

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO – PARANÁ

PAULA VIRGINIA DE ALMEIDA PONTES

**ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS, POTENCIAL
ANTIOXIDANTE E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES EM
BAGAÇO DE UVA DA VARIEDADE CABERNET SAUVIGNON**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2014

PAULA VIRGINIA DE ALMEIDA PONTES

**ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS, POTENCIAL
ANTIOXIDANTE E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES EM
BAGAÇO DE UVA DA VARIEDADE CABERNET SAUVIGNON**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk

CAMPO MOURÃO

2014



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES EM BAGAÇO DE UVA DA
VARIEDADE CABERNET SAUVIGNON

por

PAULA VIRGINIA DE ALMEIDA PONTES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 30 de julho de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk
Orientador

Prof. Dr. Giselle Maria Maciel

Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz

* A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso

À minha mãe, Marli (*in memoriam*), meu exemplo de força, luta e humildade. A melhor pessoa que convivi. Hoje tenho comigo os ensinamentos aprendidos e uma saudade que não tem fim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por iluminar a minha vida e minhas escolhas, por sempre me proteger e me guiar.

Ao meu pai, José Marcelo, no qual em meio a muitas dificuldades que já enfrentamos juntos, sempre esteve ao mesmo lado, mesmo que distante, incentivando e apoiando. Não há o que dizer, é um guerreiro, o melhor pai do mundo e meu melhor amigo.

Ao meu irmão, Marcelo, que mesmo sem poder dizer nada, me ensina todos os dias que a vida é muito mais do que se é muitas vezes buscado. Meu maior estímulo nessa jornada.

Aos meus tios, Luciano, Rosmari, Rogério e Angélica e avós, Luciano e Lázara, pelo carinho e amor por mim, sempre me ajudando e aconselhando. Pessoas fundamentais durante a minha graduação, nunca deixando que nada me faltasse e sempre presentes na minha vida.

Ao meu orientador, Professor Dr. Charles, que acreditou no meu potencial e me proporcionou diversas oportunidades durante o curso, auxiliando no meu amadurecimento pessoal e profissional. Agradeço pela orientação neste e em outros estudos realizados, sempre paciente e disposto a sanar dúvidas. Professor conselheiro, no qual confio e tenho como exemplo para uma carreira acadêmica que desejo a mim.

Ao Marcos Vieira da Silva, mais que um colega, um amigo que sempre esteve disposto a me auxiliar, ajudar e tirar dúvidas a qualquer momento. Sempre com alguma ideia nova e prática para realização dos experimentos. Agradeço pelos conselhos no qual não se aplicam apenas para a rotina de um laboratório, mas sim para a vida.

À Ângela Kwiatkowski e Luana Caroline de Figueiredo, profissionais excelentes que estiveram sempre me amparando durante as atividades no laboratório.

À Professora Sandra Iora pelo auxílio durante este estudo e fornecimento das amostras. Obrigada pela parceria nesta pesquisa.

Aos laços de amizade que se formaram durante a graduação. Deus foi muito bom para mim e colocou muitas pessoas de bom coração para me acompanharem

durante este percurso, pessoas que me ajudaram muito e proporcionaram, além de diversos momentos felizes, lições de vida. Aqui fica o meu agradecimento aos amigos de classe e a Vila do Chaves.

Ao Departamento Acadêmico de Alimentos (DALIM) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Câmpus Campo Mourão, pela dedicação e empenho para que este curso cresça cada vez mais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil pelo apoio financeiro e interesse nesta pesquisa.

RESUMO

PONTES, P. V. A. **Estudo dos compostos fenólicos, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos presentes em bagaço de uva**. 2014. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

O processamento de vinho gera diversos resíduos, sendo o bagaço de uva o mais abundante. Estudos indicam que estes subprodutos da vinificação são ricos em ácidos graxos e compostos fenólicos, portanto esta pesquisa teve por objetivo estudar os compostos fenólicos, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos presentes em bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon. Etanol 40% (v/v) foi utilizado como solvente extrator dos compostos fenólicos, os quais foram quantificados por meio do método de Folin-Ciocalteu. Flavonoides totais foram estimados usando o método colorimétrico com cloreto de alumínio e o diferencial de pH foi utilizado para determinar as antocianinas monoméricas. O potencial antioxidante foi avaliado por meio dos métodos de Sequestro do Radical do DPPH e do ABTS e Atividade Quelante do Íon Ferroso. O extrato lipídico foi obtido por extração com solvente a frio e os ésteres metílicos por meio de catálise ácida. Cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa foram utilizadas para identificar e quantificar os compostos fenólicos totais e o perfil dos ácidos graxos, respectivamente. O bagaço apresentou uma concentração de $5101,82 \pm 119,03$ mg EAG.100 g⁻¹ para compostos fenólicos, $2983,91 \pm 51,76$ mg EC.100 g⁻¹ para flavonoides totais e $2.092,93 \pm 71,57$ mg mal-3-glu.100 g⁻¹ para antocianinas monoméricas. A amostra apresentou $CE_{50}=5048,00 \pm 0,04$ µg.mL⁻¹ no ensaio do DPPH*, $CE_{50}=764,00 \pm 0,01$ µg.mL⁻¹ no ensaio do ABTS** e $CE_{50}=72,98 \pm 0,59$ µg.mL⁻¹ no estudo da habilidade quelante do íon ferroso. Por meio de CLAE foram identificados resveratrol, ácido vanílico e ácido gálico, sendo este último em maior quantidade. A análise de CG mostrou que o extrato lipídico é rico em Ácido Linolênico, e além disso são observados a presença de mais nove ácidos graxos. O subproduto avaliado mostrou-se rico em compostos bioativos, o qual a viabilidade da extração destes deve ser estudada, pois originaria produtos naturais, os quais agradam os consumidores e ainda protege o meio ambiente.

Palavras-chaves: Bagaço de Uva, Cabernet Sauvignon, Compostos Bioativos, Ácidos Graxos, Antioxidantes.

ABSTRACT

PONTES, P. V. A. **Study of phenolic compounds, antioxidant potential and profile of fatty acids present in grape pomace**. 2014. 57 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

The wine processing generates several wastes, the pomace is the most abundant of them. Studies indicate that these products of winemaking are rich in fatty acids and phenolic compounds, so the objective of this research was to study the phenolic compounds, antioxidant potential and profile of fatty acids present in grape pomace of Cabernet Sauvignon. Ethanol 40% (v/v) was used as solvent extractor of phenolic compounds, which were measured by the Folin-Ciocalteu reagent. Flavonoids were estimated using the colorimetric method with aluminum chloride and the pH differential was used to determine the monomeric anthocyanins. The antioxidant potential was assessed by the methods of Sequestration Radical DPPH and ABTS and Ferrous Ion Chelating activity. The lipid extract was obtained by cold solvent extraction and the methyl esters by acid catalysis. High Performance Liquid Chromatography and Gas Chromatography were used to identify and quantify the phenolic compounds and the profile of fatty acids, respectively. The pomace showed a concentration of 5101.82 ± 119.03 mg GAE.100 g⁻¹ for phenolic compounds, 2983.91 ± 51.76 mg CE.100 g⁻¹ for total flavonoids and 2092.93 ± 71.57 mg mal-3-glu.100 g⁻¹ for monomeric anthocyanins. The sample showed EC₅₀= 5048.00 ± 0.04 µg.mL⁻¹ in the DPPH[•] assay, EC₅₀= $764.00 \pm 0,01$ µg.mL⁻¹ in the ABTS^{•+} assay and EC₅₀= 72.98 ± 0.59 µg.mL⁻¹ in the study of the chelating ability of ferrous ion. Using the HPLC, resveratrol, vanillic acid and gallic acid were identified. The gallic acid had the greater quantity. The GC analysis showed that the lipid extract is rich in linolenic acid, and, moreover, was observed the presence of nine fatty acids. The analyzed by-product was rich in bioactive compounds, so the feasibility of extracting should be studied, because would originate natural products, which please to consumers and also protects the environment.

Keywords: Grape Pomace, Cabernet Sauvignon, Bioactive Compounds, Fatty Acids, Antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Composição fenólica geral de uma uva vermelha em corte transversal ... | 16 |
| Figura 2 - Formas de estabilização do anel fenólico de uma molécula antioxidante por ressonância interna..... | 18 |
| Figura 3 - Estrutura básica dos ácidos graxos | 22 |
| Figura 4 - Esquematização das análises realizadas em amostra de bagaço de uva moído | 24 |
| Figura 5 - Composição das fases móveis durante a corrida no cromatógrafo líquido de alta eficiência..... | 31 |
| Figura 6 – Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação dos compostos fenólicos totais..... | 34 |
| Figura 7 - Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação dos compostos fenólicos totais..... | 35 |
| Figura 8 - Cromatograma de ácidos graxos identificados e quantificados no extrato lipídico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon | 42 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o número de átomos de carbono constituintes em conjunto com a estrutura do esqueleto de base fenólica..... | 18 |
| Tabela 2 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de potencial antioxidante no método do DPPH [•] | 28 |
| Tabela 3 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de potencial antioxidante no método do ABTS ^{+•} | 29 |
| Tabela 4 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de habilidade quelante do íon ferroso | 30 |
| Tabela 5 - Conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e antocianinas monoméricas quantificados em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon..... | 36 |
| Tabela 6 - Atividade antioxidante por meio dos métodos <i>in vitro</i> : atividade sequestrante do DPPH [•] e do ABTS ^{+•} e habilidade quelante do íon ferroso, avaliados em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon | 38 |
| Tabela 7 - Compostos fenólicos identificados e quantificados por meio de CLAE em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon | 40 |
| Tabela 8 - Composição de ácidos graxos em miligrama por grama de lipídios totais em bagaço de uva em pó da variedade Cabernet Sauvignon..... | 42 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 13 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 3.1 <i>Vitis vinifera</i> L. | 14 |
| 3.1.1 Cabernet Sauvignon..... | 15 |
| 3.2 BAGAÇO DE UVA..... | 15 |
| 3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS | 17 |
| 3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE | 19 |
| 3.5 ÁCIDOS GRAXOS | 21 |
| 4 METODOLOGIA | 24 |
| 4.1. AMOSTRA..... | 24 |
| 4.2 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS | 25 |
| 4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS | 25 |
| 4.4 QUANTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS..... | 26 |
| 4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS..... | 26 |
| 4.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE | 27 |
| 4.6.1 Atividade Sequestrante do Radical do DPPH..... | 27 |
| 4.6.2 Atividade Sequestrante do Radical do ABTS | 28 |
| 4.6.3 Habilidade Quelante do Íon Ferroso..... | 29 |
| 4.7 ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA. | 30 |
| 4.8 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS | 31 |
| 4.9 ESTERIFICAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS..... | 32 |
| 4.10 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA..... | 33 |
| 4.11 TRATAMENTO DOS DADOS | 33 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 34 |
| 5.1 CONTROLE ANALÍTICO..... | 34 |
| 5.1.1 Curva padrão de ácido gálico..... | 34 |
| 5.1.2 Curva padrão de catequina | 35 |
| 5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS | 35 |
| 5.3 POTENCIAL ANTIOXIDANTE..... | 38 |
| 5.4 ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA. | 40 |
| 5.5 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA..... | 41 |
| 6 CONCLUSÕES | 44 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 45 |

1 INTRODUÇÃO

Devido à busca da população por alimentos naturais juntamente com a preocupação da indústria em atender esta demanda, diversos estudos têm sido realizados de maneira a encontrar novas alternativas para obtenção de produtos não industrializados, de maneira a proteger a saúde do consumidor e ao meio ambiente e ainda de forma econômica (MELO, 2010).

A produção agroindustrial de uva representa atualmente significativa importância econômica devido aos empregos gerados nos setores de insumos para o cultivo, produção, processamento e distribuição dessa matéria prima (LANGBECKER et al., 2012). No Brasil, segundo dados da União Brasileira de Vitivinicultura (UVIBRA), em 2012 foram produzidas 1.455.809 toneladas de uva, no qual destas, cerca de 57%, ou seja 830.915 toneladas, foram processadas, dando origem aos sucos e vinhos e 43% foram consumidas *in natura*.

