na uva *in natura*, enquanto que nas suas passas produzidas sem e com azeite foram detectadas 19 antocianinas, além de mais 2 vitisinas). Foram detectados no espectro EM/EM os seguintes padrões de fragmentação (**Tabela 3**):

- i) para antocianinas monoglicosiladas não aciladas: presença de íon molecular ($[M]^+$) de m/z 465, 449, 479, 463 e 493 para os respectivos derivados da dp, cy, pt, pn e mv e íon produto de m/z 303, 287, 317, 301 e 331 gerado a partir da perda de uma unidade de hexose ($[M-162]^+$), assumida como glicose;
- ii) antocianinas monoglicosiladas *p*-cumariladas: presença de íon molecular ($[M]^+$) de m/z 611, 595, 625, 609 e 639, respectivamente, compatível com as estruturas *p*-cumariladas dos 3-glicosídeos das antocianidinas dp, cy, pt, pn e mv, além de um íon produto de m/z 303, 287, 317, 301 e 331, decorrente da perda do glicosídeo ligado ao grupo cumaril ($[M-308]^+$) na posição C-3 no anel C das antocianidinas;
- iii) vitisinas A e B: presença de íon molecular ($[M]^+$) de m/z 561 e 517 e, de seus íons produtos de m/z 399 e 355, respectivamente, gerados a partir da perda de uma unidade de hexose ($[M-162]^+$), assumida como glicose.

Não há evidências cromatográficas (uso de padrão autêntico) nem evidência de espectro de massas da ocorrência de antocianinas derivadas da pelargonidina (m/z 271) nas amostras estudadas. Resultado similar para a uva BRS Morena *in natura* foi relatado por Lago-Vanzela et al. (2011a).

Tabela 3. Características espectrais (EM/EM) das antocianinas identificadas na uva BRS Morena (*in natura*, uvas passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM (modo positivo de ionização), e proporção molar (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentração total expressa em kg de uva *in natura* e kg de uva passa. Compostos (C) numerados segundo **Figura 10**.

C	Íon molecular; íon produto (m/z)	Antocianina Correspondente ¹	proporção molar (%)		
			Uva <i>in natura</i>	Uva passa sem azeite	Uva passa com azeite
1	465;303	dp-3-glc	11,87a $\pm$ 1,65	7,54b $\pm$ 0,75	8,14b $\pm$ 0,71
2	449;287	cy-3-glc	3,72ab $\pm$ 1,12	4,93a $\pm$ 0,43	2,95b $\pm$ 0,27
3	479;317	pt-3-glc	9,58a $\pm$ 0,63	8,96a $\pm$ 0,55	8,94a $\pm$ 0,57
4	463;301	pn-3-glc	11,13b $\pm$ 1,41	14,53a $\pm$ 0,71	9,61b $\pm$ 0,57
5	493;331	mv-3-glc	39,19b $\pm$ 2,85	43,80a $\pm$ 1,45	45,66a $\pm$ 0,45
6	507;303	dp-3-acglc	0,74a $\pm$ 0,05	0,49b $\pm$ 0,06	0,84a $\pm$ 0,03
7	491;287	cy-3-acglc	0,23a $\pm$ 0,04	0,26b $\pm$ 0,00	0,18a $\pm$ 0,02
8	521;317	pt-3-acglc	0,77a $\pm$ 0,02	0,67b $\pm$ 0,03	0,75a $\pm$ 0,02
9	505;301	pn-3-acglc	0,62a $\pm$ 0,01	0,63a $\pm$ 0,07	0,54a $\pm$ 0,01
10	535;331	mv-3-acglc	3,13b $\pm$ 0,47	3,01b $\pm$ 0,21	3,82a $\pm$ 0,22
11	611;303	dp-3-cmglc	2,14a $\pm$ 0,06	1,30c $\pm$ 0,11	1,53b $\pm$ 0,06
12	625;317	pt-3- <i>cis</i> -cmglc	0,09a $\pm$ 0,00	0,12a $\pm$ 0,02	0,10a $\pm$ 0,01
13	595;287	cy-3-cmglc	0,69a $\pm$ 0,10	0,76a $\pm$ 0,08	0,57a $\pm$ 0,02
14	655;331	mv-3- <i>trans</i> -cfglc	0,09c $\pm$ 0,01	0,36b $\pm$ 0,08	0,62a $\pm$ 0,19
15	625;317	pt-3- <i>trans</i> -cmglc	1,86a $\pm$ 0,12	1,57b $\pm$ 0,10	1,77a $\pm$ 0,04
16	609;301	pn-3- <i>cis</i> -cmglc	0,14b $\pm$ 0,01	0,20a $\pm$ 0,03	0,14b $\pm$ 0,01
17	639;331	mv-3- <i>cis</i> -cmglc	0,49a $\pm$ 0,03	0,30b $\pm$ 0,08	0,39ab $\pm$ 0,05
18	625;317	Pn-3- <i>trans</i> -cmglc	2,78a $\pm$ 0,04	2,71a $\pm$ 0,17	2,37b $\pm$ 0,05
19	639;331	mv-3- <i>trans</i> -cmglc	10,75a $\pm$ 1,58	7,86a $\pm$ 0,98	11,08a $\pm$ 1,23
Total (mg mv-3-glc/kg uva)			498,17a $\pm$ 29,06	55,28c $\pm$ 12,27	122,49b $\pm$ 16,99
Total (mg mv-3-glc/kg produto)			498,17 $\pm$ 29,06	251,00 $\pm$ 55,72	556,12 $\pm$ 77,15
Vitisina A (mg/ kg de uva)			ND	1,04a $\pm$ 0,15	1,17a $\pm$ 0,12
Vitisina A (mg/ kg de produto)				4,73 $\pm$ 0,68	5,30 $\pm$ 0,53
Vitisina B (mg/ kg de uva)			ND	0,61a $\pm$ 0,10	0,48b $\pm$ 0,02
Vitisina B (mg/ kg de produto)				2,77 $\pm$ 0,47	2,19 $\pm$ 0,10

¹ Abreviação da nomenclatura: dp, delphinidina; cy, cianidina; pt, petunidina; pn, peonidina; mv, malvidina; glc, glicosídeo; acglc, 6"-acetil-glicosídeo; cmglc, 6"-*p*-cumaril-glicosídeo; cfglc, 6"-cafeil-glicosídeo. ND, não detectado. As proporções molares estão calculadas para as antocianinas monoglicosiladas, totalizando 100%. a, b, c: letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que as amostras de fruta *in natura* e passas com e sem azeite da uva BRS Morena não diferem estatisticamente, com nível de significância de 0,05.

No presente trabalho, foi possível a identificação de mais duas antocianinas minoritárias, a saber, petunidina-3-*cis-p*-cumaril-glicosídeo e peonidina-3-*cis-p*-cumaril-glicosídeo. Lago-Vanzela et al. (2011a) apontaram que o perfil de antocianinas da uva BRS Morena encontra-se em acordo com sua genealogia (CAMARGO et al., 2003; LEÃO, 2008).

Pela **Tabela 3** foi possível observar a série completa das antocianinas não aciladas (Compostos de 1 a 5), acetiladas (Compostos de 6 a 10) e *p*-cumariladas (a série completa dos isómeros *trans* e alguns dos isómeros *cis*; Compostos de 11 a 13, e, 15 a 19), sendo a malvidina-3-glicosídeo (mv-3-glc) a antocianina majoritária nas três amostras de BRS Morena (*in natura*, passas com azeite e passas sem azeite). Após a desidratação parcial a 40 °C de uvas Merlot e Syrah, para a elaboração de vinhos varietais, Márquez et al. (2012a) observaram também que os derivados monoglicosilados, particularmente, a malvidina-3-glicosídeo, seguida pelos seus derivados acetilados foram as antocianinas majoritárias. Além disso, a pelargonidina-3-glicosídeo foi detectada nas duas variedades de uva (Merlot e Syrah), sendo suas proporções reduzidas nas respectivas uvas desidratadas.

Nas uvas passas de BRS Morena, além das antocianinas presentes na uva *in natura*, foram identificados os compostos vitisina A e vitisina B, os quais são derivados antociânicos da categoria das piranoantocianinas, compostos estes que foram formados a partir da reação do ácido pirúvico e do acetaldeído, respectivamente, com a malvidina-3-glicosídeo. Tal presença pode ser justificada pelo estresse inicial sofrido pelas uvas quando submetidas ao processo de secagem. Nestas condições, o seu processo de respiração passe do aeróbico para o anaeróbico, promovendo assim a elevação dos índices de ácido pirúvico e acetaldeído nas uvas, os quais influenciam diretamente a formação das vitisinas A e B, nesta ordem (VIVAR-QUINTANA et al., 1999; HAYASAKA; ASENSTORFER, 2002; ROMERO; BAKKER, 2000; BENABDELJALIL et al., 2000).

Márquez et al. (2012a) relataram também a síntese de vitisinas A e B durante a desidratação parcial de uvas Merlot e Syrah para produção de vinhos, sendo a vitisina B a majoritária para ambas as variedades estudadas. Os autores também apontaram que a síntese de vitisinas ocorre em maior grau para uvas desidratadas fora da vinha, pois nestes casos há um maior rompimento das camadas da casca da uva, favorecendo a difusão das antocianinas presentes na casca da fruta para a sua polpa, o que, conseqüentemente, leva a um aumento da formação destes compostos. Vale ressaltar que os autores concluíram o processo da desidratação quando a concentração de açúcar redutor do mosto obtido destas uvas alterou-se de 211 e 231 mg/L, para as uvas Merlot e Syrah, respectivamente, para 300 mg/L.

Em outro estudo realizado por Márquez et al. (2014), após avaliar o efeito da desidratação parcial em secador, a temperatura de 40 °C, de três variedades de uva (Merlot, Tempranillo e Syrah), foi observada alterações na composição das antocianinas durante o processo. Os autores relataram que ao comparar as proporções individuais presentes nas uvas *in natura* e nas respectivas uvas desidratadas, a dp-3-glc exibiu discreta redução, enquanto que os derivados glicosilados da malvidina exibiram os maiores aumentos nas proporções após o processo. De forma geral, o processo de desidratação parcial destas uvas, durante 24 horas, resultou em um aumento na concentração das cinco antocianinas monoglicosiladas identificadas.

No presente estudo, as concentrações totais de antocianinas nas passas sem e com azeite, expressas em mg de mv-3-glc/kg de uva passa, foram significativamente inferiores a quantificada nas uvas *in natura* (expressos em mg de mv-3-glc/kg de fruta). Ao expressar os resultados de passas por quilo de uva *in natura* e calcular a retenção de antocianinas nas passas foi possível notar que as passas produzidas com azeite retiveram 24,59% das antocianinas, enquanto que as produzidas sem azeite retiveram apenas 11,10%.

As antocianinas glicosiladas (flavonoides do tipo o-difenóis glicosilados), usualmente, não estão envolvidas, de forma direta, nas reações catalisadas pela polifenoloxidase. Em contrapartida, esses compostos podem ser oxidados diretamente pela lacase ou pela peroxidase. A autooxidação dos o-difenóis pode ainda potencializar a ação catalítica da peroxidase, ao formar além da correspondente o-diquinona também o peróxido de hidrogênio como sub-produto, que por sua vez pode participar da reação de oxidação catalisada por esta enzima. Além disso, os o-difenóis glicosilados podem ser hidrolisados por β -glicosidases para suas respectivas agliconas, que são substratos potenciais para as enzimas oxidativas, acelerando o processo de degradação destes compostos (HE et al., 2010; LAGO-VANZELA et al., 2015).

Associado as reações de degradação oxidativa, é consenso geral entre os autores que as antocianinas presentes nas frutas são relativamente instáveis e sofrem degradação devido a exposição a altas temperaturas e oxigênio durante o processamento (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013). Segundo Figueiredo-González, Cancho-Grande e Simal-Gándara, (2013) e Torres et al. (2010), as antocianinas estão presentes, majoritariamente, nas cascas das uvas, que por sua vez estão diretamente expostas ao ar quente de secagem e, por conseguinte, mais vulneráveis que outros compostos (que predominam-se na polpa ou sementes, por exemplo) aos processos de degradação térmica.