O bagaço de uva, composto por casca, semente, talo e engaço, é um dos mais abundantes subprodutos do processo de produção de vinho, o que ocasiona problemas de armazenamento, transformação e eliminação, causando prejuízo e também afetando ao meio ambiente (BARCIA et al., 2014). Porém, pesquisas indicam que este subproduto apresenta altos teores de ácidos graxos e minerais (ARVANITOYANNIS et al., 2006), fibras dietéticas (LLOBERA, CAÑELLAS, 2007; DENG, PENNER, ZHAO, 2011), vitaminas (CAO, ITO, 2003) e ainda, estudos (ROCKENBACH et al., 2011a; ROCKENBACH et al., 2011b; SAGDIC et al., 2011; YI et al., 2009) observaram que o bagaço de uva possui alto teor de compostos fenólicos, e conseqüente potencial antioxidante, mostrando que os níveis de conteúdo dos compostos bioativos são tais que a extração dos fenólicos destes resíduos e a aplicação direta em produtos alimentícios pode ser economicamente viável, o que pode levar a valorização rentável deste importante subproduto da indústria do vinho.

De acordo com YI et al. (2009), algumas variedades de bagaço de uva são aplicadas em baixas concentrações em alimentos, sendo muito favorecida na fabricação de pães e massa. Além disso, estudo indica o potencial deste resíduo em evitar a peroxidação lipídica em hambúrguer feito com carne de peito de frango, que

continha em sua dieta bagaço de uva concentrado, como pesquisado por Sáyago-Ayerdia et al. (2009).

Portanto, esta pesquisa ao avaliar o teor de compostos fenólicos, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos presente em bagaço de uva, integrará maior número de informações ao assunto abordado, e poderá incentivar a utilização econômica e eficiente deste resíduo industrial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar os compostos fenólicos, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos presentes em bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o teor de compostos fenólicos (compostos fenólicos totais, flavonoides e antocianinas) em extratos etanólicos de bagaço de uva.
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos etanólicos de bagaço de uva por meio do sequestro dos radicais do 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH^{*}) e do 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS^{**}), e habilidade quelante do íon ferroso.
- Identificar, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD), os compostos fenólicos presentes nos extratos etanólicos da amostra.
- Identificar e quantificar o perfil de ácidos graxos presentes no extrato lipídico do bagaço de uva através de cromatografia gasosa (CG-FID).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Vitis vinifera* L.

Segundo Pacheco (2000), as videiras podem ser divididas em três grupos importantes:

- i) *Vitis vinifera*: Esta videira tem origem na bacia do Mediterrâneo e é muito cultivada nos países da Europa, sendo assim também conhecida como europeias. As uvas produzidas por esta videira possuem casca fina e alta qualidade para a produção de vinhos. No Brasil, esta não é tão cultivada em comparação a outros países como a França, Argentina e Chile.
- ii) Americanas: estas videiras têm origem na América do Norte e Central. Produzem uvas resistentes, porém com qualidade inferior. Como exemplo, têm-se as variedades Isabel e Concord que originam excelentes sucos.
- iii) Híbridas: devido ao combate contra a *Phylloxera* em regiões não favoráveis a produção de vinhos finos, obteve-se as videiras híbridas que são obtidas pelo cruzamento, por meio de enxertia, das europeias com as americanas.

No Brasil, os vinhos finos são produzidos a partir de uvas da espécie *V. vinifera* L. e os vinhos comuns para mesa a partir de videiras da espécie *V. labrusca* L. (americanas) (GARRIDO, SÔNEGO, GOMES, 2004).

O nome científico *Vitis vinifera* L. é uma espécie de videira, sendo o gênero *Vitis* o principal representante da família *Vitaceae* devido ao expressivo consumo dos frutos e emprego como matéria prima para a fabricação de vinhos, sucos, geleias, assim como para a elaboração de uvas passas (SCHLEIER, 2004). O gênero *Vitis* possui 36 espécies, sendo a mais importante para a produção de vinho a espécie *Vitis vinifera* L., que possui origem na Europa e na Ásia ocidental e atualmente esta presente em todo o planeta (AMARANTE, 2005).

Esta espécie compreende uvas muito utilizadas como matéria prima para a fabricação de vinhos e derivados, o que influencia diretamente na economia mundial. A Europa cultivou *Vitis vinifera* por vários anos, o que originou diversas variedades de uva, como a Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Cabernet Franc,

Malbec, Chardonnay, Riesling, Moscatel Franc, Tannat, Merlot, Syrah, entre outras, devido à seleção artificial (YANG, MARTINSON, LIU, 2009).

3.1.1 Cabernet Sauvignon

A Cabernet Sauvignon além de ser a quarta variedade de uva escura mais plantada no mundo é também a tinta mais nobre. Estudos recentes de DNA indicam que esta variedade é descendente da Cabernet Franc e da Sauvignon Blanc (AMARANTE, 2005).

Cabernet Sauvignon é originada na região de Bordeaux, França, sendo hoje difundida em muitos países vitícolas (CAMARGO, 2003). Chegou ao Brasil em 1921, mas somente em 1980 passou a ser muito cultivada na Serra Gaúcha e na Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul (RIZZON, MIELE, 2002). Atualmente é a vinífera tinta mais importante do Estado do Rio Grande do Sul. Em vinhedos bem dirigidos, obtêm-se uvas adequadas para a produção de vinhos típicos, no qual podem ter a qualidade evoluída com o envelhecimento durante o tempo necessário. O vinho desta vinífera é mundialmente conhecido pela sua característica varietal, no qual contém intensa coloração e riqueza em taninos. (CAMARGO, 2003).

De acordo com Amarante (2005), esta uva possui a capacidade de se adaptar facilmente fora do seu *habitat* original. A brotação e maturação deste cultivar são tardias, vigorosa, nos quais apresenta ramos novos de porte ereto, oferece média produção e alta qualidade para a produção de vinhos (HIDALGO, 1990).

3.2 BAGAÇO DE UVA

O processo no qual ocorre à transformação de uva em vinho, englobando colheita ao engarrafamento é denominado de vinificação, envolvendo diversos cuidados e técnicas que foram se aperfeiçoando ao longo do tempo (AMARANTE, 2005), durante este processamento são gerados diversos subprodutos, como o bagaço, o engaço e a borra (OLIVEIRA, 2010). O bagaço de uva é obtido pela

prensagem das massas v\u00ednicas, ou seja, a prensagem das partes s\u00f3lidas das uvas e pelo mosto ou pelo conjunto mosto/vinho que embebe estas partes s\u00f3lidas. Este res\u00edduo da vinifica\u00e7\u00e3o representa um importante subproduto da ind\u00fastria vin\u00edcola devido a riqueza alco\u00f3lica e pela representa\u00e7\u00e3o econ\u00f4mica que alguns dos seus componentes f\u00edsicos apresentam (SILVA, 2003).

O baga\u00e7o de uva \u00e9 composto por semente, casca e enga\u00e7o (CAMPOS, 2005). Compostos antioxidantes, naturalmente presentes na uva (Figura 1) permanecem no baga\u00e7o, ap\u00f3s a vinifica\u00e7\u00e3o, em diferentes concentra\u00e7\u00f5es, dependendo do processo de fabrica\u00e7\u00e3o e da variedade de uva (OLIVEIRA, 2010).

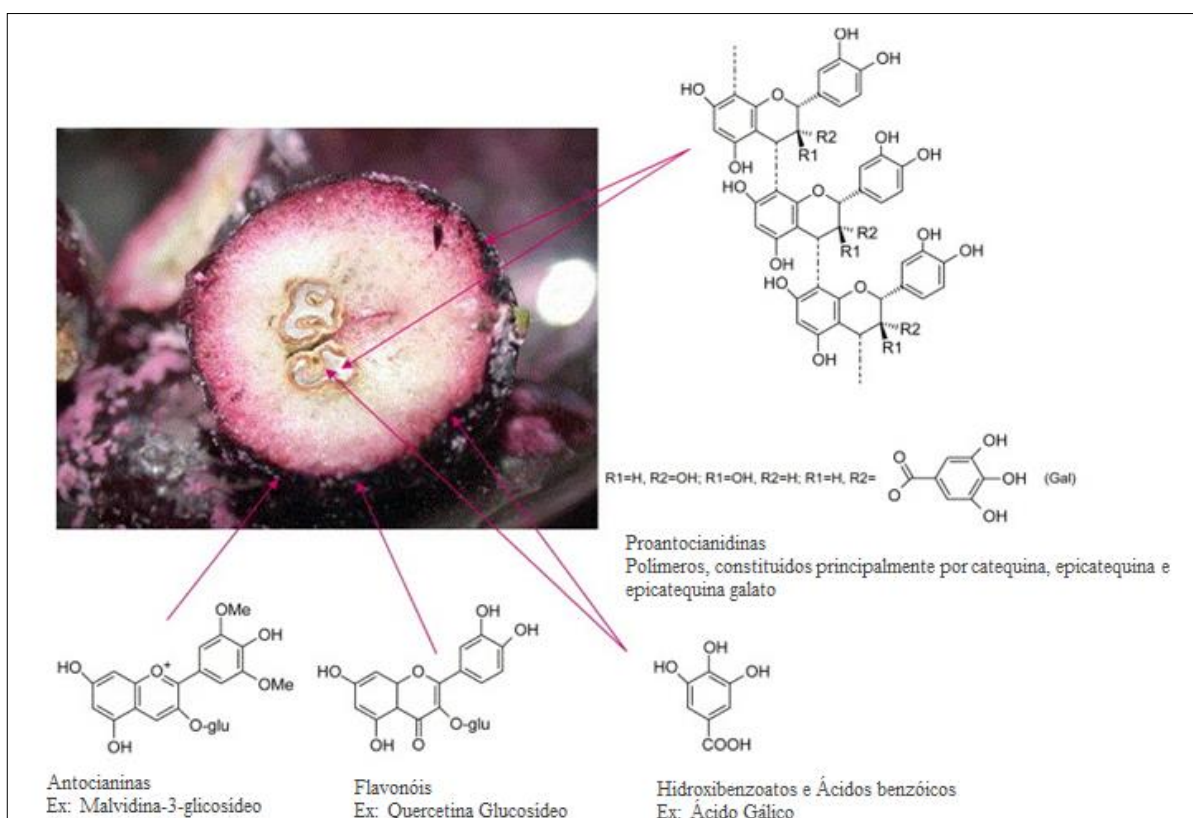


Figura 1 - Composi\u00e7\u00e3o fen\u00f3lica geral de uma uva vermelha em corte transversal
Fonte: Pinelo, Arnous e Meyer, 2006.

De acordo com Campos (2005), a partir de dados fornecidos pela ind\u00fastria, para a produ\u00e7\u00e3o de 100 litros de vinho tinto, obt\u00eam-se 25 Kg de res\u00edduos, no qual destes, 17 Kg s\u00e3o de baga\u00e7o. J\u00e1 na elabora\u00e7\u00e3o do vinho branco, s\u00e3o gerados 31,7 Kg de res\u00edduos sendo 20 Kg de baga\u00e7o de uva. O res\u00edduo de uva \u00e9 frequentemente utilizado como condicionador de solo, no entanto, este res\u00edduo tamb\u00e9m \u00e9

considerado uma fonte de vários compostos valiosos. Pode ser usado para a recuperação de ácidos orgânicos, tais como tartaratos, malatos e ácido cítrico (SCHIEBER, STINTZING, CARLE, 2001).

Dos subprodutos obtidos durante a produção de vinho, 13% dos produtos gerados são descartados, no qual poderiam ser mais bem aproveitados (TORRES et al., 2002), principalmente devido a grande concentração de compostos bioativos presente nesse material, no qual poderiam ser extraídos e aplicados em indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos (SELANI, 2010).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são um grupo grande e diverso de moléculas, sendo os mais abundantes em plantas, que inclui diferentes famílias de metabólitos secundários aromáticos (RISPAIL, MORRIS, WEBB, 2005), pois são substâncias naturais de defesa do vegetal (FIGUEIREDO et al., 2008). Em frutas, vegetais e até mesmo bebidas, estes compostos influenciam nas propriedades sensoriais, como sabor e cor, contribuindo, por exemplo, em amargura ou adstringência (LEE, 2000). A composição fenólica das frutas é determinada por fatores genéticos e ambientais, mas podem ser modificados por meio de reações de oxidação durante o processamento e armazenamento (ROBARDSA et al., 1999).

Estes compostos possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxilo e sua estrutura pode ser simples, com apenas uma molécula fenólica ou complexa, com alto peso molecular (BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006). Devido à presença de hidroxilas em sua molécula, estas são capazes de eliminar os radicais livres pela formação de radicais fenoxil (SALVADOR, HENRIQUES, 2004), atuando como antioxidante, no qual os produtos intermediários formados são estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estes compostos, ou seja, estes retêm o elétron desemparelhado sem causar danos as estruturas (OETTERER, REGITANO-D'ARCE, SPOTO, 2006; SOARES, 2002; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006), como observado na Figura 2.

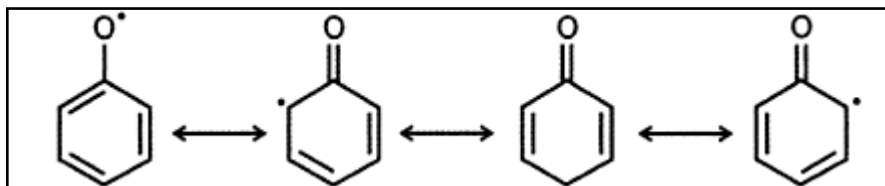


Figura 2 - Formas de estabilização do anel fenólico de uma molécula antioxidante por ressonância interna
 Fonte: Oetterer, Regitano-d'Arce, Spoto, 2006.

Os compostos fenólicos presentes nos alimentos possuem grande diversidade em sua estrutura e são divididos em várias classes de diferentes compostos (LEE, 2000). Como forma de classificação dos compostos fenólicos, tem-se em relação ao número de átomos de carbono que a molécula possui, como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o número de átomos de carbono constituintes em conjunto com a estrutura do esqueleto de base fenólica

| Estrutura | Classe |
|--|---|
| C ₆ | Fenólicos simples |
| C ₆ -C ₁ | Ácidos fenólicos e compostos relacionados |
| C ₆ -C ₂ | Ácidos cinâmico, aldeídos cinâmilo e álcoois cinâmilo |
| C ₆ -C ₃ | Cumarinas, isocumarinas e cromonas |
| C ₆ -C ₃ | Chalconas, aurones, dihidrocalcolonas |
| C ₁₅ | Flavanas |
| C ₁₅ | Flavonas |
| C ₁₅ | Flavanonas |
| C ₁₅ | Flavanonols |
| C ₁₅ | Antocianidinas |
| C ₁₅ | Antocianinas |
| C ₃₀ | Biflavonils |
| C ₆ -C ₁ -C ₆ , -C ₆ -C ₂ -C ₆ | Benzofenonas, xantonas, estilbenos |
| C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄ | Quinonas |
| C ₁₈ | Betacianinas |
| Lignanais, Neolignanais | Dímeros ou oligómeros |
| Ligninas | Polímeros |
| Taninos | Oligómeros ou polímeros |
| Flobafenos | Polímeros |

Fonte: Harborne e Simmonds (1964) *apud* Vermerris e Nicholson (2008).

Estas moléculas também podem ser divididas em dois grupos, os de compostos solúveis em água (ácidos fenólicos, flavonoides e quinonas) e compostos insolúveis em água (taninos condensados e ligninas) (RISPAIL, MORRIS, WEBB, 2005). De acordo com Cabrita, Ricardo-da-Silva e Laureano (2003), é ainda possível classificar os compostos fenólicos das uvas e vinhos em flavonoides, estando presente neste grupo flavanas, flavonóis e as antocianinas, sendo estas apenas em uvas tintas e não flavonóides, no qual pertencem ácidos benzoicos e ésteres tartáricos.

Estes compostos são considerados eliminadores de radicais livres, atuando na prevenção da oxidação (ANGELO, JORGE, 2007), ou seja, são antioxidantes, pois doam elétron para o radical livre e o convertem em uma molécula inócua (HAMINIUK et al., 2012), e por isso, estes compostos bioativos presentes em frutas têm recebido um interesse crescente nas últimas décadas devido aos seus benefícios potenciais à saúde em geral, e principalmente devido a sua atividade anticancerígena. A biodiversidade de compostos fenólicos em frutas possibilita de diversas formas a sua utilização para fins benéficos a saúde (VUONG et al., 2014).

Diversos estudos (AABY, GRIMMER, HOLTUNG, 2013; AMAROWICZ, PEGG, 2013; FERNÁNDEZ-ARROYO et al., 2012; ROSS, McDOUGALL, STEWART, 2007), observaram a relação entre a redução na atividade cancerígena e a presença de compostos fenólicos. Além disso, pesquisas indicam que estes compostos também são benéficos contra doenças cardíacas (HERTOG et al., 1993), peroxidação do LDL (lipoproteína de baixa densidade) (WAN et al., 2001) e até mesmo ação anti-inflamatória (SCHEWE, KÜHN, SIES, 2002).

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os radicais livres são instáveis, pois apresentam elétrons desemparelhados, e acabam interferindo em reações normais dos organismos, por serem muito reativos. São formados por fatores endógenos devido à transferência de elétrons durante o metabolismo celular via ação catalítica e a fatores exógenos, quando o organismo é exposto a radiações gama e violeta, medicamentos, cigarro, entre outros (SILVA, RIBEIRO, CHAVES, 2009).

As lesões celulares ocasionadas pelos radicais livres devido ao desequilíbrio entre os compostos oxidantes e antioxidantes são denominados de estresse oxidativo (SIES, 1993). Este estágio resulta em danos de biopolímeros incluindo ácidos nucleicos, proteínas, ácidos graxos poli-insaturados e hidratos de carbono (BADARINATH et al., 2010).

A capacidade que um composto possui em doar elétrons ou hidrogênio, em deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado, em reagir com outro antioxidante ou com um oxigênio molecular é definida como potencial antioxidante, sendo assim, estes apresentam ação anticancerígena quando são causados devido à ação de radicais livres (MORAES, COLLA, 2006), ou seja, um antioxidante é uma substância química que impede a oxidação de outros produtos químicos (AMES, SHIGENEGA, HAGEN, 1993; SHENOY, SHIRWAIKAR, 2002).

Os antioxidantes protegem os componentes celulares neutralizando os efeitos nocivos dos radicais livres, que são subprodutos naturais do metabolismo celular. Estes compostos podem ser classificados em dois grupos. Os antioxidantes que doam hidrogênio a um radical lipídico livre o tornando estável, ou seja, possuem a habilidade de impedir a cadeia de radicais, são denominados primários. Os antioxidantes secundários são capazes de reduzir o processo de iniciação, utilizando agentes quelantes de metais como, por exemplo, o ácido etilenodiaminotetracético e o ácido cítrico (GORDON, 1990).

Segundo Pietta, Simonetti e Mauri (1998) é necessário a ingestão de antioxidantes exógenos para diminuição da deficiência parcial dos antioxidantes endógenos, os quais são obtidos por meio de dietas, por isso, o consumo de alimentos ricos em compostos de potencial antioxidante, assim como a avaliação por demais métodos, como químicos, biológicos ou eletroquímicos tem sido estudado para análise da atividade antioxidante desses compostos em pesquisa (BRENNA, PAGLIARINI, 2001).

Diversos métodos *in vitro* são realizados para avaliação da capacidade de eliminação de radicais livres, no qual diferentes compostos artificiais têm sido usados, tais como: 2,2'-azinobis-ácido-3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico (ABTS), 1,1'-difênil-2-picrilhidrazil (DPPH) e N,N-dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD), porém por serem radicais artificiais eles não se reproduzem em situação *in vivo*, o que é uma desvantagem.

No entanto, esses compostos artificiais são úteis para classificar a atividade antioxidante de substâncias e de alimentos que os contêm, ou seja, estes podem servir para avaliar se um processo de elaboração de um determinado alimento, por exemplo, influencia sobre a atividade antioxidante do produto e, além disso, podem ser um indicador do potencial antioxidante antes do consumo dos alimentos avaliados (VILLAÑO et al., 2007). Uma das maneiras mais utilizadas para expressar o potencial antioxidante é em relação à concentração efetiva necessária para reduzir em 50% o radical (CE_{50}), além da forma tradicional, em porcentagem (%) (SÁNCHEZ-MORENO, LARRAURI, SAURA-CALIXTO, 1998).

Como um método relevante para a avaliação do potencial antioxidante, tem-se o método de atividade antioxidante celular (AAC). Fatores importantes para a análise do potencial antioxidante, no qual não são considerados em demais métodos, é avaliado nessa metodologia, como a absorção, o metabolismo e a localização de compostos antioxidantes no interior das células (WOLFE, LIU, 2007; HAMINIUK et al., 2012). Esta metodologia foi desenvolvida para medir a inibição da oxidação induzida por radicais peróxido de diclorofluoresceína por antioxidantes em cultura de células (RONG et al., 2012).

3.5 ÁCIDOS GRAXOS

Gorduras ou lipídios são formados por diversos compostos químicos, como monoglicerídeos, diglicerídeos, triglicerídeos, fosfatídeos, esteróis e ácidos graxos, sendo que este último, os ácidos graxos, constituem o principal componente dos fosfolipídios, monoglicerídeos, diglicerídeo e triglicerídeos. Estes compostos são constituídos por elementos, tais como carbono, hidrogênio e oxigênio, no qual estão dispostas como um esqueleto de carbono de cadeia linear de comprimento variável, com um grupo carboxila em uma extremidade ($CHOW$, 2007). Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, geralmente monocarboxílicos, podendo ser representado pela forma RCO_2H , no qual o grupo carboxila constitui a região polar e a cadeia R, a região apolar da molécula. Na maioria das vezes, o grupamento R é uma cadeia carbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono, contendo ou não saturações (CURI et al., 2002).

Os ácidos graxos podem ser saturados (sem ligação dupla), monoinsaturados (uma ligação dupla) ou poli-insaturados (duas ou mais ligações duplas), e são essenciais para as atividades energéticas, metabólicas e estruturais (CHOW, 2007), como ilustrado na Figura 3.

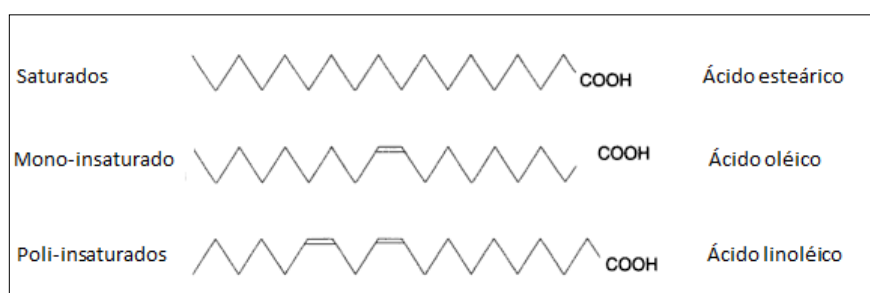


Figura 3 - Estrutura básica dos ácidos graxos
Fonte: Nettleton, 1994.

Um ácido graxo pode ser identificado por um nome comum, no qual normalmente é derivado da origem do ácido, como por exemplo ácido palmítico (do óleo da palma o dendê), ácido oléico (do óleo de oliva, *Olea europea*). O nome também pode ser obtido de acordo com regras de nomenclatura (CURI et al., 2002). Em relação às regras, a nomenclatura dos ácidos graxos pode ser realizada de acordo com a base do número de átomos de carbono e o número e posição de ligações insaturadas em relação aos grupos carboxilas, no qual os grupos substituídos e as suas posições são identificados. Atividade óptica e configuração geométrica em duplas ligações também são designadas (CHOW, 2007).

De acordo com Baum et al. (2012), os ácidos graxos não são importantes apenas por serem considerados uma efetiva fonte de energia, mas também pelo interesse gerado devido ao seu envolvimento na saúde humana. Nos últimos anos, as recomendações dietéticas têm sido feitas para diminuir a ingestão de ácidos saturados e *trans*, devido aos efeitos cardiovasculares negativos, enquanto que os ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados são recomendados pelos seus benefícios cardioprotetores.

Alguns ácidos graxos, como os de cadeia curta, média e longa, saturados e monoinsaturados, podem ser sintetizados pelo organismo, porém, alguns, como o ácido linoléico (ômega 6 ou n-6) e linolênico (ômega 3 ou n-3), no qual são ácidos

graxos poli-insaturados, constituem o grupo de ácidos graxos essenciais ao organismo (INNIS, 2004), pois os mamíferos não possuem a enzima delta9-dessaturase para realizar a síntese destes ácidos graxos. Estes ácidos graxos essenciais são relevantes para funções celulares normais, e ainda auxiliam na síntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa como os ácidos araquidônicos (AA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (MOREIRA, CURI, MANCINI FILHO, 2002).

Os óleos das sementes oleaginosas, particularmente o óleo de linhaça (CALDER, 1998), animais marinhos, como peixes (LEAF, WEBER, 1988) e os azeites vegetais são as principais fontes de ácido linolênico. O teor de ácidos graxos pode variar de acordo com o local e época de captura do peixe, espécie do animal e processo industrial pelo qual este pode ter passado (CASTRO-GONZÁLES, 2002). O ácido linoléico pode ser encontrado em óleos vegetais como os de soja, cártamo, milho e canola (SANTOS et al., 2013).