Diante destes fatos, sugere-se que o pré-tratamento com azeite acelerou o processo de desidratação da uva, expondo a mesma a temperatura elevada por um período menor, quando comparado as uvas não pré-tratadas. Estes fatos refletiram positivamente na retenção das antocianinas destas passas. Supõem-se que, associado as reações oxidativas, nas passas sem pré-tratamento tenha ocorrido maior fragmentação das moléculas através do anel C heterocíclico de sua

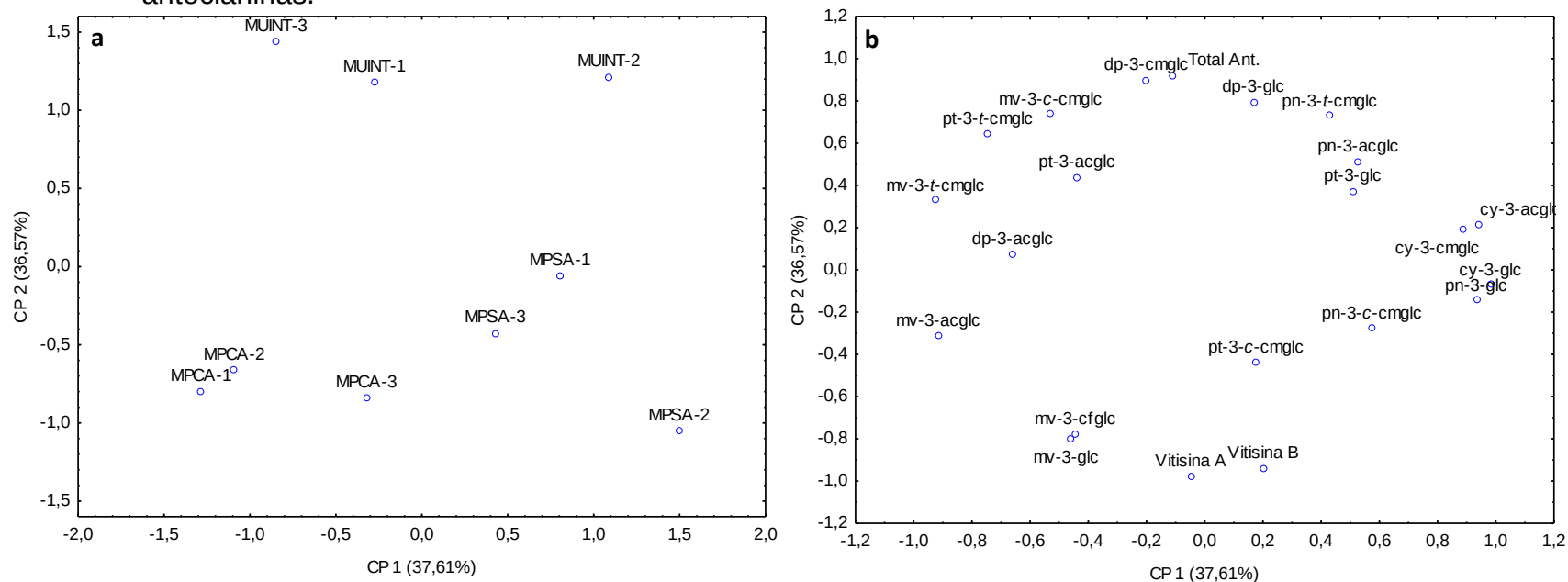
estrutura devido ao prolongado tempo de exposição das uvas ao tratamento térmico

A análise de componentes principais foi realizada entre a composição de antocianinas presentes nas amostras de uva BRS Morena *in natura*, passas sem azeite e passa com azeite. O primeiro componente principal (CP 1) explicou 37,61% da variação, enquanto CP 2 explicou 36,57%, totalizando assim 74,18% da variação.

O gráfico apresentado pela **Figura 11a** mostra a dispersão das amostras de uva BRS Morena *in natura* e passas, sendo que no CP 1 permitiu a diferenciação das amostras de uva passa sem e com azeite, enquanto CP 2 permitiu diferenciar as amostras de uva *in natura* das uvas passas. As amostras de uva *in natura* encontraram-se no lado positivo do CP 2, enquanto que as amostras referentes a uva passa sem azeite foram enquadradas no lado negativo do CP 2 e positivo do CP 1, e as amostras da uva passa com azeite no lado negativo do CP 1 e CP 2. As amostras ficaram próximas entre si, exceto uma amostra da uva *in natura* (MUINT-2).

Analisando a **Figura 11b**, notou-se que o lado positivo do CP 1 foi carregado, principalmente, pelo composto monoglicosilado acetilado da cianidina (cy-3-glc, 0,98; cy-3-acglc, 0,94), pela peonidina monoglicosilada (pn-3-glc, 0,93) e, pelo composto cumarilado na forma *trans* da cianidina (cy-3-cmglc). Já o lado negativo do CP 1 foi carregado, principalmente, pelo derivado cumarilado monoglicosilado da malvidina na forma *trans* (mv-3-*t*-cmglc, -0,92) e, pelo derivado acetilado da malvidina (mv-3-acglc, -0,91).

Figura 11. Análise dos componentes principais **(a)** das amostras de uvas BRS Morena *in natura* (MUINT-1, 2,3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1,2,3) e passas de BRS Morena com azeite (MPCA-1,2,3); **(b)** do perfil das antocianinas.



Abreviação da nomenclatura: dp, delphinidina; cy, cianidina; pt, petunidina; pn, peonidina; mv, malvidina; glc, glicosídeo; acglc, 6"-acetil-glicosídeo; cmglc, 6"-*p*-cumaril-glicosídeo; cfglc, 6"-cafeil-glicosídeo; Total Ant., Antocianinas Totais).

O lado positivo de CP 2 foi carregado, principalmente, pela concentração total de antocianinas (Total Ant., 0,92) e pelo derivado cumarilado monoglicosilado da delphinidina na forma *trans* (dp-3-cmglc, 0,90), enquanto que o lado negativo de CP 2 foi carregado, principalmente, pelas vitisinas A e B (Vitisina A, -0,98; Vitisina B, -0,94) e pela malvidina monoglicosilada (mv-3-glc, -0,80).

As amostras de uva BRS Morena foram alocadas próximas as variáveis (compostos) que as caracterizam. Desta forma, analisando conjuntamente as **Figuras 11a** e **11b**, nota-se que as amostras de uva passa sem azeite diferenciaram das com azeite, principalmente, pela maior concentração da vitisina B. Já as amostras de uva passas com azeite, foram diferenciadas, principalmente, pela presença majoritária da malvidina monoglicosilada (mv-3-glc). As amostras de uva passas foram diferenciadas da uva *in natura*, principalmente, pela presença das vitisinas A e B. Estes compostos não foram encontrados na uva *in natura* (**Tabela 4**) e, como descrito anteriormente, são oriundos de reações químicas inerentes ao processo de secagem devido ao estresse pelo qual a uva é submetida. Também é possível notar que a uva *in natura* foi caracterizada, principalmente, pelo derivado cumarilado da delphinidina (dp-3-t-cmglc).

5.2.2. Derivados do ácido hidróxicinâmico e estilbenos

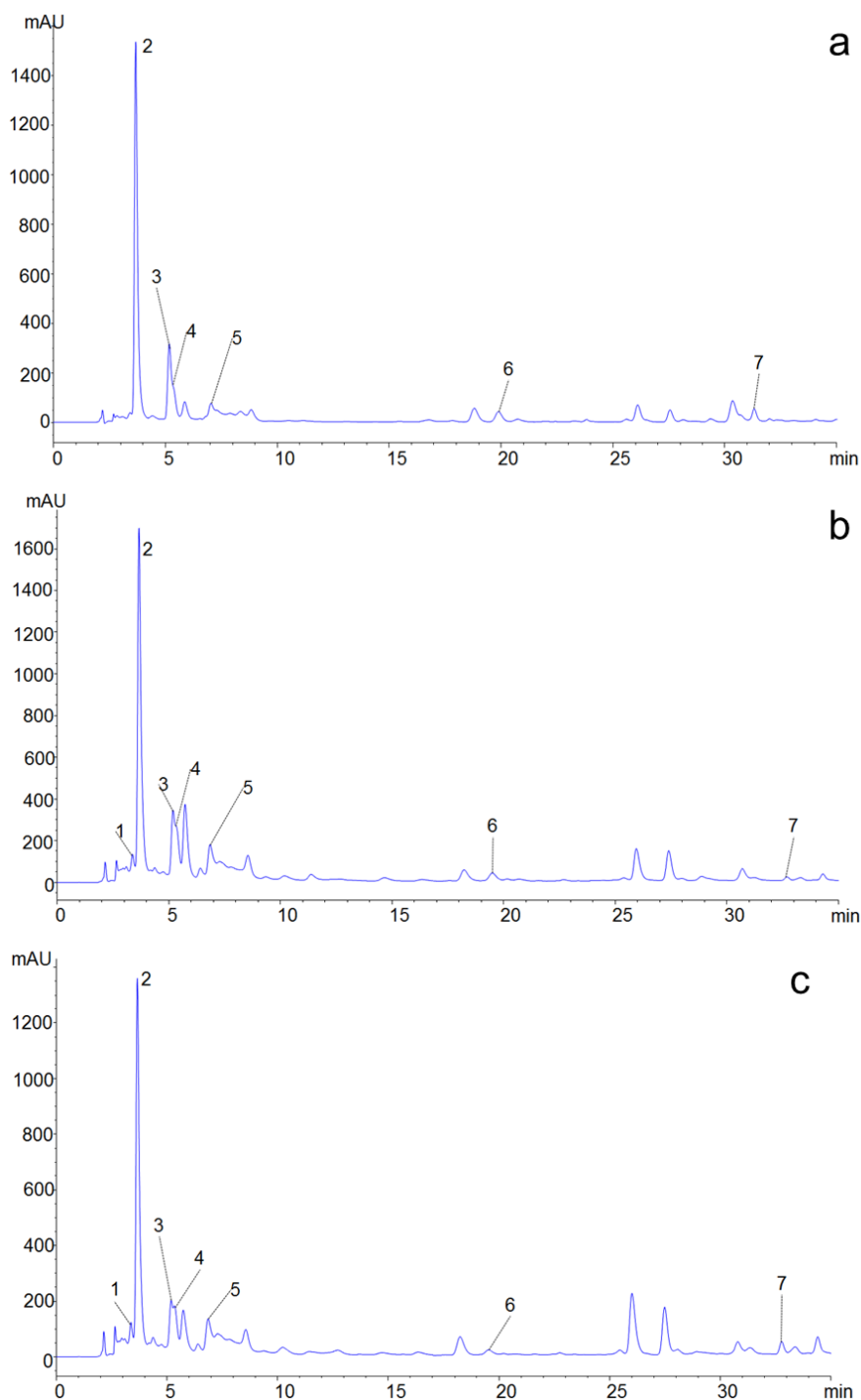
Os derivados dos ácidos hidróxinâmicos (DAHC), comumente, encontrados em uvas viníferas como o ácido *trans*-caftárico, os ácidos *cis*- e *trans*-cutárico e o ácido *trans*-fertárico (picos 2 a 5) foram detectados nas amostras de BRS Morena *in natura* (**Tabela 4**, **Figura 12a**). Este perfil de DAHC foi igual ao relatado por Lago-Vanzela et al. (2011) ao estudar a mesma cultivar. Já as uvas passas sem e com azeite (**Figuras 12b** e **c**, respectivamente) apresentaram, além dos compostos da uva *in natura*, o ácido 2-S-glutationil-*trans*-caftárico (GRP) (pico 1).

Tabela 4. Características espectrais (EM/EM) dos derivados dos ácidos hidróxicinâmicos (DAHC) e estilbenos identificados na uva BRS Morena (*in natura*, uvas passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM, proporção molar (valor médio $\pm$ desvio padrão, n = 3) e concentração total. Compostos numerados segundo **Figura 12**.

Composto	Íon pseudomolecular; íon produto (m/z)	Derivados do ácido hidróxicinâmico	Uva <i>in natura</i>	Uva passa sem azeite	Uva passa com azeite
			Proporção molar (%)		
1		GRP	ND	2,82ab $\pm$ 0,45	8,70a $\pm$ 5,20
2	311;179,149,135	ac. <i>trans</i> -caftárico	72,38a $\pm$ 0,45	67,70a $\pm$ 0,23	58,27a $\pm$ 14,66
3	295;163,149,119	ác. <i>trans</i> -cutárico	17,52a $\pm$ 0,69	13,57b $\pm$ 1,01	9,97c $\pm$ 1,52
4	295;163,149,120	ác. <i>cis</i> -cutárico	5,67a $\pm$ 0,36	8,89a $\pm$ 0,23	4,48a $\pm$ 4,11
5	325; 193, 149	ac. <i>trans</i> -fertárico	4,42a $\pm$ 0,67	7,02a $\pm$ 0,69	18,59a $\pm$ 11,83
Concentração de Derivados Hidróxicinâmicos Totais (mg/kg de uva <i>in natura</i>)			88,52a $\pm$ 10,14	36,01b $\pm$ 11,49	13,04c $\pm$ 9,55
Concentração de Derivados Hidróxicinâmicos Totais (mg/kg de produto)			88,52 $\pm$ 10,14	163,49 $\pm$ 52,17	59,18 $\pm$ 43,37
Composto	Íon pseudomolecular; íon produto (m/z)	Estilbeno Correspondente	Uva <i>in natura</i>	Uva passa sem azeite	Uva passa com azeite
			mg/kg de uva fresca (mg/kg de produto)		
6	389; 227	<i>trans</i> -piceido	3,06a $\pm$ 0,51	1,08b $\pm$ 0,17 (4,91 $\pm$ 0,75)	0,40c $\pm$ 0,04 (1,81 $\pm$ 0,18)
7	389; 227	<i>cis</i> -piceido	1,47a $\pm$ 0,08	0,30b $\pm$ 0,15 (1,37 $\pm$ 0,67)	0,64b $\pm$ 0,64 (2,92 $\pm$ 2,92)

¹ Abreviação da nomenclatura: GRP, 2-S-glutationil-*trans*-caftárico. As proporções molares estão calculadas para as DAHC, totalizando 100%. a, b, c: letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que as amostras de fruta *in natura* e passas com e sem azeite da uva BRS Morena não diferem estatisticamente, com nível de significância de 0,05.