Segundo Cao e Ito (2003), uma fonte rica em ácidos graxos essenciais é o bagaço de uva, isto se deve a grande quantidade de sementes, rica nesses compostos, que de acordo com pesquisas, atuam contra a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDLs), previnem a trombose, reduzem o colesterol, a dilatação dos vasos, entre outros benefícios.

4 METODOLOGIA

4.1. AMOSTRA

O bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon foi obtido em uma vinícola localizada da cidade de Toledo, PR. Primeiramente, realizou-se a secagem da amostra a 50 °C em uma estufa de circulação de ar por 12 horas. Em seguida, foi moída em moinho de facas, obtendo um pó, o qual foi embalado a vácuo, ao abrigo da luz e armazenado em dessecador. O pó seco foi utilizado em diversas análises, como observado na Figura 4.

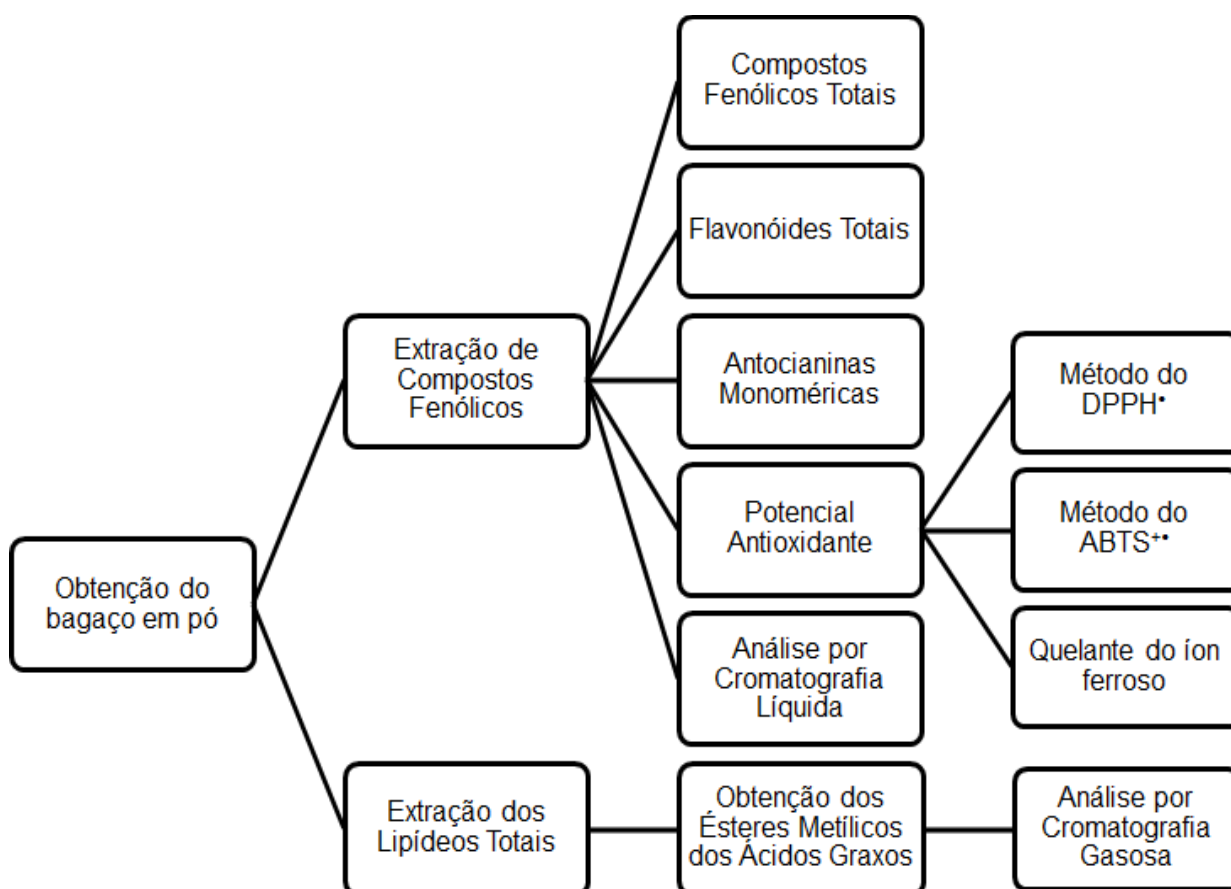


Figura 4 - Esquemática das análises realizadas em amostra de bagaço de uva moído

4.2 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Para a extração de compostos fenólicos, utilizou-se a metodologia de Haminiuk et al. (2011) com algumas modificações. Etanol 40% (v/v) foi usado como solvente extrator. A extração ocorreu em tubos do tipo falcon, no qual colocou-se 2 g de amostra seca e moída e 40 mL do solvente. Durante 24 horas, o falcon foi agitado em um homogeneizador de amostra, sob abrigo da luz. Após esta etapa, o material foi colocado em uma centrífuga durante 15 minutos, a uma temperatura de 20 °C a 6000 rpm. O sobrenadante foi utilizado nas análises posteriores.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o método Folin-Ciocalteu (SINGLETON, ROSSI, 1965), mas com a intenção de economizar amostra e reagentes, utilizou-se uma forma reduzida, totalizando 3 mL de solução.

Em balões volumétricos devidamente embalados para abrigo da luz, colocou-se 30 µL da amostra e 1500 µL de água destilada, e ao pipetar 150 µL de Folin esperou-se 3 minutos. Em seguida adicionou-se 450 µL de carbonato de sódio 15% (Na₂CO₃) e 870 µL de água destilada. Para o branco, utilizou-se água destilada. As soluções foram incubadas no escuro, por 2h para completa reação do reagente. A absorbância das amostras foi determinada por espectrofotômetro a um comprimento de onda de 765 nm. A análise foi realizada em triplicata e para o branco utilizou-se etanol 40% (v/v).

A diluição da amostra em *ependorf*, na razão de 1:10 (100 µL de amostra para 900 µL de destilada), foi definida de acordo com a curva padrão de ácido gálico, sendo esta elaborada por meio das seguintes concentrações: 45,26; 90,52; 181,04; 271,56; 362,08; 452,60 mg.L⁻¹. Os resultados foram expressos como mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra em base seca (mg EAG.100 g⁻¹).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS

Os flavonoides foram estimados por meio do método colorimétrico com cloreto de alumínio de acordo com a metodologia de Chang et al. (2002), no qual o extrato etanólico foi diluído em *eppendorf*, na razão de 1:20 (50 μL de amostra para 950 μL de água destilada) devido as concentrações de catequina (10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg.L^{-1}) utilizadas na construção da curva padrão..

Na análise, foram usados 250 μL do extrato, 1250 μL de água de água destilada e 75 μL de nitrito de sódio (NaNO_2) a 5%, após 6 minutos, acrescentou-se 150 μL de cloreto de alumínio hexaidratado ($\text{AlCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$) a 10%. Esperou-se 5 minutos e foi adicionado 500 μL de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 M e 275 μL de água destilada, totalizando 2500 μL de solução em balões volumétricos de 10 mL. A leitura da absorbância das amostras foi realizada a um comprimento de onda de 510 nm, por meio de espectrofotômetro.

O estudo foi realizado em triplicata e para o branco usou-se etanol 40% (v/v). Os resultados foram expressos como mg de equivalente de catequina por 100 g de amostra em base seca (mg EC.100 g^{-1}).

4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS

Por meio do método diferencial de pH (GIUSTI, WROLSTED, 2001) determinou-se o teor de antocianinas utilizando-se o extrato puro. Este método exigiu a preparação de duas soluções tampões: cloreto de potássio (KCl) a 0,025 mol.L^{-1} e $\text{pH}= 1$ e acetato de sódio (CH_3COONa) a 0,4 mol.L^{-1} e $\text{pH}= 4,5$. A análise foi realizada em triplicata, no qual 1900 μL de cada solução tampão foram misturados, em cubetas de plásticos, a 100 μL das amostras puras. A absorbância de cada uma das soluções foram medidas por meio de um espectrofotômetro em dois comprimentos de onda, 520 nm e 700 nm. Os resultados foram expressos como mg de malvidina-3-glicosídeo equivalentes por 100 g de amostra em base seca.

Para os cálculos, foi usada a Equação (1) e para a determinação da concentração do pigmento de antocianina monomérica (AM), usou-se a Equação (2),

onde M é a massa molar da malvidina-3-glicosídeo ($529 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), DF é o fator de diluição (1,0), ε é a coeficiente de extinção molar ($26.900 \text{ L}^{-1}\text{mol}^{-1}$) e λ é o comprimento do caminho óptico da cubeta (1 cm).

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad (1)$$

$$MA = \frac{A \times M \times DF \times 1000}{\lambda \times \varepsilon} \quad (2)$$

4.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

4.6.1 Atividade Sequestrante do Radical do DPPH

A atividade sequestrante do radical do DPPH foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Mensor et al. (2001). Para o preparo das amostras, pipetou-se 2,5 mL das diluições e 1 mL da solução de DPPH*, as misturas reagiram durante 30 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A leitura da absorbância foi feita a 518 nm com o espectrofotômetro. O estudo foi realizado em duplicada e diretamente em tubos de ensaio. No branco das amostras, foram utilizados alíquotas de 2,5 mL da amostra e 1 mL de etanol 40%.

A atividade antioxidante foi calculada de acordo com a Equação (3) e o resultado foi expresso em concentração efetiva (CE_{50}), sendo este calculado por meio de regressões não-lineares com cinco diluições dos extratos (Tabela 2), onde as abcissas representam a concentração das diluições utilizadas e a ordenada à percentagem da atividade antioxidante.

$$AA\% = 100 - \left[\frac{(Abs_{\text{amostra}} - Abs_{\text{branco}}) \times 100}{Abs_{\text{controle}}} \right] \quad (3)$$

Tabela 2 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de potencial antioxidante no método do DPPH[•]

| Amostra | Concentração (mg.mL⁻¹) |
|----------------|--|
| Cabernet 1 | 20,0 |
| Cabernet 2 | 15,0 |
| Cabernet 3 | 10,0 |
| Cabernet 4 | 7,5 |
| Cabernet 5 | 5,0 |

4.6.2 Atividade Sequestrante do Radical do ABTS

A avaliação da atividade antioxidante pelo método do ABTS^{•+} foi realizado de acordo com a metodologia de Thaipong et al. (2006). Previamente foram preparadas duas soluções (solução 7,4 mmol.L⁻¹ de ABTS^{•+} e solução 2,6 mmol.L⁻¹ de persulfato de potássio) em balões de 10 mL, nos quais, em seguida, foram misturas em um recipiente devidamente abrigado da luz e armazenado por 12 horas. Depois do tempo decorrido da reação, foi adicionado 1 mL de ABTS^{•+} em 60 mL de metanol, para que a mistura final apresenta-se no espectrofotômetro a absorvância de 1,1 a 734 nm.

Para realização do estudo, alíquotas de 150 µL das amostras em 5 diferentes concentrações foram adicionados com 2,85 mL de ABTS^{•+} diretamente em tubos de ensaio. A mistura foi armazenada no escuro por 2 horas. A leitura da absorvância foi realizada em 734 nm. O estudo foi realizado em duplicada.

O potencial antioxidante foi obtido por meio da Equação (4) e os resultados foram expressos em CE₅₀, sendo estes determinados por meio de regressões lineares e não-lineares, devido a realização de cinco diluições dos extratos etanólicos que podem ser observados na Tabela 3.

$$AA\% = 100 - \left(\frac{Abs_{amostra} \times 100}{Abs_{controle}} \right) \quad (4)$$

Tabela 3 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de potencial antioxidante no método do ABTS⁺⁺

| Amostra | Concentração (mg.mL ⁻¹) |
|------------|-------------------------------------|
| Cabernet 1 | 1,00 |
| Cabernet 2 | 0,75 |
| Cabernet 3 | 0,50 |
| Cabernet 4 | 0,25 |
| Cabernet 5 | 0,15 |

4.6.3 Habilidade Quelante do Íon Ferroso

A habilidade quelante do íon ferroso do extrato foi determinado de acordo com a metodologia de Senevirathne et al. (2006) com algumas modificações, sendo esta realizada em duplicata. Em tubos de ensaio foram agitados 700 µL de água destilada, 700 µL de amostra em diferentes concentrações e 175 µL de FeCl₂ (0,5 mmol.L⁻¹) e a absorbância (A₀) foi medida à 550 nm. Logo em seguida, adicionou-se 175 µL de Ferrozina (0,5 mmol.L⁻¹). A mistura foi agitada em vortex por 1 minuto e incubada em temperatura ambiente por 20 minutos. Por fim a absorbância (A₁) foi medida a 550 nm com espectrofotômetro.