Figura 12. Derivados dos ácidos hidróxicinâmicos e estilbenos presentes na uva BRS Morena (*in natura*, a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 320 nm. A identificação dos picos está apresentada na **Tabela 5**.



A identificação destes compostos foi realizada com o auxílio dos respectivos cromatogramas de íons extraídos (EIC) (**Figura 12**), no modo de ionização negativo, observados no espectro EM/EM 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., 2013). Apenas o composto GRP foi identificado utilizando os EIC no modo de ionização positivo.

Os derivados do tipo caftárico, *trans*- e *cis*-cutárico e 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) e com formação do íon do ácido hidroxicinâmico ionizado correspondente de m/z 135, 119, 120 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 molecular de m/z 264.

Tanto para as uvas *in natura*, quanto para as passas, o DAHC predominante foi o ácido *trans*-caftárico, resultado esse de acordo com o encontrado em outro estudo com passas produzidas a partir da variedade *Thompson seedless* (WILLIANSO; CARUGHI, 2010). Observou-se também, para ambas as passas, uma redução nas concentrações de todos DAHC presentes (quando os resultados foram expressos em mg/ kg de uva *in natura*), em relação a concentração apresentada pela uva BRS Morena *in natura*.

Karadeniz et al. (2000), após determinar a composição fenólica de passas de uva *Thompson Seedless*, desidratadas em túnel de desidratação a 71 °C, relataram perdas dos ácidos caftárico e cutárico na ordem de aproximadamente 90%. Peinado et al. (2009) e Serratosa et al. (2008), em estudo com a desidratação de uvas da variedade *Pedro ximenez*, também relataram degradação dos ácidos caftárico, cutárico e fertárico.

As passas obtidas das uvas sem pré-tratamento apresentaram retenção de 35,29% enquanto as passas obtidas das uvas submetidas ao pré-tratamento apresentaram retenção de 13,07%. Reduções na concentração dos DAHC nas passas ocorreram, provavelmente, devido a reações de oxidação catalisadas pela PPO durante as primeiras horas de secagem (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013; LAGO-VANZELA et al., 2015). Isto porque a quebra da integridade física da baga de uva pelo pré-tratamento ocasiona a descompartimentalização das organelas das células do tecido vegetal, promovendo a liberação dos DAHC, especialmente o ácido caftárico, presentes no vacúolo, juntamente com as enzimas oxidativas. Além disso, o pré-tratamento da uva tornou-a mais permeável tanto à água, que tem que evaporar-se desde o interior da baga, quanto ao oxigênio do ar exterior que pode difundir pela baga favorecendo estas reações oxidativas de origem enzimática.

O ácido caftárico é um dos principais substratos para a PPO. Assim, o GRP detectado nas passas, em maior concentração nas com azeite, é formado devido o contato do ácido caftárico com a PPO, que na presença de oxigênio induz a produção enzimática das O-quinonas. Esta maior concentração de GRP nas passas com azeite auxilia na hipótese de que o ácido caftárico das uvas pré-tratadas sofreram maior processo de oxidação. Obviamente, as O-quinonas são compostos altamente reativos e muito instáveis, condensando facilmente com outros compostos fenólicos. Assim, a oxidação dos compostos fenólicos presentes nas passas com azeite, provavelmente, prosseguiu, além destes primeiros compostos, o que refletiu negativamente na retenção dos DAHC destas passas.

Para a classe dos estilbenos foram encontradas as formas *cis* e *trans* do composto conhecido como piceido, os quais são compostos derivados do *trans*-resveratrol (**Tabela 4**). O padrão de fragmentação observado no espectro EM/EM para estes compostos foi a presença de

íon pseudomolecular ($[M-H]^-$) de m/z de 389 e um íon produto de m/z 227, gerado a partir da perda de um glicosídeo (m/z 162). Estes compostos, uma vez que são isômeros (mesma m/z) 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*-.

As características espectrais (íon molecular e íons produtos com ESI-MS/MS), e a concentração total dos estilbenos estão presentes na **Tabela 4**, sendo os compostos numerados igualmente ao que foi apresentado na **Figura 12** para todas as amostras. Dentre os estilbenos identificados, pode-se observar na uva *in natura* há a presença tanto do *cis*-piceido quanto do *trans*-piceido, porém este último foi o majoritário. O isômero *trans* é a forma naturalmente encontrada na uva, embora possa hidrolisar-se (sob luz ultravioleta) a seu correspondente isômero *cis* (LAGO-VANZELA et al., 2015). Nas passas sem azeite, o *trans*-piceido apresentou-se ainda em maior concentração enquanto que nas passas com azeite o *cis*-piceido foi o composto majoritário.

Após realizar a soma dos isômeros *cis* e *trans* da classe dos estilbenos e comparar os resultados de passas de BRS Morena foi possível verificar que as concentrações totais das passas diminuíram com relação as uvas *in natura*. Durante o processo de secagem da uva há a concentração dos ácidos, porém, segundo Zupancic, Lavric e Kristl (2015), o *trans*-resveratrol é mais estável nestas condições. Estes mesmos autores relataram que o *trans*-resveratrol foi rapidamente degradado a temperatura de 37°C e que o aumento da temperatura pode acelerar este processo. Adicionalmente, Callemien et al. (2005) relataram que a presença de oxigênio pode desencadear reações de oxidação que levam a degradação do *trans*-resveratrol. Deste modo, sugere-se que o efeito de concentração dos constituintes presentes nas bagas das uvas BRS Morena, com e sem pré-tratamento, durante o processo de desidratação foi menor que o efeito de degradação devido a exposição a

temperatura e ao oxigênio, levando a redução na concentração dos estilbenos das passas quando comparado as frutas *in natura*.

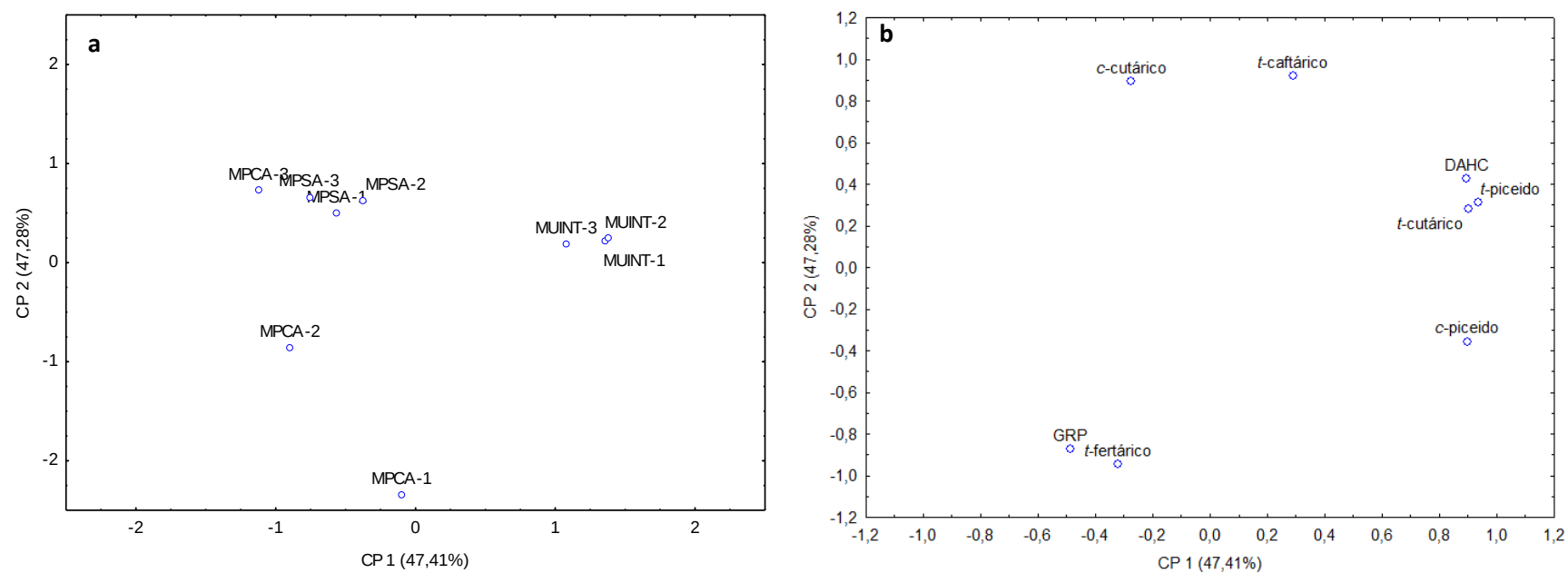
Ao expressar os resultados em mg de piceído por kg de passas, observou-se que os valores médios encontrados não apresentaram diferença significativa, variando entre 4,73 e 6,28. Tayoub, Sulaiman e Alorfi (2014), após determinar a concentração de resveratrol em passas comerciais derivadas das variedades de uvas apirênicas Zaini, Hilwani, Baladi e Rouni, observaram concentrações entre 1,21 e 8,2 mg de resveratrol/100g de produto, sendo a menor concentração determinada para a variedade Rouni enquanto a maior determinada para a variedade Baladi.

Com o intuito de diferenciar as amostras para estas classes de compostos fenólicos, os estilbenos e os derivados dos ácidos hidroxicinâmicos foram avaliados em conjunto por ACP (**Figura 13**). O primeiro componente principal (CP 1) explicou 47,41% da variação, enquanto o CP 2 explicou 47,28%, totalizando 94,69% da variação.

Na **Figura 13a** foi possível a diferenciação das amostras de uva *in natura* das amostras processadas em CP 1, e entre as amostras de passas em CP 2, com exceção de uma amostra de passa com azeite (MCPA-3). As amostras de uva BRS Morena *in natura* foram enquadradas no lado negativo de CP 1; as amostras de passas sem azeite no lado negativo de CP 1 e positivo de CP 2; enquanto que as amostras de passas com azeite foram enquadradas no lado negativo de CP 1 e CP 2, exceto por uma amostra MCPA-3 (enquadrada no lado negativo de CP 1 e positivo de CP 2).

(

Figura 13. Análise dos componentes principais **(a)** das amostras de uvas BRS Morena *in natura* (MUINT-1, 2, 3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas de BRS Morena com azeite (MPSA-1, 2, 3); e **(b)** da composição de estilbenos e derivados hidroxicinâmicos.



Abreviação da nomenclatura: DAHC, derivados dos ácidos hidróxicinâmicos, GRP, produto de degradação da uva, *t*, *trans*, *c*, *cis*.

Na **Figura 13b**, foi possível observar que o lado positivo do CP 1 foi carregado pelos estilbenos *trans* e *cis*-piceído (*t*-piceído, 0,93; *c*-piceído, 0,90), pelo ácido *trans*-cutárico (*t*-cutárico, 0,90) e pela concentração total de derivados do ácido hidróxicinâmicos (DAHC, 0,89). Já o lado positivo de CP 2 foi carregado pelos ácidos *trans*-caftárico (*t*-caftárico, 0,92) e *cis*-cutárico (*c*-cutárico, 0,89), enquanto que o lado negativo de CP 2 foi carregado pelo ácido *trans*-fertárico (*t*-fertárico, -0,94) e pelo GRP (GRP, -0,87).

Pode-se inferir, portanto, que as amostras de uva *in natura* apresentaram maior concentração dos estilbenos *cis*-piceído (*c*-piceído) e *trans*-piceído (*t*-piceído), do ácido *trans*-cutárico (*t*-cutárico) e da concentração total de derivados do ácido hidroxicinâmico (DAHC). As amostras de uva passa sem azeite apresentaram maior concentração do ácido *cis*-cutárico (*c*-cutárico), enquanto duas amostras de uva passa com azeite apresentaram maior concentração do ácido *trans*-fertárico (*t*-fertárico) e do GRP (GRP).

5.2.3. Flavonóis

As amostras estudadas apresentaram apenas flavonóis monoglicosilados e alguns compostos em sua forma livre, tendo sido detectados um total de 19 flavonóis na uva *in natura* (**Figura 14a**), enquanto que em suas passas produzidas sem e com azeite foram detectados 21 flavonóis (**Figura 14b e c**, respectivamente). O perfil observado para a BRS Morena *in natura* foi similar ao relatado por Lago-Vanzela et al. (2011), porém, o presente trabalho apontou ainda a presença do kaempferol-3-rutinosídeo e de miricetina, quercetina, isoramnetina e siringetina livres. Além disso, as uvas *in natura* apresentaram apenas flavonóis monoglicosilados, sendo a ocorrência de agliconas livres de flavonóis, provavelmente, atribuída à extração realizada em condições ácidas (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011). O grau de hidrólise pode ser dependente da estrutura do flavonol e também

do tipo de açúcar unido a aglicona. Em vinhos, os derivados da quercetina, especialmente, a rutina mostram uma tendência muito forte a hidrólise, gerando quercetina livre (LAGO-VANZELA et al., 2015). No presente trabalho, observa-se também que a aglicona livre presente em maior porcentagem molar nas passas foi a quercetina.