Para o branco utilizou-se água destilada e para o controle negativo o solvente extrator dos compostos fenólicos. Foram realizadas cinco diluições dos extratos etanólicos, sendo estes observados na Tabela 4. O resultado obtido em percentagem de capacidade quelante das diluições dos extratos foi de acordo com a Equação (5). Por meio desse potencial, realizou-se regressões lineares e logarítmicas, e assim o potencial antioxidante foi expresso o resultado em CE₅₀.

$$AQ\% = \left[1 - \left(\frac{Abs\ 2_{amostra} - Abs\ 1_{amostra}}{Abs\ 2_{controle} - Abs\ 1_{controle}} \right) \right] \times 100 \quad (5)$$

Tabela 4 - Concentrações das diluições do extrato utilizadas para obtenção da curva de habilidade quelante do íon ferroso

| Amostra | Concentração (mg.mL⁻¹) |
|----------------|--|
| Cabernet 1 | 8,0 |
| Cabernet 2 | 6,5 |
| Cabernet 3 | 5,0 |
| Cabernet 4 | 2,5 |
| Cabernet 5 | 1,0 |

4.7 ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Para a identificação de compostos fenólicos utilizou-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O equipamento usado possui um sistema Dionex Ultimate 3000 HPLC, equipado com uma bomba Ultimate 3000, coluna do compartimento de amostra Ultimate 3000, detector de fotodiodo Ultimate 3000 e software Chromeleon para qualificação e quantificação dos compostos fenólicos, onde a coluna de fase reversa usada na separação era Acclaim® 120, C18 5 mm 120 A (4,6 mm x 250 mm).

Os compostos fenólicos presentes no extrato etanólico do bagaço de uva foram qualificados e quantificados de acordo com o tempo de retenção em relação aos dos padrões puros, sendo a curva modelo composta pelos seguintes compostos: ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafêico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, ácido vanílico, caempferol, miricetina, quercetina, resveratrol, rutina e trans-cinâmico.

Foram utilizadas como fases móveis água acidificada com ácido fosfórico 1% e metanol. O gradiente não linear das fases móveis está apresentado na Figura 5.

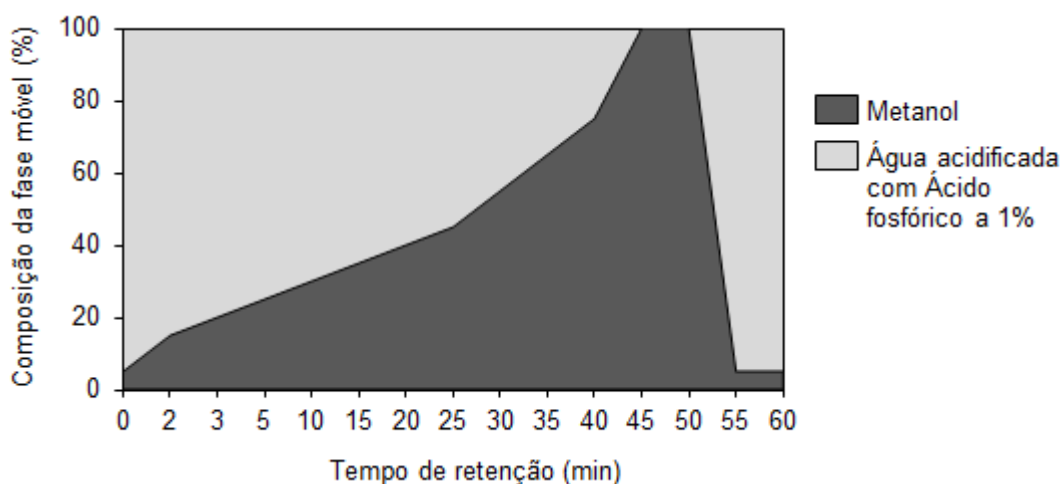


Figura 5 - Composição das fases móveis durante a corrida no cromatógrafo líquido de alta eficiência

O volume de amostra injetada foi de 10 μL . A vazão regulada para o equipamento foi de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com um tempo de corrida de 60 minutos. A determinação dos compostos fenólicos foi realizada em três comprimentos de onda (280, 320 e 370 nm). Durante todo o estudo, a temperatura da coluna foi de 40 $^{\circ}\text{C}$.

4.8 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS

Para a identificação e quantificação dos ácidos graxos presente no pó seco de bagaço de uva foi realizada a extração e determinação do teor de lipídios totais por meio da metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959).

Inicialmente, foi avaliada a umidade da amostra por meio de medidor de umidade, de forma determinar esta característica da amostra para correção desta no valor indicado para o método, no qual obteve-se 8,43% de umidade. Na quantificação do teor de lipídios, em triplicata, foram pesados em um béquer 15 g de amostra e para correção da umidade para 80%, adicionou-se 25,74 mL de água. Logo após, foram acrescentou-se 30 mL de metanol e a mistura foi agitada por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 15 mL de clorofórmio e agitou-se o conteúdo por 5 minutos e posteriormente colocou-se mais 15 mL de clorofórmio e a

agitação ocorreu por mais 5 minutos. Por fim, 15 mL foram acrescentados a mistura e esta permaneceu em agitação por 5 minutos.

Para separação do bagaço em pó, a mistura com solvente e amostra foi filtrada em funil de Buchner. O bagaço foi lavado com 10 mL de clorofórmio e foi agitado por 5 minutos. Para lavagem do béquer foram utilizados mais 10 mL de clorofórmio e o volume final obtido, juntamente com a mistura dos solventes, foi colocado em funil de separação.

Após separação das fases, a fase inferior composta por lipídios em clorofórmio foi recolhida em um balão de fundo chato e a mistura foi evaporada em evaporador rotatório a vácuo a 35 °C para retirada completa do solvente. Em seguida, a amostra foi pesada para quantificação do rendimento da extração e o teor de lipídios totais foi expresso em gramas por 100 g de base seca. A fase superior obtida no funil de separação foi descartada.

4.9 ESTERIFICAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS

Para obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAGs) aplicou-se a metodologia proposta por Hartman e Lago (1973) e modificada por Maia e Rodriguez-Amaya (1993). Nesta análise, foram pesados, em um tubo de ensaio, entre 20 a 30 mg de lipídios extraídos do bagaço de uva da Cabernet em triplicata. A esta amostra, foram adicionados 500 µL de padrão interno (23:0) com uma concentração de 1 mg.L⁻¹ e o solvente da mistura foi evaporado com nitrogênio gasoso (N₂). Em seguida, foram pipetados 4 mL de NaOH a 0,5 mol.L⁻¹ e os tubos foram agitados durante 30 segundos. Os tubos foram colocados em banho de água com ebulição por 4 minutos e foram resfriados em água corrente. Posteriormente, alíquotas de 5 mL de reagente esterificante (NH₄Cl, H₂SO₄, metanol) foram adicionados as amostras e estas foram agitada por 30 segundos, sendo novamente encaminhadas para o banho de água em ebulição por mais 5 minutos e resfriamento em água corrente. Logo após, foram pipetados 4 mL de cloreto de sódio saturado (NaCl_{sat}) e 2 mL de isoctano (C₈H₁₈) e os tubos foram agitados. Os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAGs), sobrenadante obtido na análise, foram retirados e armazenados em *eppendorf*.

4.10 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Na determinação da composição de ácidos graxos dos lipídios totais extraídos dos bagaços de uva realizou-se a separação destes pelo cromatógrafo em fase gasosa. Foi injetado 1 μL de volume de amostra (Split) de 1:80. A temperatura do injetor e do detector foram ajustadas para 250 $^{\circ}\text{C}$ e 255 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A coluna foi previamente aquecida a 185 $^{\circ}\text{C}$, no qual permaneceu constante por 10 minutos, e esta aumentou-se a uma taxa de 4 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até atingir 240 $^{\circ}\text{C}$ por 1,25 minutos. O tempo de corrida da amostra foi de 25 minutos. As áreas correspondentes aos picos dos cromatogramas foram obtidas por integração com o software Clarity Lite (DataApex, 2.7.03.498, República Checa). Os ácidos graxos foram quantificados em $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de lipídios totais por padronização interna usando o éster metílico do ácido tricosanóico (23:0Me, Sigma, EUA). De acordo com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos (189-19, Sigma, EUA) foi possível identificar os ácidos graxos. Os cálculos foram efetuados segundo Visentainer (2012).

4.11 TRATAMENTO DOS DADOS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, exceto para a análise da atividade antioxidante, o que foi feito em duplicata. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão através do *software* Statistica 7.0 (StatSoft Inc., USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CONTROLE ANALÍTICO

5.1.1 Curva padrão de ácido gálico

Na determinação de compostos fenólicos totais, elaborou-se uma curva padrão de ácido gálico (Figura 6), com ajuste linear (R^2) de 0,9955 e a equação da reta conforme apresentada na Equação (6).

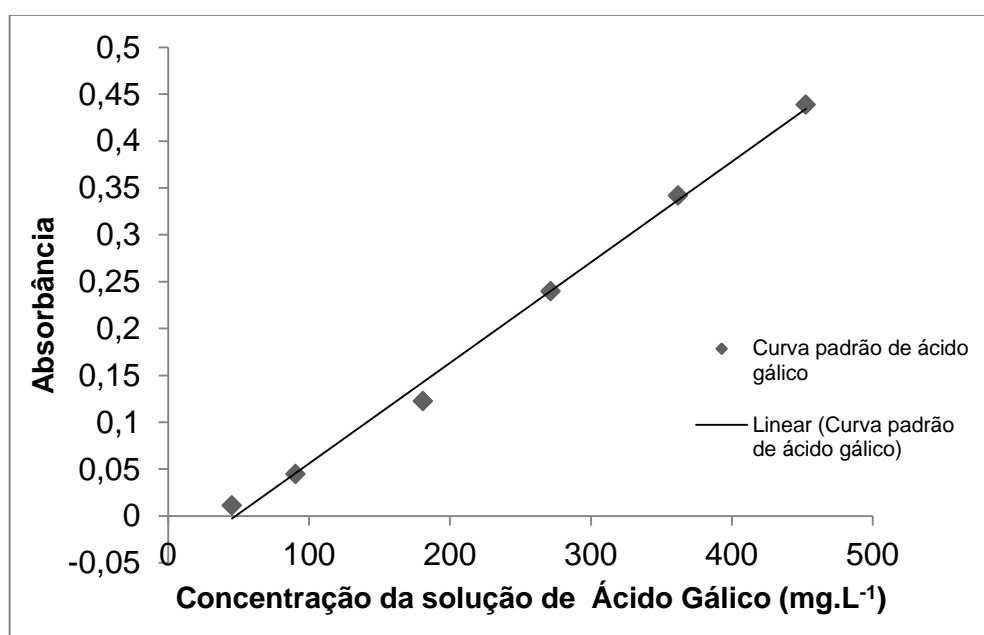


Figura 6 – Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação dos compostos fenólicos totais

$$y = 0,0011x - 0,0516$$

(6)

5.1.2 Curva padrão de catequina

A curva padrão de catequina (Figura 7), obtida para quantificação de flavonoides totais, apresentou a Equação (7) como equação da reta e um ajuste linear (R^2) de 0,9906.