As características espectrais (íon molecular e íons produtos com ESI-MS/MS, proporções molares médias para os flavonóis individuais, bem como a concentração total na uva BRS Morena *in natura*, e em suas passas produzidas sem e com a utilização de azeite extra virgem como agente tensoativo estão presentes na **Tabela 5**. Os flavonóis que foram identificados no estudo incluem seis agliconas, seguindo o seguinte padrão de substituição no anel B: quercetina (Q; 2 x OH), isoramnetina (I; 1 x OH, 1 x OCH₃), kaempferol (K; 1 x OH), miricetina (M; 3 x OH), laricitina (L; 2 x OH, 1 x OCH₃) e siringetina (S; 1 x OH, 2 x OCH₃).

A identificação destes compostos foi baseada nos seus sinais IES-EM/EM correspondentes aos íons pseudomoleculares ([M-H]⁻) de *m/z* de 479 para os derivados do flavonol do tipo miricetina, 463 para os derivados do flavonol tipo quercetina; 447 para os do tipo kaempferol; 493 para os do tipo laricitrina; 477 para os do tipo isoramnetina; e, 507 para os do tipo siringetina.

Figura 14. Flavonóis presentes na uva BRS Morena (*in natura*, a), na uva passa sem azeite (b) e na uva passa com azeite (c): Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD a 360 nm. A identificação dos picos está apresentada na **Tabela 5**.

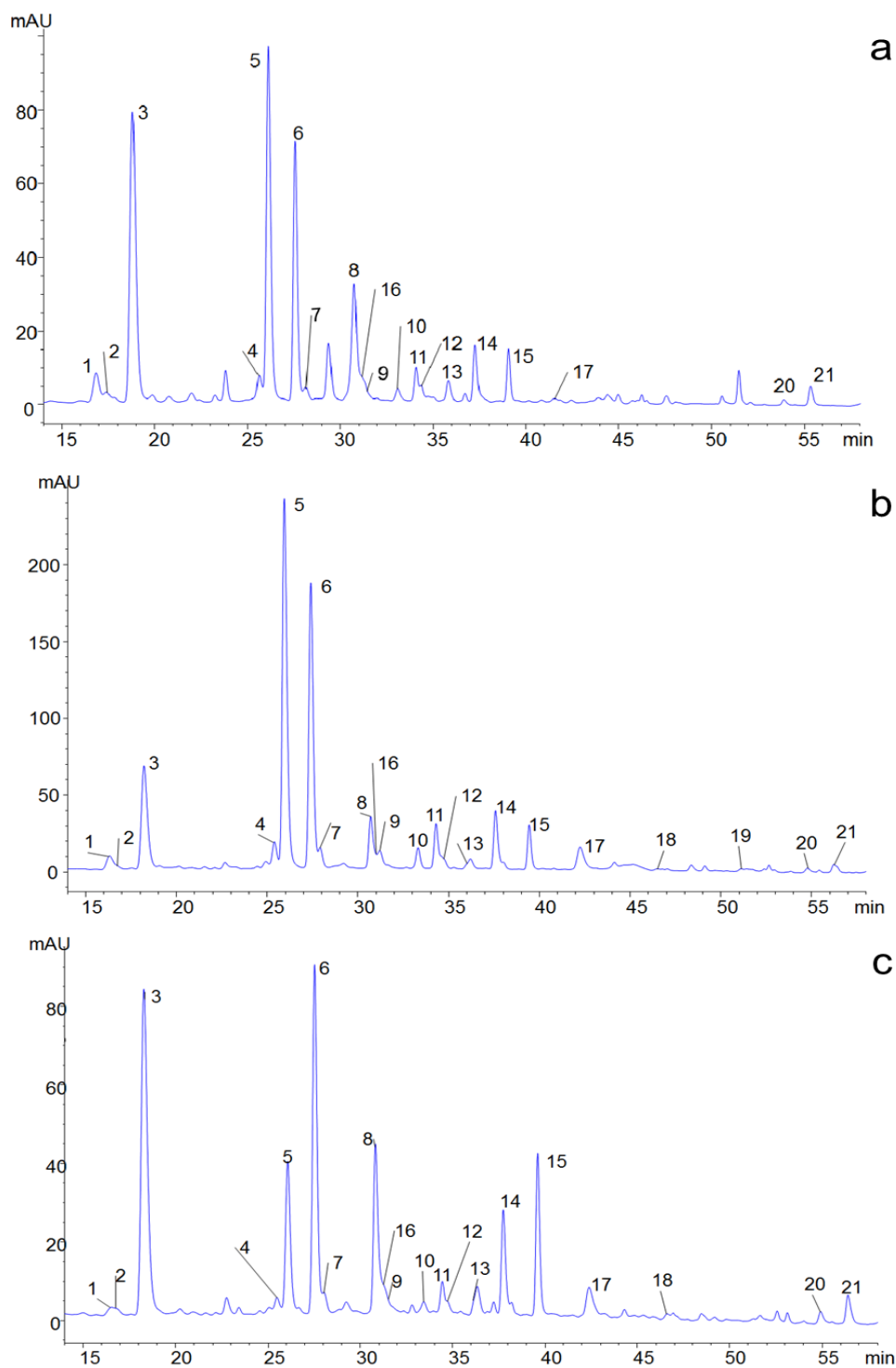


Tabela 5. Características espectrais (EM/EM) dos flavonóis identificados nas amostras de BRS Morena (*in natura*, passa sem azeite e com azeite) por CLAE-DAD-IES-EM/EM (modo de ionização negativo), proporções molares (valor médio $\pm$ desvio padrão, $n = 3$) e concentração total. Compostos numerados segundo **Figura 14**.

Composto	Íon pseudomolecular; íon produto (m/z)	Denominação	Proporção molar (%)		
			Uva <i>in natura</i>	Uva passa sem azeite	Uva passa com azeite
1	493; 317	M-glcU	3,61a $\pm$ 0,20	2,04b $\pm$ 0,24	1,25c $\pm$ 0,54
2	479; 317	M-gal	1,20a $\pm$ 0,18	0,55b $\pm$ 0,05	0,50b $\pm$ 0,12
3	479; 317	M-glc	30,92 ^a $\pm$ 2,28	15,75b $\pm$ 1,13	24,29ab $\pm$ 9,14
4	463; 301	Q-gal	1,41a $\pm$ 0,19	2,23a $\pm$ 0,19	1,24a $\pm$ 0,70
5	477; 301	Q-glcU	22,41 ^a $\pm$ 1,31	27,36a $\pm$ 2,22	17,05a $\pm$ 9,68
6	463; 301	Q-glc	14,89b $\pm$ 1,94	23,11a $\pm$ 1,30	17,81b $\pm$ 2,66
7	609; 301	Q-rut	1,04a $\pm$ 0,10	1,68a $\pm$ 0,27	1,58a $\pm$ 0,41
8	493; 331	L-glc	9,88a $\pm$ 1,17	5,31b $\pm$ 0,43	9,03a $\pm$ 2,21
9	447; 285	K-gal	0,49ab $\pm$ 0,37	0,84a $\pm$ 0,11	0,16b $\pm$ 0,11
10	461; 285	K-glcU	0,89a $\pm$ 0,05	1,41a $\pm$ 0,19	1,20a $\pm$ 0,61
11	447;285	K-glc	1,76a $\pm$ 0,09	3,49a $\pm$ 0,38	2,91a $\pm$ 2,41
12	593; 285	K-rut	0,52a $\pm$ 0,24	0,83a $\pm$ 0,18	0,87a $\pm$ 0,35
13	477; 315	I-gal	0,28b $\pm$ 0,10	0,29b $\pm$ 0,06	0,64a $\pm$ 0,14
14	477; 315	I-glc	2,98b $\pm$ 0,09	4,57a $\pm$ 0,56	4,58a $\pm$ 0,43
15	507; 345	S-glc	2,91a $\pm$ 0,47	3,31 ^a $\pm$ 0,45	6,30a $\pm$ 2,61
16	317; 317	M livre	2,13a $\pm$ 0,47	0,72b $\pm$ 0,17	1,72a $\pm$ 0,66
17	301	Q livre	0,36b $\pm$ 0,10	4,25 ^a $\pm$ 0,65	4,47a $\pm$ 0,17
18	331	L livre	ND	0,25b $\pm$ 0,10	0,57a $\pm$ 0,07
19	285	K livre	ND	0,20 ^a $\pm$ 0,07	0,15a $\pm$ 0,02
20	315	I livre	0,46a $\pm$ 0,15	0,65 ^a $\pm$ 0,03	0,97a $\pm$ 0,33
21	345	S livre	1,86a $\pm$ 0,78	1,15 ^a $\pm$ 0,29	2,69a $\pm$ 1,37
Concentração de Flavonóis Totais (mg Q-3-glc/ Kg de uva fresca)			52,21 ^a $\pm$ 7,29	31,73ab $\pm$ 7,17	24,53b $\pm$ 15,47
Concentração de Flavonóis Totais (mg Q-3-glc/ Kg produto)			52,21 $\pm$ 7,29	144,04 $\pm$ 32,54	111,39 $\pm$ 70,25

¹ Abreviação da nomenclatura: K, Kaempferol; Q, Quercetina; I, Isoramnetina; M, Miricetina; L, Laricitrina; S, Siringetina. ND, não detectado. As proporções molares estão calculadas para as antocianinas monoglicosiladas, totalizando 100 %. a, b, c: letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que as amostras de fruta *in natura* e passas com e sem azeite da uva BRS Morena diferem estatisticamente, com nível de significância de 0,05.

Foram identificados os derivados 3-galactosídeos e 3-glicosídeos do tipo miricetina, quercetina, kaempferol e isoramnetina, enquanto que

para a sirigentina e laricitrina foram detectados apenas os derivados 3-glicosídeos. Os íons produtos de m/z 317, 301, 285, 331, 315 e 345 correspondem respectivamente, aos flavonóis agliconas (-M, -Q, -K, -L, -I, e -S) que foram gerados pela perda de um fragmento de hexose para ambos derivados 3-galactosídeo (gal) e 3-glicosídeos (glc) ($[M-162-H]^-$).

Vale ressaltar que o espectro UV-vis dos diferentes derivados (3-glc e 3-gal) do mesmo flavonol aglicona são praticamente idênticos. Assim, os derivados 3-galactosídeo e 3-glicosídeo da mesma aglicona da miricetina e da sirigentina foram distinguidos devido a uma notável característica: os derivados 3-galactosídeo sempre eluem antes de seus respectivos derivados 3-glicosídeos sob condições cromatográficas em que foi usada coluna de fase reversa (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009).

Nos compostos derivados 3-glucuronídeo da miricetina, quercetina e kaempferol observa-se a presença de um íon pseudomolecular ($[M-H]^-$) de m/z de 493, 477 e 461, respectivamente, e íons produtos de m/z de 317, 301 e 285, respectivamente, devido a característica perda de um fragmento de m/z de 176 correspondente a molécula do ácido glucurônico. No caso da quercetina e do kaempferol, a presença de um diglicosídeo na posição 3 (3-O-(6"-ramnosil)-glicosídeo de quercetina ou quercetina-3-rutinosídeo, ou também conhecido como rutina, e 3-O-(6"-ramnosil)-glicosídeo de kaempferol ou kaempferol-3-rutinosídeo) foram encontrados parcialmente coeluídos com os compostos quercetina-3-glicosídeo e kaempferol-3-glicosídeo, respectivamente. Para os derivados do 3-rutinosídeo da quercetina e do kaempferol, observa-se a presença de um íon pseudomolecular ($[M-H]^-$) de m/z de 609 e 593, respectivamente, e íons produtos de m/z de 301 e 285 respectivamente, devido a característica perda de um fragmento de m/z de 308 correspondente ao diglicosídeo rutinosídeo ([ramnose (1→6) glicose]).

Dentre os compostos descritos para as amostras de uva *in natura* notou-se que a miricetina-3-glicosídeo (M-3-glc) foi o flavonol majoritário, seguido pela quercetina-3-glucuronídeo (Q-3-glcU). Estes resultados

corroboram com os descritos por Lago-Vanzela et al. (2011) que apontam que perfis similares de flavonóis são comumente encontrados em uvas *V. viníferas*. Desta maneira, o perfil apresentado de flavonóis encontrado para a uva BRS Morena se encontra de acordo com a sua genealogia descrita pela Embrapa (CAMARGO et al., 2003; LEÃO, 2008).

Já as uvas passas sem azeite, apresentaram como composto majoritário a quercetina-3-glucuronídeo, seguido pela quercetina-3-glicosídeo e pela miricetina-3-glicosídeo. O contrário foi detectado para as amostras de uva passa com azeite, isto é, o majoritário foi miricetina-3-glicosídeo, seguido por quercetina-3-glicosídeo e quercetina-3-glucuronídeo. Ainda sobre a composição das passas, todos os seis principais flavonóis foram encontrados em sua forma livre (agliconas), mesmo que em pequenas porcentagens. Figueiredo-González et al. (2013) e Márquez et al. (2012a) relataram também o surgimento de agliconas após o processo de secagem das uvas, que não haviam sido previamente identificadas/detectadas nas uvas frescas.

Quanto a concentração total de flavonóis foi possível notar que, pela quantificação total em mg de quercetina-3-glicosídeo/kg de uva *in natura*, a concentração total de flavonóis das passas em relação a uva *in natura* foi menor, sendo que as passas produzidas sem azeite apresentaram uma retenção de flavonóis igual a 60,77%, enquanto que as produzidas com azeite apresentaram uma retenção de 46,98%.

Pelos resultados foi possível observar que os flavonóis degradaram mais nas passas com azeite extra virgem, embora a duração do processo de secagem e, por conseguinte, do tratamento térmico das uvas tenha sido menor. Uma possível explicação para este fato é que, ao ser mais permeável, as cascas das uvas pré-tratadas expõem os flavonóis mais intensamente aos processos de oxidação. Além disso, ao avançar o processo de desidratação, a acidez aumenta devido a concentração dos ácidos da uva e, assim, os flavonóis glicosídeos podem ter sofrido

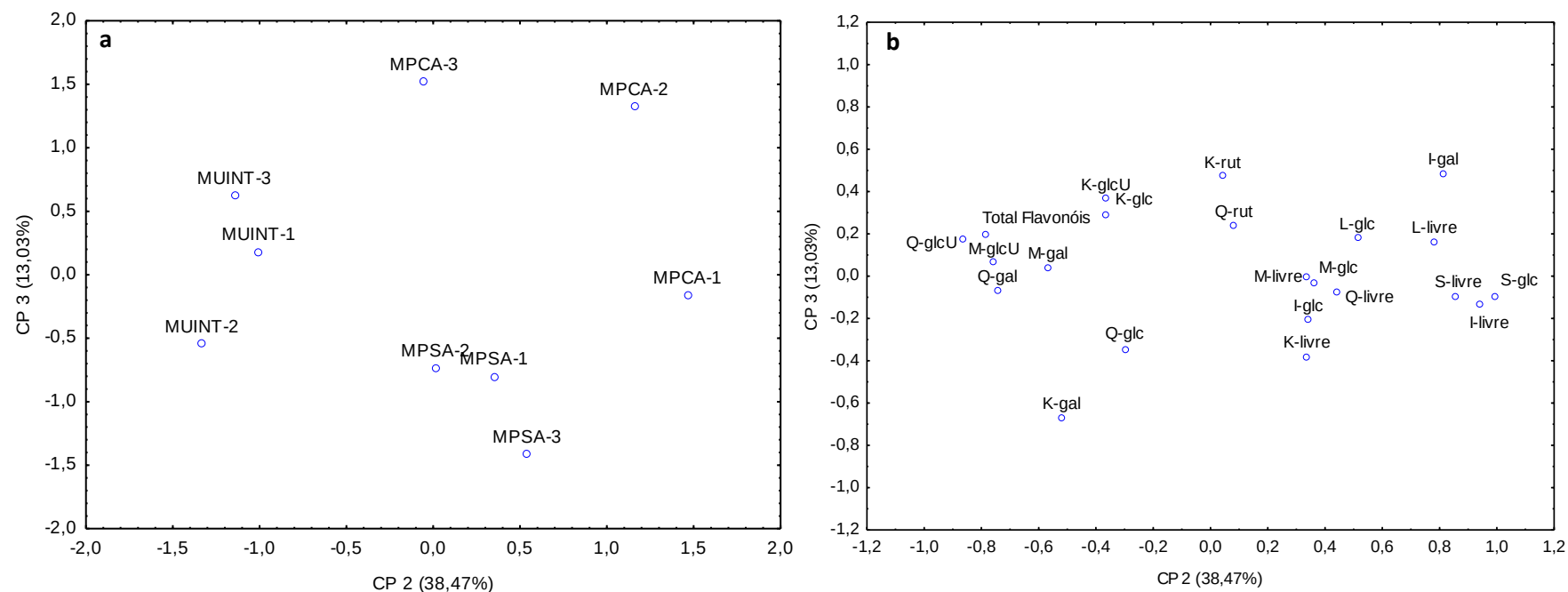
hidrólise nas passas com azeite. As agliconas livres resultantes são muito insolúveis e instáveis, sobretudo frente a processos oxidativos.

Em estudo realizado por Panceri et al. (2013), após avaliar o efeito do processo de desidratação parcial de uva viníferas, foi relatado um significativo aumento nas concentrações de quercetina e kaempferol em uvas Cabernet Sauvignon e nas concentrações de miricetina para as uvas Merlot. Vale ressaltar que neste caso, ocorreu uma desidratação pós-colheita a 7 °C até uma porcentagem entre 30 e 40% (m/m). Um aumento na concentração de flavonóis, principalmente, a quercetina, já havia sido observado em outros estudos (BONGHI et al, 2012; MENCARELLI et al., 2010). Porém, neste caso, o estresse abiótico, causado pela perda de água pode aumentar a concentração de flavonóis através da indução das vias metabólicas, que gera precursores de muitas categorias diferentes de compostos fenólicos, além do efeito de concentração dos compostos fenólicos, já citado no caso das antocianinas (BONGHI et al., 2012; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ et al., 2013).

Comparativamente com as antocianinas e os derivados dos ácidos hidróxicinâmicos, os flavonóis são menos suscetíveis aos processos de degradação enzimática, tal como observado por Amiot et al. (1992) em tecido de maçã.

A análise de componentes principais foi realizada entre a composição de flavonóis das amostras de uva BRS Morena *in natura*, passas sem e com azeite (**Figura 15**). O CP 2 explicou 38,47% enquanto o CP 3 explicou 13,03%, totalizando 51,50% da variação. Estes componentes principais foram escolhidos pois permitiram diferenciar as amostras em relação a composição de flavonóis, sendo que o CP2 permitiu a diferenciação das amostras *in natura* das processadas e o CP3 permitiu diferenciar as amostras de passas sem e com azeite (**Figura 15a**).

Figura 15. Análise dos componentes principais **(a)** das amostras de uvas BRS Morena *in natura* (MUINT-1, 2, 3), passas de BRS Morena sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas de BRS Morena com azeite (MPCA-1, 2, 3); e **(b)** da composição de flavonóis.



Abreviação da nomenclatura: K, Kaempferol; Q, Quercetina; I, Isoramnetina; M, Miricetina; L, Laricitrina; S, Siringetina; glcU, glucurosideo; gal, galactosídeo; glc, glicosídeo; rut, rutinosídeo.

As amostras de uva BRS Morena *in natura* (MUINT) foram enquadradas no lado negativo do CP 2, enquanto que as amostras de passas sem azeite (MPSA) foram enquadradas no lado positivo de CP 2 e negativo do CP 3. Já as amostras de passas com azeite (MCPA) foram enquadradas no lado positivo de CP 2 e CP 3, com exceção de uma amostra (MPCA-1).

Na **Figura 15b** foi possível observar que o lado positivo de CP 2 foi carregado, principalmente, pelas agliconas livres da isoramnetina (I livre, 0,94) e siringetina (S livre, 0,86), pela presença do derivado glicosilado da siringetina (S-glc, 0,99) e pelo derivado galactosídeo da isoramnetina (I-gal, 0,81), enquanto o lado negativo de CP2 foi carregado, pelo glucuronídeo da quercetina (Q-glcU, -0,86).

Dessa maneira, pode-se inferir que as amostras de uva BRS Morena *in natura* apresentaram maiores concentrações, principalmente, do glucuronídeo da quercetina (Q-glcU), enquanto que as amostras de passas sem azeite apresentaram maiores concentrações, principalmente, das agliconas livres da isoramnetina (I livre) e siringetina (S livre), e também pela presença do derivado glicosilado da siringetina (S-glc). Já as passas com azeite apresentaram maior concentração, principalmente, do galactosídeo da isoramnetina (I-gal).

5.2.4. Flavan-3-óis monômeros e dímeros e proantocianidinas

Cinco flavan-3-óis monômeros foram detectados nas amostras de BRS Morena *in natura* e passas sem e com azeite (**Tabela 6**), onde o majoritário foi a (+)-catequina(C), seguido por concentrações menores de (-)-galocatequina (GC) para as amostras *in natura* e passas sem azeite, e por menores concentrações de (-)-epicatequina (EC) para as passas com azeite. O dímero, proantocianidina B1 (PB1) foi encontrado em quantidades superiores as encontradas para os dímeros B2 (PB2) e B4 (PB4). Estes resultados são similares aos relatados por Figueiredo-González, Cancho-Grande e Simal-Gándara (2013), Peinado et al. (2009)

e Serratosa et al. (2008), em uvas *Pedro xímenez* desidratadas parcialmente.

Tabela 6. Concentrações dos flavan-3-óis monômeros e dímeros (tipo procianidinas B) de BRS Morena *in natura* e passas sem e com azeite.

Flavan-3-ol	Equivalentes de catequina – mg/ kg de uva <i>in natura</i>		
	BRS Morena - <i>in natura</i> (n=3)	BRS Morena - passas sem azeite(n=3)	BRS Morena - passas com azeite (n=3)
(+)-catequina	13,26a ± 1,19	5,21b ± 1,07	5,69b ± 0,66
(-)-epicatequina	2,39a ± 0,40	0,57b ± 0,07	0,83b ± 0,18
(-)-galocatequina	3,62a ± 0,28	0,59b ± 0,08	0,72b ± 0,40
(-)-epigalocatequina	0,86a ± 0,29	0,21b ± 0,07	0,24b ± 0,03
(-)-epicatequina-3-galato	0,56a ± 0,09	0,11b ± 0,02	0,14b ± 0,04
Soma monômeros (mg/kg de uva <i>in natura</i>, equivalentes de catequina)	20,27a ± 2,07	6,61b ± 1,00	7,53b ± 1,11
Procianidina B1	19,51a ± 2,29	6,43b ± 1,18	9,44b ± 1,39
Procianidina B2	3,46a ± 0,38	0,97b ± 0,22	1,46b ± 0,13
Procianidina B4	1,89a ± 0,29	0,60b ± 0,21	0,81b ± 0,31
Soma dímeros (mg/kg de uva <i>in natura</i>, equivalentes de catequina)	12,47a ± 1,26	4,01b ± 0,60	5,88b ± 0,83
Total (mg/kg de uva <i>in natura</i>, equivalentes de catequina)	32,74a ± 3,27	10,62b ± 1,59	13,41b ± 1,94

A soma total dos monômeros e dímeros de flavan-3-óis para a uva BRS Morena *in natura* foi de aproximadamente 32,74 mg equivalentes em

(+)-catequina por kg de uva *in natura* (mg/kg), quantidade essa inferior aos valores habituais encontrados para cultivares *V. vinífera*. Porém, tais valores podem ser justificados devido à ausência de sementes na variedade estudada, uma vez que os flavan-3-óis são compostos encontrados em maior concentração nas sementes e engaço da uva, (LAGO-VANZELA et al., 2015). Ao mesmo tempo o valor acima apresentado é superior aos valores relatados na literatura para a mesma cultivar (LAGO-VANZELA et al., 2011), fato esse que pode ser justificado devido a diferença inerente a safra das uvas utilizadas nos respectivos estudos.

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 (289-245); procianidinas B1 e B2 (577-425 e 577-407); (-)-epigallocatequina e (-)-galocatequina (305-221 e 305-219); (-)-epicatequina 3-galato (441-289); e (-)-galocatequina 3-galato (457-331 e 457-305). Além da identificação e quantificação dos flavan-3-óis, foi realizada também uma reação de despolimerização das proantocianidinas assistida com um reagente que captura as unidades liberadas (pirogallol). Nesta despolimerização foi liberada uma “unidade terminal” como flavan-3-óis monômeros e, o restante do composto foi denominado como “unidade de extensão”, grupo no qual se encontram os derivados de cada um dos flavan-3-óis monômeros liberados das proantocianidinas, a medida que ocorre sua despolimerização. Esta reação teve por objetivo avaliar as características estruturais por meio de todos aqueles flavan-3-óis que não sejam monômeros, isto é, desde dímeros, trímeros, oligômeros até polímeros. Encontram-se apresentados na **Tabela 7** a concentração total de proantocianidinas e sua caracterização estrutural.

Tabela 7. Caracterização estrutural das proantocianidinas (MV $\pm$ SD: MDP, grau médio de polimerização; % Galoilação, % de unidades 3-galato; % Prodelfinidinas, % de epigalocatequina; e % de cada um dos monômeros de flavan-3-ol sob a forma de extensão e unidades terminais) de BRS Morena *in natura*, e passas sem e com azeite.