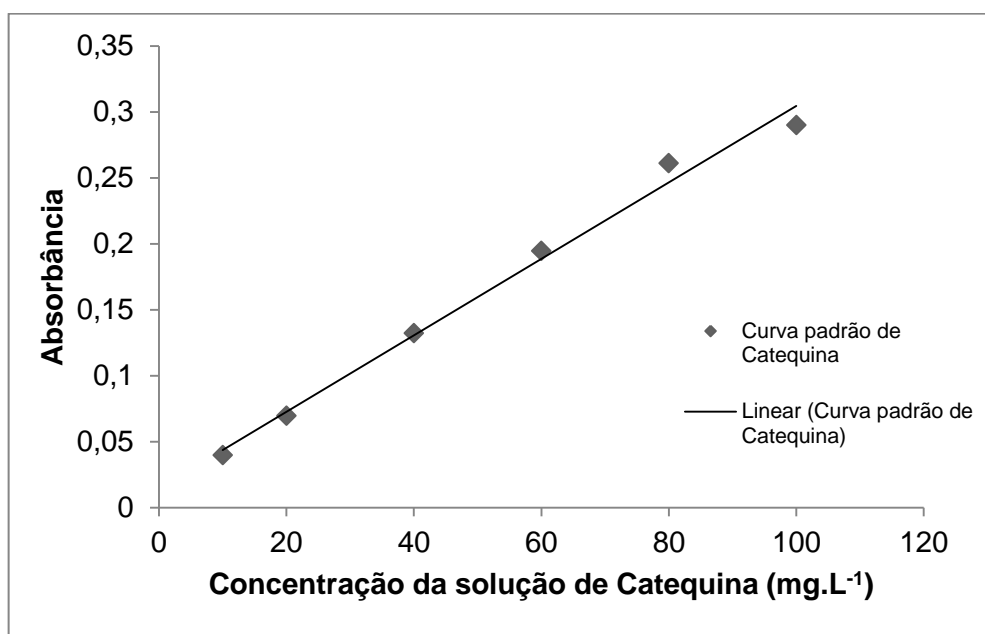


Figura 7 - Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação dos compostos fenólicos totais

$$y = 0,0029 + 0,0145x \quad (7)$$

5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS

As médias das triplicatas do conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e antocianinas monoméricas, extraídos da amostra são observadas na Tabela 5, no qual estão expressas em equivalente de ácido gálico

por 100 g de amostra, equivalente de catequina por 100 g de amostra e equivalente de malvidina-3-glicosídeo por 100 g de amostra, respectivamente.

Tabela 5 - Conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e antocianinas monoméricas quantificados em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon

| Análises | Concentração |
|--|------------------|
| Compostos fenólicos totais (mg EAG.100 g ⁻¹) | 5101,82 ± 119,03 |
| Flavonoides totais (mg EC.100 g ⁻¹) | 2983,91 ± 51,76 |
| Antocianinas monoméricas (mg mal-3-glu.100 g ⁻¹) | 2092,93 ± 71,57 |

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão), n=3

Neste estudo, o bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon apresentou uma concentração de compostos fenólicos de 5101,82 mg EAG.100 g⁻¹ em base seca, quantidade inferior ao encontrado por Rockenbach et al. (2011b) em amostra de bagaço de uva cultivada no Brasil da mesma variedade, no qual foi, também em peso seco, de 7475,00 mg EAG.100 g⁻¹. No estudo de Rockenbach et al. (2011b), os autores realizaram a extração dos compostos fenólicos de maneira diferente, no qual primeiramente a amostra foi pulverizada com nitrogênio líquido, depois foram adicionados 1 g do material em 50 mL de metanol para extração em Turrax e por fim a amostra foi filtrada em papéis filtro (Whatman n° 1).

Na quantificação de compostos fenólicos em extratos de bagaço de uva da espécie *Vitis vinifera*, também cultivadas no sul do Brasil, obteve-se resultados similares ao deste estudo para a variedade Tannat ao utilizar etanol 50% como solvente extrator, sendo para esta variedade de 5840,0 mg EAG.100 g⁻¹ e para Ancelota 7320,0 mg EAG.100 g⁻¹, ambas também em base seca (ROCKENBACH et al., 2008b).

Alguns fatores influenciam na diferença da composição e teor de compostos fenólicos, por isso, muitas vezes não há um teor padrão para comparação. Em uvas, por exemplo, a variedade, espécie, estação, como as condições do solo, clima e carga colheita da uva interferem diretamente na quantidade desses compostos (YANG, MARTINSON, LIU, 2009) o que dificulta a comparação destas concentrações com demais estudos. Além disso, em uma análise de compostos

fenólicos, o método de extração influencia diretamente na eficiência do processo, no qual qualquer alteração, no pH, temperatura, tipo de solvente, número de passos para a extração, razão solvente/sólido e tamanho da partícula do sólido, por exemplo, altera a concentração destas substâncias na amostra analisada (ESCRIBANO-BAILÓN, SANTOS-BUELGA, 2003).

Os flavonoides são importantes compostos bioativos presentes em frutas e estão divididos em seis subclasses: flavonóis, flavanonas, isoflavonas, flavan-3-ols, flavonas e antocianinas (HAMINIUK et al., 2012). Como observado na Tabela 4, o bagaço de uva em análise apresentou uma concentração de 2983,91 mg EC.100 g⁻¹. Makris, Boskou e Andrikopoulos (2007) quantificaram o conteúdo de flavonoides em bagaços de uvas vermelhas da espécie *V. vinifera*, no qual apresentaram 5289,00 mg EC.100 g⁻¹, em base seca, de flavonoides, valor superior ao avaliado nesta pesquisa. Já Negro, Tommasi e Miceli (2003) observaram um teor flavonoides de 3940,0 mg EC.100 g⁻¹ em bagaço de uva, conteúdo mais próximo ao quantificado na amostra avaliada.

As antocianinas têm a mesma origem biossintética como demais compostos flavonóis naturais e, como outros flavonoides, são estruturalmente caracterizados pela presença de um esqueleto de carbono composta por C₆-C₃-C₆ (BROUILLARD, 1982). As antocianinas são pigmentos responsáveis pela cor laranja, rosa, vermelho, violeta e azul nas flores e frutos de algumas plantas e por isso é muito utilizada como corantes naturais na indústria alimentícia (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

O extrato de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon apresentou uma concentração de 2092,93 mg mal-3-glu.100 g⁻¹ em antocianinas. Rockenbach et al. (2011b) ao avaliar este mesmo composto bioativo em subproduto da vinificação brasileira da mesma variedade, obteve um teor inferior ao avaliado neste estudo, sendo este de 702,00 mg mal-3-glu.100 g⁻¹. Em uma pesquisa de antocianinas em bagaços de uva obtidos em Santa Catarina, também da variedade *V. vinifera*, totalizou-se um teor de 1950,0 mg mal-3-glu.100 g⁻¹ para Ancelota e 770,0 mg mal-3-glu.100 g⁻¹ para Tannat, valores também inferiores ao observado para esta amostra (ROCKENBACH et al., 2008b)

5.3 POTENCIAL ANTIOXIDANTE

O potencial antioxidante foi avaliado por meio de métodos *in vitro*, sendo estes: Atividade Sequestrante do DPPH[•] e do ABTS^{+•} e Habilidade Quelante do Íon Ferroso, sendo os valores encontrados na Tabela 6, no qual os resultados das análises citadas foram expressos em CE₅₀ (µg.mL⁻¹).

Tabela 6 - Atividade antioxidante por meio dos métodos *in vitro*: atividade sequestrante do DPPH[•] e do ABTS^{+•} e habilidade quelante do íon ferroso, avaliados em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon

| Análises | Potencial Antioxidante (µg.mL ⁻¹) |
|--------------------------------------|---|
| * Método do DPPH [•] | 5048,00 ± 0,04 |
| * Método do ABTS ^{+•} | 764,00 ± 0,01 |
| * Habilidade Quelante do Íon Ferroso | 72,98 ± 0,59 |

* Resultados expressos em CE₅₀, média ± desvio padrão, n=2

O ensaio do sequestro do radical do DPPH esta baseado no princípio de que ao aceitar um átomo de hidrogênio a partir da molécula antioxidante, há redução do DPPH[•] para DPPH₂, ocorrendo à alteração da cor púrpura da solução para amarelo, com uma concomitante diminuição na absorvância a 518 nm. A mudança de cor é monitorada por espectrofotometria e utilizada para a determinação de parâmetros de propriedades antioxidantes (MISHRA, OJHA, CHAUDHURY, 2012), sendo assim, a pesquisa da atividade sequestrante do DPPH[•] estima o poder redutor de um composto antioxidante, que ao doar elétron para um radical livre, oxida-se (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Neste estudo, o bagaço de uva apresentou um concentração de 5048,0 µg.mL⁻¹ para reduzir em 50% os radicais livres da solução.

RUBERTO et al. (2007) ao avaliarem a atividade antioxidante dos extratos dos compostos fenólicos de cinco bagaços de uva da espécie *Vitis vinifera*, determinaram uma variação de CE₅₀ entre 14 e 39 µg.mL⁻¹ no teste de sequestro de radical do DPPH, no qual a Cabernet Sauvignon apresentou o quarto melhor

potencial em varrer radicais livres, com CE_{50} de $34,20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, apresentando um potencial antioxidante superior ao desta análise.

No ensaio do sequestro do radical do ABTS, primeiramente ocorre a produção do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pela reação deste com persulfato de potássio, no qual possui coloração verde. Quando há mistura deste radical com o antioxidante, o radical é reduzido a ABTS com conseqüente diminuição da absorbância a 734 nm (MILLER et al. 1996; RE et al., 1999; GUEDES et al., 2013), sendo que a extensão da redução depende da duração da reação, da atividade antioxidante intrínseca e concentração na amostra (GUEDES et al., 2013). A amostra apresentou uma concentração efetiva para eliminar 50% dos radicais do ABTS de $764,00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, potencial superior ao encontrado por Veskokoukis et al. (2012), no qual obteve $CE_{50} = 5500,00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para bagaço de uva da variedade Batiki Tyrnavou cultivadas na Grécia Central, sendo também uma *Vitis vinifera*.

Os íons ferrosos são os mais potentes pró-oxidantes entre várias espécies de metais de transição presentes na alimentação (WANG, JÓNSDÓTTIR, ÓLAFSDÓTTIR, 2009), pois são fortes em converter H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) em OH^\bullet , além de atuarem como catalisadores de reações que há formação de radicais livres, como na decomposição de peróxidos lipídicos a radicais peroxila e alcóxila, muito reativos (VASCONCELOS et al., 2007). No método da avaliação da habilidade quelante do íon ferroso, a ferrozina na presença de Fe^{2+} apresenta um complexo vermelho no qual a absorbância pode ser observado a 550 nm, e quando há na solução, agentes quelantes, há menor concentração de íons ferrosos o que diminuirá a formação do complexo com a ferrozina, diminuindo a absorbância (KUMARAN, KARUNAKARAM, 2006).

A amostra apresentou um potencial CE_{50} de $72,98 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para quelação do íon ferroso. Katalinić et al. (2010) ao avaliar o potencial antioxidante em cascas de 14 uvas da espécie *V. vinifera*, sendo sete brancas e sete vermelhas, obteve uma variação de CE_{50} de $52,0-655,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para a quelação do íon ferroso em uvas vermelhas, sendo assim, em comparação a este estudo, o bagaço de uva apresentou um potencial antioxidante eficiente para quelar o Fe^{2+} , pois esta próximo a margem inferior encontrada por Katalinić et al. (2010) que avaliou cascas de uva que não sofreram nenhum processamento.

5.4 ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

A pesquisa de identificação dos compostos fenólicos nos extratos etanólicos de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon foi realizada por meio da cromatográfica líquida de alta eficiência, no qual os compostos determinados por meio dos 12 padrões existentes são observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Compostos fenólicos identificados e quantificados por meio de CLAE em extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon

| Compostos Fenólicos | Comprimento de Onda (nm) | Concentração (mg.L⁻¹) | Concentração (mg.100 g⁻¹) |
|----------------------------|---------------------------------|---|---|
| Ácido Gálico | 280 nm | 6,44 | 12,88 ± 0,02 |
| Ácido Vanílico | 280 nm | 4,28 | 8,57 ± 0,02 |
| Resveratrol | 320 nm | 0,30 | 0,62 ± 0,01 |
| Total | | 11,76 | 22,07 |

O ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) foi o composto majoritário encontrado no extrato etanólico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon, em uma concentração de 12,88 mg.100 g⁻¹. Segundo estudos, o ácido gálico é um ácido fenólico amplamente disponível, no qual apresenta como um dos benefícios uma atividade antimicrobiana considerável (CHANWITHEESUK et al., 2007), sendo encontrado em uvas, manga, nozes, chá verde e outras frutas, bem como em vinho (KORANI et al., 2014). Este composto também apresenta potencial antioxidante, propriedades anti-inflamatórias, antialérgicas, anticarcinogênicas e antiviral (LI et al., 2011).

O ácido vanílico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico), segundo composto em maior concentração encontrado na amostra, com cerca de 8,57 mg.100 g⁻¹, é um ácido hidroxibenzoico, o que é geralmente utilizado como um agente aromatizante. Este composto é um intermediário na produção de vanilina a partir de bioconversão de ácido ferúlico (TAN, SHAHIDI, 2013), no qual possuem ação inibitória no crescimento de fungos e produção de micotoxinas (BAKAN et al., 2003), além de

mostrarem efeitos no tratamento de respostas imunes e inflamatórias (CHIANG et al., 2003).

Resveratrol (3,4,5-tri-hidroxi-trans-estilbeno) foi o composto fenólico identificado em menor quantidade na amostra ($0,62 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), é um antioxidante natural, não flavonoide, sendo normalmente extraído de uvas vermelhas na transformação do vinho (HURLEY et al., 2014) mas também é encontrado em outras de frutas, como framboesas, amoras, ameixas, amendoins, mirtilos e amoras (SAHA, CHAKRABARTI, 2014). Estudos indicam que o resveratrol é benéfico contra a diabetes, melhorando a resistência à insulina (BRASNYÓ et al., 2011), além de se mostrar benéfico para o tratamento do câncer (JANG et al., 1997) e possuírem efeitos anti-inflamatório e antioxidante (BELGUENDOZ, FREMONT, LINARD, 1997).

5.5 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Por meio da análise de cromatografia gasosa, obteve-se o cromatograma, como visualizado na Figura 8, dos ésteres metílicos identificados no bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon, sendo identificados e quantificados dez ácidos graxos: ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido elaídico, ácido linoléico, ácido α -linolênico, ácido araquídico, ácido gondóico, ácido beênico, ácido lignocérico, como observado na Tabela 8.

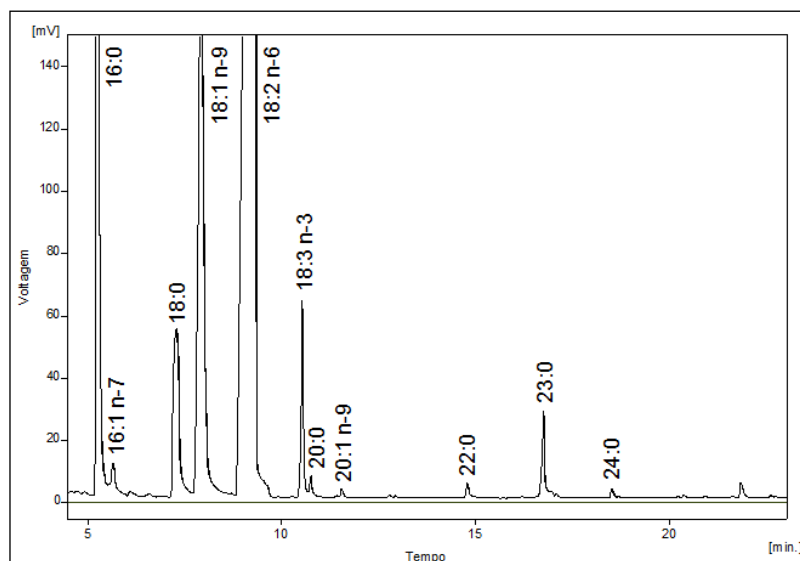


Figura 8 - Cromatograma de ácidos graxos identificados e quantificados no extrato lipídico de bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon

Tabela 8 - Composição de ácidos graxos em miligrama por grama de lipídios totais em bagaço de uva em pó da variedade Cabernet Sauvignon

| Ácidos Graxos | Nome Usual | Quantidade (mg.g ⁻¹) | | |
|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|---|-------|
| 16:0 | Ácido Palmítico | 110,97 | ± | 1,44 |
| 16:1 n-7 | Ácido Palmitoléico | 7,04 | ± | 0,26 |
| 18:0 | Ácido Estearico | 38,77 | ± | 1,53 |
| 18:1 n-9 | Ácido Elaídico | 126,24 | ± | 3,76 |
| 18:2 n-6 | Ácido Linoléico | 627,21 | ± | 7,37 |
| 18:3 n-3 | Ácido α-Linolênico | 19,97 | ± | 0,55 |
| 20:0 | Ácido Araquídico | 3,25 | ± | 0,07 |
| 20:1 n-9 | Ácido Gondóico | 0,89 | ± | 0,04 |
| 22:0 | Ácido Beênico | 2,42 | ± | 0,12 |
| 24:0 | Ácido Lignocérico | 1,67 | ± | 0,07 |
| AGS¹ | | 157,07 | ± | 0,08 |
| AGMI² | | 134,17 | ± | 3,61 |
| AGPI³ | | 647,17 | ± | 7,56 |
| n6⁴ | | 627,21 | ± | 7,37 |
| n3⁵ | | 19,97 | ± | 0,55 |
| n6/n3 | | 31,43 | ± | 0,82 |
| AGS/AGPI | | 0,24 | ± | 0,003 |

¹Total de ácidos graxos saturados; ²Total de ácidos graxos monoinsaturados; ³Total de ácidos graxos poli-insaturados; ⁴Total de ácidos graxos ômega-6; ⁵Total de ácidos graxos ômega-3.

O perfil dos ácidos graxos obtidos por meio de cromatografia gasosa indica que o extrato lipídico do bagaço de uva é composto por 68,9% de ácidos graxos poli-

insaturados, 16,7% de saturados e 14,4% de monoinsaturados, resultado significativo, pois os ácidos graxos essenciais (ácido linoléico e ácido α -linolênico) são poli-insaturados (GAVA, SILVA, FRIAS, 2008), demonstrando que este produto pode fornecer ácidos graxos essenciais ao organismo. O baixo percentual em ácidos graxos saturados também é positivo, pois estes contribuem para o aumento de doenças do coração e vias circulatórias devido ao aumento do nível do colesterol do sangue (GAVA, SILVA, FRIAS, 2008). Rockenbach (2008a) obteve um teor de ácidos graxos poli-insaturados de 64,70%, 17,33% de monoinsaturados e 17,95% de saturados na mesma variedade estudada, mostrando valores similares ao desta pesquisa.

Em contrapartida, os resultados apontam um alto valor para a razão ômega-6/ômega-3, sendo este de 31,43:1, no qual, segundo Simopoulos e Cleland (2003), é recomendado uma razão entre 1:1 e 1:4, pois o aumento desta razão nas dietas tem sido um dos prováveis motivos para o crescimento no número de doenças cardiovasculares e inflamatórias nos organismos (SIMOPOULOS, 2002). Rockenbach (2008a) ao avaliar o perfil dos ácidos graxos em bagaços de uva da espécie *V. lambrusca* e *V. vinifera*, Cabernet Sauvignon apresentou uma razão de ômega-6/ômega-3 de 28,52:1, valor próximo ao deste estudo.

6 CONCLUSÕES

O bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon, pertencente a espécie *Vitis vinifera*, apresentou concentração de compostos fenólicos considerável em comparação a outros estudos, mesmo o resultando sendo distinto destas pesquisas e da amostra ser apenas um resíduo obtido por meio do processamento do vinho. Além disso, o teor de antocianinas também foi expressivo, no qual comprova que a extração destes compostos para a aplicação em indústrias alimentícias, como corantes naturais, por exemplo, seria viável. Em relação ao potencial antioxidante, a amostra apresentou capacidade em eliminar radicais livres e quelar metais.

Na identificação de compostos fenólicos por meio da cromatográfica líquida de alta eficiência, foram identificadas substâncias as quais podem apresentar efeitos positivos ao organismo quando ingeridos. O perfil dos ácidos graxos determinados por meio desta pesquisa mostrou que o objeto em análise é rico em ácidos graxos essenciais, principalmente em ácido α -Linolênico e que, paralelamente, o teor de ácidos graxos saturados, os quais não são desejáveis na dieta humana devido aos problemas relacionados a ingestão, estão em baixa concentração.

Portanto, o bagaço de uva, o qual é um resíduo industrial obtido em abundancia não apenas no Brasil, mas no mundo, é rico em compostos que possuem efeitos benéficos não só a um produto, aumentando, por exemplo, a vida de prateleira, mas também em um organismo, e a extração destes originaria produtos naturais, os quais agradariam os consumidores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, K., GRIMMER, S., HOLTUNG, L. Extraction of phenolic compounds from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) press residue: Effects on phenolic composition and cell proliferation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 257–264, 2013.

AMARANTE, J. O. A. **Os segredos do vinho para iniciantes e iniciados**. 2ª Edição. São Paulo: Mescla, 2005. 573 p.

AMAROWICZ, R., PEGG, R. B. Inhibition of proliferation of human carcinoma cell lines by phenolic compounds from a bearberry-leaf crude extract and its fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 660–667, 2013.

AMES, B. N., SHIGENEGA, M. K., HAGEN, T. M. Oxidants and the degenerative diseases of ageing. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 17, p. 7915-7922, 1993.

ANGELO, P. M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARVANITOYANNIS, I. S., LADAS, D., MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 475-487, 2006.

BADARINATH, A. V., MALLIKARJUNA, K. R., CHETTY, C. M. S., RAMKANTH, S. RAJAN, T. V. S., GNANAPRAKASH, K. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 2, p. 1276-1285, 2010.

BAKAN, B., BIKY, A. C., MELCION, D., CAHAGNIER, B., REGNAULT-ROGER, C., PHOLOGÈNE, B. J. R., RICHARD-MOLARD, D. Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. **Journal and Agricultural Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2826-2831, 2003.

BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203. 2006.

BARCIA, M. T., PERTUZATTI, P. B., GÓMEZ-ALONSO, S., GODOY, H. T., HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. **Food Chemistry**, v. 159, n. 15, p. 95-105, 2014.

BARREIROS A. L. B. S., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n.1, p. 113-23, 2006.

BAUM, S. J., KRIS-ETHERTON, P. M., WILLETT, W. C., LICHTENSTEIN, A. H., RUDEL, L. L., MAKI, K. C., WHELAN, J., RAMSDEN, C. E., BLOCK, R. C. Fatty acids in cardiovascular health and disease: a comprehensive update. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 6, n. 3, p. 216-234, 2012.

BELGUENDOZ, L., FREMONT, L., LINARD, A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. **Biochemical Pharmacology**, v. 53, n. 9, p. 1347-1355, 1997.

BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917. 1959.

BRASNYÓ, P., MOLNÁR, G. A., MOHÁS, M., MARKÓ, L., LACZY, B. CSEH, J., MIKOLÁS, E., SZIJÁRTÓ, I. A., MÉREI, Á., HALMAI, R., MÉSZÁROS, L. G., SÜMEGI, B., WITTMANN, I. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 3, p. 383-389, 2011.

BRENNA, O. V., PAGLIARINI, E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4841-4844, 2001.

BROUILLARD, R. Chemical Structure of Anthocyanins. In: **Anthocyanins as Food Colors**. MARKAKIS, P. (Ed.). New York: Academic Press, 1982.

CABRITA, M. J., RICARDO-DA-SILVA, J., LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. In: **I Seminário internacional de vitivinicultura**, 1., Lisboa, 2003, p. 61-100. Disponível em: <<http://www.isa.utl.pt/riav/Pdf/Memoria%20del%20Seminario%202003.3.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2014.

CALDER, P. C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 4, p. 467-490, 1998.

CAMARGO, U. A. **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Embrapa Uva e Vinho: Sistemas de Produção, Bento Gonçalves. 2003. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/cultivar.htm#topo>>. Acesso em: 06 nov. 2013.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): Parâmetros de Processo e Modelagem Matemática**. 2005. 141 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CAO, X., ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 1021, n. 1/2, p. 117-224, 2003.

CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RODRÍGUEZ, J. A., GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CASTRO-GONZÁVELS, M. I. Ácido Graxo ômega-3: benefícios y fuentes. **Interciência**, v. 27, n. 3, p. 128-136, 2002.

CHANG, C. C., YANG, M. H., WEN, H. M.; CHERN, J. C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, p. 172-178. 2002.

CHANWITHEESUK, A., TEERAWUTGULRAG, A., KILBURN, J. D., RAKARIYATHAM, N. Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1044-1048, 2007.

CHIANG, L. C., NG., L. T., CHIANG, W., CHANG, M. Y., LIN, C. C. Immunomodulatory activities of flavonoids, monoterpenoids, triterpenoids, iridoid glycosides and phenolic compounds of *Plantago* species. **Planta Médica**, v. 69, n. 7, p. 600-604, 2003.

CHOW, C. K. **Fatty acids on foods and their health implications**. 3ª edição. Nova York: CRC Press, 2007. 1296 p.

CURI, R., POMPÉIA, C., MYASAKA, C. K., PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura: Os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. 583 p.

DENG, Q., PENNER, M. H., ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v. 44, p. 2712-2720, 2011.

DUARTE-ALMEIDA, J. M., SANTOS, R. J., GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH°. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n. 2, p. 446-452, 2006.