Proantocianidina	BRS Morena - <i>in natura</i> (n=3)	BRS Morena - passas sem azeite(n=3)	BRS Morena - passas com azeite (n=3)
mDP	5,42b $\pm$ 0,24	6,86a $\pm$ 0,28	6,42a $\pm$ 0,17
% Galoilação	2,72a $\pm$ 0,16	2,38a $\pm$ 0,10	2,55a $\pm$ 0,19
% Prodelfinidinas	18,08a $\pm$ 3,39	17,77a $\pm$ 0,52	17,54a $\pm$ 1,12
% C-term	68,77b $\pm$ 1,54	73,42a $\pm$ 1,17	75,38a $\pm$ 2,43
% EC-term	10,81a $\pm$ 0,78	10,59a $\pm$ 1,33	9,28a $\pm$ 0,46
% GC-term	14,44a $\pm$ 1,05	11,72a $\pm$ 1,34	11,43a $\pm$ 1,55
% EGC-term	2,83a $\pm$ 0,35	1,78b $\pm$ 0,35	1,51b $\pm$ 0,56
% ECG-term	3,15a $\pm$ 0,49	2,49a $\pm$ 0,15	2,41a $\pm$ 0,30
% C-ext	1,84ab $\pm$ 0,05	1,75b $\pm$ 0,09	2,10a $\pm$ 0,21
% EC-ext	78,35a $\pm$ 3,97	78,06a $\pm$ 0,98	77,51a $\pm$ 1,25
% EGC-ext	17,27a $\pm$ 3,88	17,89a $\pm$ 0,78	17,86a $\pm$ 1,27
% CG-ext	2,54a $\pm$ 0,10	2,30a $\pm$ 0,11	2,52a $\pm$ 0,18
PA (mg/kg de uva <i>in natura</i>)*	555,90a $\pm$ 96,98	149,95b $\pm$ 5,10	210,62b $\pm$ 2,35
PA**	1186,90a $\pm$ 224,30	767,07a $\pm$ 162,03	785,80a $\pm$ 108,61

* Em equivalentes de (+)-catequina, calculado pela soma total das concentrações de extensão e unidades terminais. CE, (-)-epicatequina; C, (+)-catequina; EGC, (-)-epigalocatequina; ECG, (-)-epicatequina 3-galato. (a, b) indicam diferenças significativas (ANOVA; $\alpha = 0,05$) entre os produtos apresentados. **Taninos condensados determinados pelo método de precipitação com metil-celulose.

Pelos resultados apresentados, é possível inferir que com relação a concentração total de proantocianidinas, as amostras de passas sem azeite retiveram 26,97%, enquanto que as passas com azeite retiveram,

37,88%, resultados esses em acordo com os relatados por Ferreira et al. (2000) e por Tomas-Barberan e Gil (2008). Karadeniz et al. (2000) indicaram que os polifenóis mais lábeis durante o processo de desidratação foram as procianidinas e os flavan-3-óis, uma vez que eles haviam sido completamente degradados em todas as amostras de passas, bem como em uvas congeladas.

Ao analisar os resultados obtidos entre as uvas passas, não houve diferença significativa, entretanto, esta metodologia possui algumas limitações, sendo a mais importante com relação ao fato de que só é possível avaliar as características estruturais das proantocianidinas que apresentam uma ligação do tipo B (ligação interflavan, que são as que se rompem com a reação de despolimerização), uma vez que as proantocianidina do tipo A (com ligação éter) não se despolimerizam, pois a ligação éster não se rompe nestas condições, impedindo, portanto, a análise das mesmas por esta metodologia.

Para o caso da ocorrência de proantocianinas mistas, em que há presença tanto de ligação interflavan (tipo B) como ligação éter (tipo A), nas uvas, há uma despolimerização parcial, onde são rompidas apenas as ligações do tipo B. No caso dos polímeros, as proantocianidinas unem-se a uma antocianina, a qual bloqueia a reação de despolimerização, o que é uma importante limitação da metodologia quando se analisa frutas processadas na qual a formação de polímeros é normalmente elevada.

Em função do descrito, realizou-se uma segunda determinação de proantocianidinas pelo método de precipitação com metilcelulose (MONTEDORO; FANTOZZI, 1974; SARNECKIS et al., 2006). Isto porque era possível uma diminuição na concentração de proantocianidinas, assim como a formação de taninos mais complexos, os quais não se pode analisar pelo método de despolimerização com pirogallol, mas pode-se pelo método de metilcelulose. Provavelmente, devido a estes fatos, os resultados determinados por esta última metodologia foram

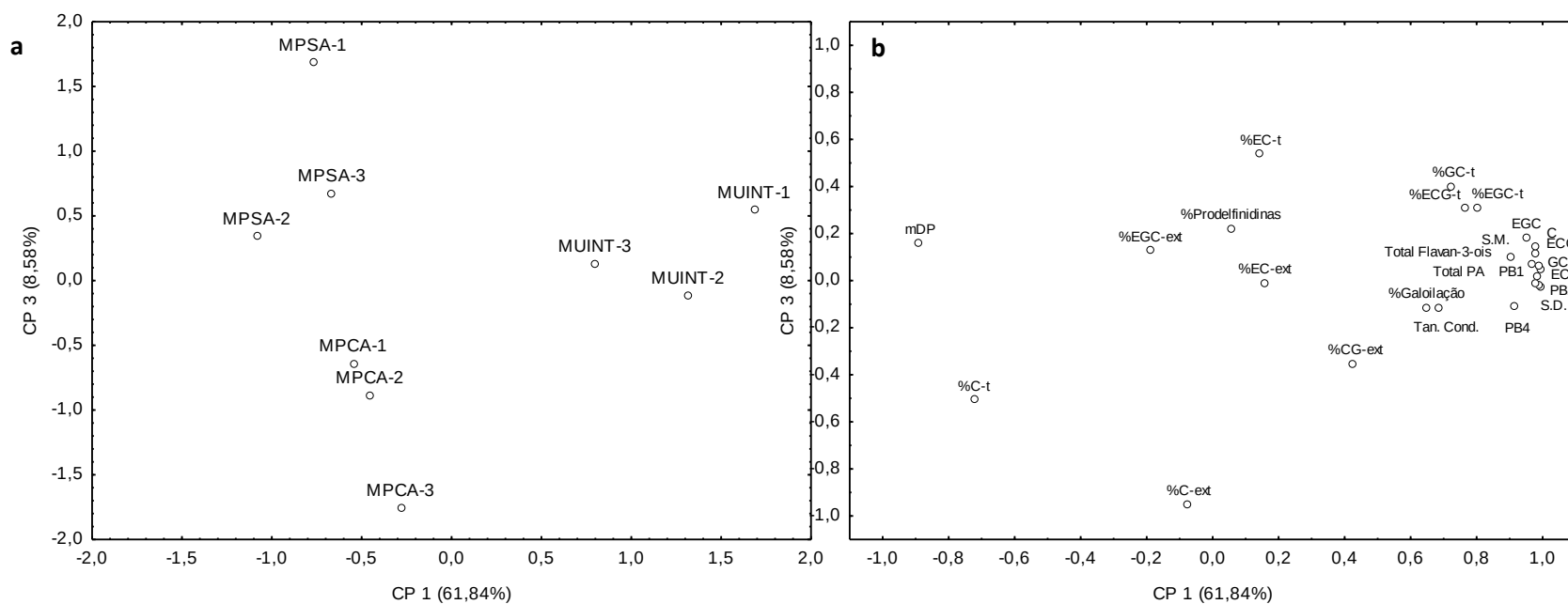
significativamente mais elevados quando comparados aos obtidos por CLAE.

Após a despolimerização das proantocianidinas, houve a formação de flavan-3-óis como unidades terminais e de extensão. Para caracterização estrutural destes compostos foi calculado a % de galoilação e de prodelfinidinas. As prodelfinidinas são proantocianidinas que em meio ácido e/ou alcoólico liberam a antocianidina delfinidina, do contrário seriam procianidinas. Deve-se ressaltar que para os cálculos descritos no item 4.5.2 de % de galoilação e de prodelfinidinas, só foram levados em conta 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 e não as que já existiam na forma livre (como monômero), antes da despolimerização da proantocianidina.

De modo geral, a análise estrutural das proantocianidinas da BRS Morena *in natura*, apresentou resultados consistentes com dados de estudos anteriores (Lago-Vanzela et al., 2011a). As unidades de extensão que formaram as proantocianidinas na variedade de BRS Morena *in natura* foram as mesmas que as quatro encontradas em cascas de uva *vinífera* (Souquet et al., 1996), e na literatura para a mesma cultivar. Neste estudo, (-)-epicatequina foi a principal unidade de extensão, com 78,35%, seguido pela (-)-epigallocatequina (17,27%), e pela (+)-catequina e (-)-epicatequina-3-galato, que foram as menores unidades de extensão encontradas na BRS Morena (cada uma contribuindo para não mais do que 5%). Com relação as passas, não há conhecimento na literatura de dados sobre as características estruturais de proantocianidinas, porém, os resultados obtidos para as passas com e sem azeite diferiram muito pouco dos apresentados pela uva *in natura*.

A análise de componentes principais dos flavan-3-óis e das proantocianidinas (**Figura 16**) foi realizada em conjunto.

Figura 16. Análise dos componentes principais **(a)** das amostras de uvas BRS Morena *in natura* (MUINT-1, 2, 3), passas sem azeite (MPSA-1, 2, 3) e passas com azeite (MPCA-1, 2, 3); e **(b)** da composição de flavan-3-óis e proantocianidinas.



Abreviação: Total P, Proantocianidinas totais; C, catequina, EC, epicatequina; ECG, galato de epicatequina; EGC, epigalatocatequina; GC, galatocatequina; CG, galato de catequina; PB1, procianidina B1; PB2, procianidina B2; PB4, procianidina B4; -t, unidade terminal; -e, unidade de extensão; T, total.

Para a análise destas classes de compostos foram utilizadas as seguintes variáveis: flavan-3-óis monômeros e dímeros (expressos em mg de cada composto por kg de fruta *in natura*), somatório expresso separadamente dos flavonóis monômeros e dímeros, bem como da concentração de flavan-3-óis totais (mg equivalentes de catequina/kg de fruta), proantociandinas (expresso em mg de catequina/kg de fruta), bem como os resultados das características estruturais das proantocianidinas, a saber, média do grau de polimerização, porcentagem de galoilação, porcentagem de prodelfinidinas, porcentagem de unidades de extensão e terminais específicas para cada tipo de flavan-3-óis (%) referentes as amostras de uva BRS Morena *in natura*, passas sem e com azeite.

O primeiro componente principal (CP1) explicou 61,84%, enquanto CP3 explicou 8,58%, totalizando 70,42% da variação. Na **Figura 16a**, referente às amostras de BRS Morena *in natura*, passas sem e com azeite, foi possível diferenciar em CP1 as amostras de BRS Morena *in natura* das amostras processadas, enquanto que no CP3 foi possível diferenciar as amostras de passas sem e com azeite.

As amostras de uva BRS Morena *in natura* foram enquadradas no lado positivo de CP1, enquanto que as amostras de passas sem azeite de BRS Morena foram enquadradas no lado negativo do CP1 e positivo de CP3 e as amostras de passas com azeite de BRS Morena foram enquadradas no lado negativo do CP1 e CP3.

Para a classe dos flavan-3-óis (monômeros e dímeros) e das proantocianidinas, pela **Figura 16b**, foi possível verificar que o lado positivo do CP1 foi carregado principalmente pela (+)-catequina (C, 0,98), (-)-epicatequina (EC, 0,98), (-)-galocatequina (GC, 0,97), (-)-epigalocatequina (EGC, 0,95) e (-)-epicatequina-3-galato (ECG, 0,90), pela soma dos flavan-3-óis monômeros (S.M., 0,98), bem como pelas procianidinas B1 (PB1, 0,99), B2 (PB2, 0,98) e B4 (PB4, 0,91), pelo total de flavan-3-óis (Total Flavan-3-óis, 0,99) e, pela soma de dímeros (S.D., 0,99). Com relação as características estruturais das proantocianidinas,

as quais fazem parte da composição dos flavan-3-óis dímeros, o lado positivo do CP1 foi carregado, principalmente, pelo total de proantocianidina (Total PA, 0,99) e pela porcentagem de unidade terminal de epigallocatequina (%EGC-t, 0,80). Já o lado negativo do CP1 foi carregado principalmente pelo grau médio de polimerização (mDP, -0,89), enquanto que o lado negativo de CP3 foi carregado, principalmente, pela porcentagem de unidade de extensão de catequina (%C-ext, -0,95).

Podemos inferir, a partir da **Figura 16**, que as amostras de passas com azeite apresentaram maior concentração, principalmente, de unidade de extensão de catequina (%C-ext), enquanto que as amostras de passas sem azeite apresentaram maior concentração, principalmente, do grau médio de polimerização (mDP) e as amostras de uva BRS Morena *in natura* apresentaram principalmente maior concentração dos flavan-3-óis monômeros catequina (C), epicatequina (EC), galocatequina (GC), epigallocatequina (EGC) e epicatequina-3-galato(ECG), do total de flavan-3-óis, da somatória de monômeros (S.M.) e dímeros (S.D.), das procianidinas B1 (PB1), B2 (PB2) e B4 (PB4), do total de proantocianidina (PA), além da unidade terminal do tipo epigallocatequina (% EGC-t).

As **Figuras 11, 13, 15 e 16** complementaram a análise estatística apresentadas nas **Tabelas 3 a 7**, uma vez que ambas estão em concordância.

6. CONCLUSÕES

O processo de secagem das uvas sem e com pré-tratamento utilizando azeite extra virgem foi responsável por alterações no perfil qualitativo e quantitativo de compostos fenólicos dessas uvas, resultado esse evidenciado pela análise de componentes principais (ACP).

As uvas passas produzidas sem nenhum pré-tratamento, devido ao extenso tempo de secagem, apresentaram menores retenções de flavan-3-óis, proantocianidinas e, principalmente, de antocianinas, quando comparado as retenções obtidas para os mesmos compostos quantificados nas uvas pré-tratadas com azeite de oliva.

A aplicação de azeite no processo de secagem das uvas BRS Morena para produção de uvas passas promoveu uma aceleração na desidratação das uvas. Em contrapartida, favoreceu o rompimento da pruína, tornando assim as bagas das uvas ao longo da secagem mais permeáveis o oxigênio externo, o que provavelmente acelerou os processos oxidativos. Deste modo, os flavonóis, os derivados do ácido hidroxicinâmico e estilbenos foram mais intensamente degradados nas uvas passas pré-tratadas.

Assim conclui-se que o processamento com a adição de AO se mostrou mais eficiente do ponto de vista industrial, uma vez que promoveu significativamente a redução do tempo total de secagem. De forma adicional, o menor tempo de tratamento térmico do processamento com adição de azeite preservou uma concentração maior de antocianinas e proantocianidinas, o que torna esse produto interessante também do ponto de vista da saúde, uma vez que essas categorias de compostos possuem importantes alegações de atividades biológicas e encontram-se em altas concentrações nas uvas passas produzidas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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., 2016. Drying characteristics and quality of grape under physical pretreatment. **Journal of Food Engineering**, v. 172, p.9-18, 2016.
- AMIOT, M.J.; TACCHINI, M.; AUBERT, S.; NICOLAS, J. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. **Journal of Food Science**, v.52, p. 958-962, 1992.
- ANUÁRIO, 2014. **ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2014**. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/editora/anuarios/show/4333.html>. Acesso em: 9 dez. 2015.
- BAKKER, J.; BRIDLE, P.; HONDA, T.; KUWANO, H.; SAITO, N.; TEREHARA, N.; TIMBERLAKE, C. F. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. **Phytochemistry**, v.7, p.1375-1382, 1997.
- BALDI, A.; ROMANI, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F.; CASETA, B. HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis vinifera* L. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.43, 2104-2109, 1995.
- BALDI, A.; ROMANI, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F.F. Composés phenoliques dans les cépages de Toscane de *Vitis vinifera* L. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v.27, p.201-215, 1993.
- BAHT, K. P. L.; KOSMEDER, J. W., II; PEZZUTO, J. M. Biological effects of resveratrol. **Antioxidants and Redox Signaling**, v.3, p.1041-1064, 2001.
- BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potencial of resveratrol: the *in vivo* evidence, **Nature Reviews**, London, v.5, n.6, p.493-506, 2006.
- BAVARESCO, L. et al. Role of the variety and some environmental factors on grape stilbenes. **Vitis-Journal of Grapevine Research**, v. 46, p. 57-61, 2007.
- BEER, D. et al. Phenolic compounds: a review of their possible role as *in vivo* antioxidants of wine. **South African Journal for Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 23, p. 48- 61, 2002.
- BELLICONTRO, A.; DE SANTIS, D.; BOTONDI, R.; VILLA, I.; MENCARELLI, F. Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and Sangiovese grapes for wine production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p.1791-1800, 2004.

- BENABDELJALIL, C.; CHEYNIER, V.; FULCRAND, H.; HAKIKI, A.; MOSADDAK, M.; MOUTOUNET, M. Mise en evidence de nouveaux pigments formés par reaction des anthocyanes avec des metabolites de levure. **Sciences des Aliments**, v.20, p.203-220, 2000.
- BENLLOCH-TINOCO, M.; CARRANZA-CONCHA, J.; CAMACHO, M.M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Chapter 22 - Production of Raisins and its Impact on Active Compounds. **Processing and Impact on Active Components in Food**, edited by Victor Preedy, Academic Press, San Diego, p.181-187, 2015.
- BERNA, A.; ROSSELLÓ, C.; MULET, A. Drying kinetics of Majorcan seedless grape variety. **Technology Today**, v.3, p.134-137, 1991.
- BINGOL, G. et al. Effect of dipping temperature and dipping time on drying rate and color change of grapes. **Drying Technology**, v. 30, p. 597-606, 2012.
- BLANCO-VEGA, D.; LÓPEZ-BELLIDO, F. J.; ALÍA-ROBLEDO, J. M.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. HPLC_DAD_ESI-MS/MS Characterization of Pyranoanthocyanins Pigments Formed in Model Wine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.59, p.9523-9531, 2011.
- BONGHI, C.; RIZZINI, F.M.; GAMBUTI, A.; MOIO, L.; CHKAIBAN, L.; TONUTTI, P. Phenol compound metabolism and gene expression in skin of wine grape (*Vitis vinifera* L.) berries subjected to partial postharvest dehydration, **Postharvest Biol. Tec.**, v.67, p.102-109, 2012.
- 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. **Proceedings of 32rd world congress of vine and wine**, Zagreb: CRO, p. 74, 2009
- BOURZEIX, M.; WEYLAND, D.; HEREDIA, N. Étude des catéchines et des procyanidols de la grappe de raisin, de vin et d’autres dérivés de la vigne. **Bulletin OIV**, p.1171–1254, 1986.
- BOZKURT, H.; GOGUS, F.; EREN, S. Nonenzymatic browning reactions in boiled grape juice and its models during storage. **Food Chemistry**, v.64, p.89-93, 1999.
- 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**, v.121, p. 740-745, 2010.
- BROUILLARD, R. **Chemical structure of anthocyanins**. New York: Academic Press, p. 1-40, 1982.
- CALLEMIEN, D.; JERKOVIC, V.; ROZENBERG, R.; COLLIN, S. Hop as an interesting source of resveratrol for brewers: optimization of the

extraction and quantitative study by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 424–429, 2005.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C.; MAIA, J. D. G.; OLIVEIRA, P. R. D. de; PROTAS, J. F. da S. BRS Morena: Nova cultivar de uva de mesa preta sem semente. **Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Comunicado Técnico**, 47, 4 p., 2003.

CARRANZA-CONCHA, J. et al. Effects of drying and pretreatment on the nutritional and functional quality of raisins. **Food and Bioprocess Processing**, v. 90, p. 243-248, 2012.

CARTER, P.; et al. Fruit and vegetables intake and incidence on type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 341, p. 4229, 2010.

CASTILLO-MUÑOZ, N. et al. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p.992-1002, 2007.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCIA-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**, v.57, p.7883–7891, 2009.

CASTILLO-MUÑOZ, N.; GOMEZ-ALONSO, S.; GARCIA-ROMERO, E.; GOMEZ, M.V.; VELDEERS, A.H.; HERMOSIN-GUTIERREZ, I. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 209-219, 2009.

CHANG, S.K.; ALASALVAR, C.; SHAHIDI, F. Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits, **Journal of Functional Foods**, v.21, p.113-132, 2016.

CHEN, Z. Y.; CHAN, P. T.; HO, K. Y.; FUNG, K. P.; WANG, J. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.79, p.157–163, 1996.

CHEYNIER, V.; RIGAUD, J. HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of *Vitis vinifera* var. Cinsault. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.37, p. 248-252, 1986.

_____; TROUSDALE, E. K.; SINGLETON, V. L.; SALGUES, M. J.; WYLDE, R. Characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.217-221, 1986.

_____; OSSE, C.; RIGAUD, J. Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solutions. **Journal of Food Science**, v.53, p.1729-1732, 1988.

_____; RIGAUD, J.; SOUQUET, J. M.; DUPRAT, F.; MOUTOUNET, M. Must browning in relation to the behavior of phenolic compounds during oxidation. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.41, p.346-349, 1990.

_____; Prieur, C., Guyot, S., Rigaud, J., & Moutounet, M. **The structures of tannins in grapes and wines and their interactions with proteins**. In T. R. Watkins (Ed.), Proceedings of ACS symposium series 661, wine: Nutritional and therapeutic benefits, p. 81–93, 1997.

CHKAIBAN, L.; BOTONDI, R.; BELLINCONTRO, A.; DE SANTIS, D.; KEFALAS, P.; MENCARELLI, F. Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygrometric conditions. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.13, p.142-149, 2007.

CORNEJO, F.E.P; NOGUEIRA, R.I.; WILBERG, V.K. **Documentos - 54-Secagem como Método de Conservação de Frutas**. EMBRAPA, 1ed., 2003.

DOWNEY, M. O.; DOKOOZLIAN, N. K.; KRSTIC, M. P. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.57, p.257–268, 2006.

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

ESMAILI, M. et al. Grape Drying: A Review. *Food Reviews International*, v. 23, p. 257-280, 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em: 17 set. 2014.

FEMENIA, A. et al. Effects of drying pre-treatments on the cell wall composition of grape tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 271-276, 1998.

FERNÁNDEZ-MARÍN, M. I. et al. Terroir and variety: Two key factors for obtaining stilbene-enriched grapes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p.191-198, 2013

FERREIRA V.; LOPEZ R.; CACHO J.F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1659-1667, 2000.

FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV–Vis spectrophotometry. **Food Chemistry**, v. 140, p. 217–224, 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**, v.41, p. 95-99, 1985.

FLANZY, C. **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos**. AMV & Mundi Prensa, first ed., Madrid, 2000, p. 708

FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A. L.; TEISSEDER, P. L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 4, p. 890-894, Apr. 1995.

FREITAS, D.G.C. et.al., **Comunicado Técnico 192- Aceitação de Uvas Passas Brasileiras e suas Características Sensoriais Segundo a Percepção do Consumidor**. Rio de Janeiro - RJ, novembro de 2013.

FRESCO, P.; BORGES, F.; DINIZ, C.; MARQUES, M.P.M New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols, **Medicinal Research Reviews**, v. 26, p. 747–766, 2006.

FULCRAND, H.; BENABDELJALIL, C.; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. A. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. **Phytochemistry**, v.47, p.1401-1407, 1998.

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

GAO, Q., et al. Effect of drying of jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.) on the contents of sugars, organic acids, α -tocopherol, β -carotene, and phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.60, p. 9642-9648, 2012.

GAO, X.; YONG, X. X.; DIVINE, G.; JANAKIRAMAN, N.; CHAPMAN, R. A.; GAUTAM, S. C. Disparate in vitro and in vivo antileukemic effects of resveratrol, a natural polyphenolics compound found in grapes. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 2076–2081, 2002.

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

GIOXARI, A. et al. Phenolic compounds: bioavailability and health effects. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 339-345, 2016.

- GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M.; SANTA MARÍA, G.; DIEZ, C. Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.3, p.54–66, 1990.
- GRNCAREVIC, M. Effect of Various Dipping Treatments on the Drying Rate of Grapes for Raisins. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.14, p.230–234, 1963.
- GUINÉ, R. P. F.; HENRRIQUES, F.; BARROCA, J. M. Mass transfer coefficients for the drying of pumpkin (*Cucurbita moschata*) and dried product quality. *Food and Bioprocess Technology*, v. 5, p. 176-183, 2009.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Natural Product Reports**, London, v. 12, p. 639-657, 1995.
- HAENEN, G. R. M. M. et al. Structure and activity in assessing antioxidant activity *in vitro* and *in vivo*. A critical appraisal illustrated with the flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 191-198, Feb. 2006
- HAYASAKA, Y.; ASENSTORFER, R. E. Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.50, p.756-761, 2002.
- HE, F. et al. Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes, **Molecules**, v. 15, p. 9057-9091, 2010.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 13, n. 10, p. 572-584, Oct. 2002.
- HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E. Chapter 8 - Flavonol Profiles for Grape and Wine Authentication. **Progress in Authentication of Food and Wine**, ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, 2011.
- HERTOG, M. et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. **The Lancet**, Minneapolis, v. 342, n. 23, p. 1007-1011, Oct. 1993.
- HORTINET, 2014. ProDuva mostra primeiros resultados. Disponível em: <<http://hortinet.info/tag/uva-de-mesa/>>. Acesso em: 14 mar. 2014.
- HUNG, L.; CHEN, J.; HUANG, S.; LEE, R.; SU, M. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 549–555, 2000.
- JACKSON, R. S. **Wine Science**: principles and applications. San Diego: Academic Press, 1994. 475 p.

JAIRAJ, K.S.; SINGH, S.P.; SRIKANT, K. A review of solar dryers developed for grape drying. **Solar Energy**, v.83, p.1698–1712, 2009.

JIMENEZ-GARCIA, S. N. et al. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: biochemistry, biotechnology, and genomics. **Food Research International**, v. 54, p.1195-1207, 2013.

KAMEI, H. et al. Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. **Cancer Investigation**, v. 13, p. 590–594, 1995.

KARADENIZ, F.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. Polyphenolic Composition of Raisins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.5343-5350, 2000.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, p.153-161, 2002.

_____; _____. Antioxidants in fruits and vegetables – the millenium’s health. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 36, p. 703-725, 2001.

KAYS, S. J. Stress in harvested products. In Postharvest Physiology in Perishable Plants Products; Kays, S. J.; Exon Press: Athens, GA, p. 335–408, 1997.

KIM, J. S.; LEE, Y. S. Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction. **Food Chemistry**, v.108, p.582–592, 2008.

LABARBE, B.; CHEYNIER, V.; BROSSAUD, F.; SOUQUET, J. M.; MOUTOUNET, M. Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of polymerization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2719–2723, 1999.

LAGO-VANZELA, E. S. **Estudos bioquímicos, físico-químicos e tecnológicos de uvas paulistas**. Tese de Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto, SP. 185 p. 2011.

____ et al. Phenolic composition of the brazilian seedless table grape varieties BRS Clara and BRS Morena. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, p. 8314-8323, 2011a.

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

____ et al. Compostos responsáveis pela cor e aromas dos vinhos. In: DA-SILVA, R.; LAGO-VANZELA, E. S.; BAFFI, M. A. **In: Uvas e Vinhos: química, bioquímica e microbiologia**. São Paulo: Editora Senac, Editora Unesp, 2015. p. 83-103.

LASTRA, C. A.; VILLEGAS, I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 35, p. 1156-1160, 2007.

LEÃO, P. C. S. **Recursos genéticos de videira (*Vitis* spp.): análise da diversidade e caracterização da coleção de germoplasma da Embrapa Semi-Árido**. Tese de Doutorado em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 126 p., 2008.

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

LEONG, S. Y., OEY, I. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v.133.4, p.1577-1587, 2012.

LIU, R. H. Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. American Society for Nutrition. **Advances in Nutrition**, v. 4, p. 384-392, 2013.

LÓPEZ-VÉLEZ, M.; MARTINEZ-MARTINEZ, F.; DEL VALLE-RIBES, C. D. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, p. 233–244, 2003.

MACHEIX, J. J.; SAPIS, J. C.; FLEURIET, A.; LEE, C. Y. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.30, p.441-486, 1991.

MAIA, G. A. et al. **Processamento de frutas tropicais: nutrição, produtos e controle de qualidade**. Fortaleza: Editora UFC, 2009. 277 p.

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

MARQUEZ, A.; DUEÑAS, M.; SERRATOSA, M.P.; MERIDA, J. Formation of Vitisins and Anthocyanin–Flavanol Adducts during Red Grape Drying. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.60, p.6866–6874, 2012a.

____; 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**, v.130, p.111–120, 2012b.

____; ____; MERIDA, J., Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. **Food chemistry**, v. 146, p.507-514, 2014.

- MASA, A.; VILANOVA, M.; POMAR, F. Varietal differences among the flavonoid profiles of white grape cultivar studied by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1164, p. 291–297, 2007.
- MATTIVI, F.; GUZZON, R.; VRHOVSEK, U.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.7692–7702, 2006.
- MAXCHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. The main phenolics of fruits, in *Fruit Phenolics*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1990, pp. 1-98.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993.
- MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2012**. Comunicado Técnico. v. 137, 2013.
- MENCARELLI, F.; BELLINCONTRO, A.; NICOLETTI, I.; CIRILLI, M.; MULEO, R.; CORRADINI, D. Chemical and biochemical changes of healthy phenolic fractions in winegrape by means of postharvest dehydration. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 58, p. 7557–7564, 2010.
- MEYER, A. S.; JEPSEN, S. M.; SORENSEN, N. S. Enzymatic release of antioxidants for human low-density lipoprotein from grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 2439-2446, 1998.
- MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B. Cap. 9A Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds, M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo (eds.), **Wine Chemistry and Biochemistry**, 2009.
- MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 45, n. 2, p. 85-118, Mar. 2005.
- MORENO, J. J.; CERPA-CALDERÓN, F.; COHEN, S. D.; FANG, Y.; QIAN, M.; KENNEDY, J.A. Effect of postharvest dehydration on the composition of pinot noir grapes (*Vitis vinifera* L.) and wine. **Food Chemistry**, v. 109, p. 755-762, 2008.
- MONTEDORO, G.; FANTOZZI, P. Dosage des tannins dans les moûts et les vins a l'aide de la methylcellulose et evaluation d'autres fractions phénoliques. **Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie**, v. 7, p. 155-161, 1974.
- MOUTOUNET, M.; RIGAUD, J.; SOUQUET, J. M.; CHEYNIER, V. Caractérisation structurale des tanins de la baie de raisin. Quelques exemples de l'incidence du cépage, du terroir et du mode de conduite de la vigne. **Bulletin OIV**, p. 433–443, 1996.

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

MURPHY, E. W.; CRINER, P. E.; GRAY, B. C. Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 23, 1975.

ORTEGA MEDER, M.D.; RIVAS GONZALO, J.C.; VICENTE, J.L.; SANTOSBUELGA, C. Differentiation of grapes according to the skin anthocyanin composition. **Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v.34, 409–426, 1994.

OYEBODE, O.; et al. Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data. **Journal of Epidemiology & Community Health**, p. 1-7, 2014.

PANGAVHANE, D. R.; SAWHNEY, R. L. Review of Research and Development Work on Solar Dryers for Grape Drying. **Energy Conversion and Management**, v.43, p.45-61, 2002.

PANCERI, C.P.; GOMES, T.M.; DE GOIS, J.S.; BORGES, D.L.; BORDIGNON-LUIZ, M.T., 2013. Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes. **Food research international**, v.54, p.1343-1350, 2013.

PEINADO, J.; LÓPEZ, N. I.; 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**, v. 114, p.1050-1055, 2009

PENSA, Centro de Conhecimento em Agronegócios. Projeto integrado de negócios sustentáveis – **PINS: cadeia produtiva de frutas secas/desidratadas**. Brasília, DF: CODEVASF, 33 p. : il. ; 30 cm, 2008.

PEREZ-VIZCAINO, F.; DUARTE, J. Flavonols and cardiovascular disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v.31, p. 478–494, 2010.

PEYNAUD, E. **Connaissance et Travail du Vin**. Litexa Editora, Lda. Dunod, Paris.1981.

PRIEUR, C.; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. **Phytochemistry**, v. 36, p. 781–784, 1994.

PRIOR, R. L., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC MCEWEN, J., & O'BRIEN, C. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of Vaccinium species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p. 2686–2693, 1998.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*).

Rev. Árvore, Viçosa, v. 26, p. 493-497, 2002. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622002000400011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 28 Jan. 2016.

RAZZAGHI-ASL, N.; GARRIDO, J.; KHAZRAEI, H.; BORGES, F.; FIRUZI, O. Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships, **Current Medicinal Chemistry**, v.20, p.4436-4450, 2013.

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

RIBÉREAU-GAYON, J. et al. **Tratado de enología**: química del vino, estabilización y tratamientos. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 2003. v. 2.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., & DUBORDIEU, D. **Handbook of enology. The chemistry of wine-Stabilization and treatments**, New York: John Wiley & Sons, v.2, ed.2, 2006.

RICARDO-DA-SILVA, J. M. et al. Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 1, p. 111-125, 1991.

____; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; CHEMINAT, A.; MOUTOUNET, M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. **Phytochemistry**, v. 30, p. 1259–1264, 1991b.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, p. 933–956, 1996.

RIVA, M.; PERI, C.; LOVINO, R. Effects of pretreatments on kinetics of grape drying. **4th International Congress on Food Engineering and Applications**, v. 1, 1986.

RITSCHER, P. et al. ‘BRS MAGNA’ nova cultivar de uva para suco com ampla adaptação climática. **Comunicado Técnico [da] EMBRAPA**, Bento Gonçalves, n. 125, p. 1-12, nov. 2012.

RODRIGUEZ-MONTEALEGRE, R.; ROMERO-PECES, R.; CHACON-VOZMEDIANO, J.L.; MARTINEZ-GASCUEÑA, J.; GARCIA-ROMERO, E. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.37, p. 248–252, 2006.

ROGGERO, J.P.; COEN, S.; LARICE, J.L. Etude comparative de la composition anthocyanique des cépages. Essai de classification. **Bull. Liaison Groupe Polyphenols**, v.13, p.380–388, 1986a.

____; ____; RAGONET, B. High performance liquid chromatography survey on changes in pigment content in ripening grapes of Syrah. An

approach to anthocyanin metabolism. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.37, p.77–83, 1986b.

ROMERO, C.; BAKKER, J. Anthocyanin and colour evolution during maturation of four port wines: effect of pyruvic acid addition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.252-260, 2000.

RUIZ, A.; BUSTAMANTE, L.; VERGARA, C.; BAER, D.V.; HERMOSÍN-GUTIERREZ, I.; OBANDO, L.; MARDONES, C. Hydroxycinnamic acids and flavonols in native edible berries of South Patagonia, **Food Chemistry**, v.167, p. 84-90, 2015.

SÁ, M. et al. Extraction yields and anti-oxidant activity of proanthocyanidins from different parts of grape pomace: effect of mechanical treatments. **Phytochemical Analysis**, Published online in Wiley Online Library, v. 25, p. 134-140, 2014.

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**, v. 12, p. 39-42, 2006.

SCHWARZ, M.; QUAST, P.; VON BAER, D.; WINTERHALTER, P. Vitisin A content in Chilean wines from *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and contribution to the color of aged red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.6261–6267, 2003.

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

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**, v.36, p.50-56, 1985.

SOUQUET, J. M.; CHEYNIER, V.; BROSSAUD, F.; MOUTOUNET, M. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. **Phytochemistry**, v.43, p.509–512, 1996.

SZAJDEK, A.; BOROWSKA, E. J. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 63, p. 147-156, 2008.

TAI, Z.; ZHANG, F.; CAI, L.; SHI, J.; CAO, Q.; DING, Z. Flavonol glycosides of *Pseudodrynaria coronans* and their antioxidant activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v.48, p. 221–224, 2012.

TELIS, V. R. N. et al. Drying rates of Rubi grapes submitted to chemical pretreatments for raisin production. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 503-509, 2006.

TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. In: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine chemistry and biochemistry**. New York: Springer, 2009. cap. 9B, p. 463-507.

TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.A. eds. **Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products**. Elsevier, 2008.

TORRES, C.; DIAZ-MAROTO, M.C.; HERMOSIN-GUTIERREZ, I.; PEREZ-COELLO, M.S. Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. **Analytica Chimica Acta**, v. 660, p. 177-182, 2010.

TSIMPLOULI, C.; DEMETZOS, C.; HADZOPOULOU-CLADARAS, M.; PANTAZIS, P.; DIMAS, K. In vitro activity of dietary flavonol congeners against human cancer cell lines. **European Journal of Nutrition**, v.51, p. 181–190, 2012.

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**, v. 2, p. 84-90, 1996.

URPI-SARDA, M. et al. Uptake of diet resveratrol into the human low-density lipoprotein. Identification and quantification of resveratrol metabolites by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 77, p. 3149–3155, 2005.

URZUA, A.; ECHEVERRIA, J.; ESPINOZA, J. Lipophilicity and antibacterial activity of flavonols: Antibacterial activity of resinous exudates of *Haplopappus litoralis*, *H. chrysantemifolius* and *H. scrobiculatus*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**, v.11, p. 369–376, 2012.

VAZQUEZ, G.; CHENLO, F.; MOREIRA, R.; CRUZ, E. Grape Drying in a Pilot Plant with a Heat Pump. **Drying Technology**, v.15, p.899–920, 1997.

VIDAL, S.; MEUDEC, E.; CHEYNIER, V.; SKOUROUMOUNIS, G.; HAYASAKA, Y. Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.7144–7151, 2004.

VIRGILI, M.; CONTESTABILE, A. Partial neuroprotection of in vivo excitotoxic brain damage by chronic administration of the red wine antioxidant agent, trans-resveratrol in rats. **Neuroscience Letter**, v.281, p.123–126, 2000.

- VIVAR-QUINTANA, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; FRANCIA-ARICHA, E.; RIVAS-GONZALO, J. C. Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. **Food Science and Technology International**, v.5, p.347-352, 1999.
- VIVAS, N.G.; NONIER, M.-F.; GUERRA, C.; VIVAS, N. Anthocyanin in grape skins during maturation of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon and Merlot Noir from different Bordeaux terroirs. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v.35, p.149–156, 2001.
- WANG, S.; et al. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. **Food Research International**, v. 44, p. 14-22, 2011.
- WILLIAMSON, G.; CARUGHI, A. Polyphenol content and health benefits of raisins. **Nutrition Research**, v.30, p.511–519. 2010.
- XIA, E; DENG, G.; GUO, Y; LI, H. Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 622–646, 2010.
- YEUNG, C. K.; GLAHN, R. P.; WU, X.; LIU, R. H.; MILLER, D. D. In vitro iron availability and antioxidant activity of raisins. **Journal of Food Science**, v.68, p. 701-705, 2003.
- ZHAO, B.; HALL III, C.A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v.108, p.511–518, 2008.