ESCRIBANO-BAILÓN, M. T., SANTOS-BUELGA, C. **Polyphenol extraction from foods. Methods in Polyphenol Analysis**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003. 383 p.

FERNÁNDEZ-ARROYO, S. GÓMEZ-MARTÍNEZ, A., ROCAMORA-REVERTE, L., QUIRANTES-PINÉ, R., SEGURA-CARRETERO, A. FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A., FERRAGUT, J. A. Application of nanoLC-ESI-TOF-MS for the metabolomic analysis of phenolic compounds from extra-virgin olive oil in treated colon-cancer cells. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 63, p. 128-134, 2012.

FIGUEIREDO, C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008.

GARRIDO, L. R., SÔNEGO, O. R., GOMES, V. N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 322-324, 2004.

GAVA, A. J., SILVA, C. A.B., FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GIUSTI, M. M., WROLSTED, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** WROLSTAD, R. E., SCHWARTZ, S. J. (Ed.). New York: Wiley, 2001.

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidante action *in vitro*. In: **Food Antioxidants**. HUDSON, B. J. (Ed.). London: Elsevier Applied Science, 1990.

GUEDES, A. C., AMARO, H. M., GIÃO, M. S., MALCATA, F. X. Optimization of ABTS radical cation assay specifically for determination of antioxidant capacity of intracellular extracts of microalgae and cyanobacteria. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 638–643, 2013.

HAMINIUK, C. W. I., PLATA-OVIEDO, M. S. V., GUEDES, A. R., STAFUSSA, A. P., BONA, E., CARPES, S. T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 7, p. 1529-1537, 2011.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012.

HARBORNE J. B., SIMMONDS N. W. The natural distribution of the phenolic aglycones. In: **Biochemistry of phenolic compounds**. HARBORNE, J. B. (Ed.). New York: Academic Press, 1964.

HARTMAN, L., LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 474-476, 1973.

HERTOG, M. G, FESKENS, E. J., HOLLMAN, P. C., KATAN, M. B., KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **The Lancet**, v. 342, n. 8878, p. 1007-1011, 1993.

HIDALGO, L. Caractéristiques Agronomiques de 211 variétés de *Vitis vinifera* L. étudiées em Espagne pendant 25 ans. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 24, n. 2, p. 87-99, 1990.

HURLEY, L. L., AKINFIRESOYE, L. KALEJAIYE, O., TIZABI, Y. Antidepressant effects of resveratrol in an animal model of depression. **Behavioural Brain Research**, v. 268, p. 1-7, 2014.

INNIS, S. M. Polyunsaturated fatty acids in human milk: na essential role in infant development. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 554, p. 27-43, 2004.

JANG, L., CAI, G. O., UDEANI, K. V., SLOWING, C. F., THOMAS, C. W. Beecher et al cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**, v. 275, n. 5297, p. 218-220, 1997.

KATALINIĆ, V., MOŽINA, S. S., SKROZA, D., GENERALIĆA, I., ABRAMOVIČ, H., MILOŠ, I., LJUBENKOVC, I., PISKERNIK, S., PEZOD, I., TERPINC, P., BOBANE, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 715–723, 2010.

KORANI, M. S., FARBOOD, Y., SARKAKIA, A., MOGHADDAM, H. F., MANSOURI, M. T. Protective effects of gallic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced cognitive deficit and brain oxidative damage in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 733, p. 62-67, 2014.

KUMARAN, A., KARUNAKARAM, R. J. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 109-114, 2006.

LANGBECKER, T. B.; VALLEJOS, A. F.; ZEPPENFELD, P. B.; ANDREATTA, T.; PERLEBERG, C.. Cadeia produtiva da uva para vinhos finos – um estudo de caso no município de Dom Pedrito –RS. In: ENCONTRO DE ECONOMIA GAÚCHA, 6, 2012, Porto Alegre. **Anais do 6º Encontro de Economia Gaúcha**. Porto Alegre: PUC-RS, 2012. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/eventos/eeg/?p=trabalhos>>. Acesso em: 06 nov. 2013.

LEAF, A., WEBER, P. C. Cardiovascular effects on n-3 fatty acids, **The New England Journal of Medicine**, v. 318, n. 9, p. 549-557, 1988.

LEE, H. S. HPLC Analysis of Phenolic Compounds. In: **Food Analysis by HPLC**. NOLLET, L. M. L. (Ed.). 2ª edição. Nova York: CRC Press, 2000.

LI, D., LIU, Z., ZHAO, W., XI, Y., NIU, F. A straightforward method to determine the cytotoxic and cytopathic effects of the functional groups of gallic acid. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 11, p. 2210-2214, 2011.

LLOBERA, A., CAÑELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 659-666, 2007.

MAIA, E. L., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, n. 1/2, p. 27-35. 1993.

MAKRIS, D. P., BOSKOU, G., ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 125-132, 2007.

MELO, P. S. **Composição química e atividade biológica de resíduos industriais**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITAO, G. G., REIS, A. S., SANTOS, T. C. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p.127-130, 2001.

MILLER, N. J., SAMPSON, J., CANDEIAS, L. P., BRAMLEY, P. M., RICE-EVANS, C. A. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. **FEBS Letters**, v. 384, n. 3, p. 240–242, 1996.

MISHRA, K., OJHA, H., CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH[•] dot assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

MORAES, F. P., COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOREIRA, N. X., CURI, R. MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutritre: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 105-123, 2002.

NEGRO, C., TOMMASI, L., MICELI, A. Phenolic compound as and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 1, p. 41-44, 2003.

NETTLETON, J. A. **Omega-3 fatty acids and health**. New York: Chapman & Hall, 1994, 361 p.

OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M. A. B., SPOTO, M. H. F. **Fundamentos da Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006. 613 p.

OLIVEIRA, D. A. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah**. 2010. 211 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PACHECO, A. O. **Iniciação a Enologia**. 3ª Edição São Paulo: Editora SENAC, 2000. 177 p.

PIETTA, P., SIMONETTI, P., MAURI, P. Antioxidant activity of selected medicinal plants. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4487-4490, 1998.

PINELO, M., ARNOUS, A., MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 11, p. 579-590, 2006.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RISPAIL, N., MORRIS, P., WEBB, J. K. Phenolic Compounds: Extraction and analysis. In: **Lotus Japonicus Handbook**. MÁRQUEZ, A. (Ed.), Berlin: Springer, 2005.

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

ROBARDSA, K., PRENZLERA, P. D., TUCKERB, G., SWATSITANGB, P., GLOVERA, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 401-436, 1999.

ROCKENBACH, I.I., GONZAGA, L. V., RIZELIO, V. M., GONCALVES, A., GENOVESE, M. I., FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**, v. 44, n. 4, 897-901, 2011a.

ROCKENBACH, I. I., RODRIGUES, E., GONZAGA, L. V., CALIARI, V., GENOVESE, M. I., GONÇALVES, A. E. S. S., FETT, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174-179, 2011b.

ROCKENBACH, I. I. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.)**. 2008. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008a.

ROCKENBACH, I. I., SILVA, G. L., RODRIGUES, E., KUSKOSKI, E. M., FETT, R. Solvent Influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) bagasse extracts from Tannat and Ancelota - different varieties of *Vitis vinifera* varieties. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008b.

RONG, Y., WANG, Z., WU, J., ZHAO, B. A theoretical study on cellular antioxidant activity of selected flavonoids. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 93, p. 235–239, 2012.

ROSS, H. A., McDOUGALL, G. J., STEWART, D. Antiproliferative activity is predominantly associated with ellagitannins in raspberry extracts. **Phytochemistry**, v. 68, n. 2, p. 218-228, 2007.

RUBERTO, G., RENDA, A., DAQUINO, C., AMICO, V., SPATAFORA, C., TRINGALI, C., TOMMASIC, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 203-210, 2007.

SAGDIC, O., OZTURKA, I., OZKANB, G. YETIMA, H., EKICIA, L., YILMAZC, M. T. RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1749-1758, 2011.

SAHA, L., CHAKRABARTI, A. Understanding the anti-kindling role and its mechanism of Resveratrol in Pentylene-tetrazole induced-kindling in a rat model. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 120, n. 30, p. 57-64, 2014.

SALVADOR, M., HENRIQUES, J. A. P. **Radicais livres e resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: ULBRA, 2004. 211 f.

SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A., SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANTOS, R. D., GAGLIARDI, A. C. M., XAVIER, H. T., MAGNONI, C. D., CASSANI, R., LOTTENBERG et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 1, p. 1-40, 2013.

SÁYAGO-AYERDIA, S. G.; BRENESB, A.; VIVEROSC, A. GOÑIA, I. Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 528-533, Nov. 2009.

SCHEWE, T., KÜHN, H., SIES, H. Flavonoids of Cocoa Inhibit Recombinant Human 5-Lipoxygenase. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 7, p. 1825-1829, 2002.

SCHIEBER, A., STINTZING, F. C., CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-41, 2001.

SCHLEIER, R. **Constituintes Fitoquímicos de *Vitis vinifera* L. (Uva)**. 2004. 46f. Monografia (Especialista em Fitoterapia no IBEHE / FACIS). Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo, Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos, São Paulo, 2004.

SELANI, M. M. **Extrato de bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SENEVIRATHNE, M., KIM, S. H., SIRIWARDHANA, N., HA, J. H., LEE, K. W., JEON, Y. J. Antioxidant potential of Ecklonia cava on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 1, p. 27-38, 2006.

SHENOY, R., SHIRWAIKAR, A. Anti-inflammatory and free radical scavenging studies of *Hyptis suaveolens* (Labiatae). **Indian drugs**, v. 39, n. 11, p. 574-577, 2002.

SIES, H. Strategies of antioxidante defence - Review. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SILVA, F. C., RIBEIRO, R. C., CHAVES, A. C. L. Radicais livres e antioxidantes: Concepções e expectativas dos professores do Ensino Médio. In: **Encontro nacional de pesquisa em educação em ciências**, 7, Florianópolis, 2009, p. 389-301. Disponível em: <<http://posgrad.fae.ufmg.br/posgrad/viienepec/pdfs/389.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2014.

SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. **Millenium - Revista do Instituto Politécnico de Viseu**, n. 28, p. 123-133, 2003.

SIMOPOULOS, A. P. Omega 3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495-505, 2002.

SIMOPOULOS, A. P., CLELAND, L. G. **Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio: the scientific evidence**. World Review of Nutrition and Dietetics, 92. Basel: Karger, 2003.

SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3., p. 144-158. 1965.

SOARES S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TAN, Z. SHAHIDI, F. Phytosteryl sinapates and vanillates: Chemoenzymatic synthesis and antioxidant capacity assessment. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2/3, p. 1438-1447, 2013.

THAIPONG, K., BOONPRAKOB, U., CROSBY, K., CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, 2006.

TORRES, J. L., VARELA, B., GARCIA, M. T., CARILLA, J., MATITO, C., CENTELLES, J. J., CASCANTE, M., SORT, X., BOBET, R. Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) byproducts: Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7548-7555. 2002.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. **Produção de uvas, elaboração de vinhos e derivados** (2003 a 2012). Disponível em: <http://www.uvibra.com.br/pdf/safra_uva2003-2012.pdf>. Acesso em: 06 mai. 2014.

VASCONCELOS, S. M. L., GOULART, M. O. F., MOURA, J. B. F., MANFREDINI, V., BENFATO, M. S., KUBOTA, L. T. Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Química Nova**, v. 30, n. 5, 2007.

VERMERRIS, W., NICHOLSON, R. **Phenolics Compounds Biochemistry**. Gainesville: Springer. 2008.

VESKOUKIS, A. S., KYPAROS, A., NIKOLAIDIS, M. G., STAGOS, D., ALIGIANNIS, N., HALABALAKI, m., CHRONIS, K., GOUTZOURELAS, n., SKALTSOUNIS, L., KOURETAS, D. The Antioxidant Effects of a Polyphenol-Rich Grape Pomace Extract In Vitro Do Not Correspond In Vivo Using Exercise as an Oxidant Stimulus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-12, 2012.

VILLAÑO, D., FERNÁNDEZ-PACHÓNA, M. S., MOYÁB, M. L., TRONCOSO, A. M., GARCÍA-PARRILLAA, M. C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 230-235, 2007.

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 274-279. 2012.

VUONG, Q. V., HIRUN, S., PHILLIPS, P. A., CHUEN, T. L. K., BOWYER, M. C., GOLDSMITH, C. D., SCARLETT, C. J Fruit-derived phenolic compounds and pancreatic cancer: Perspectives from Australian native fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 152, n. 2, p. 227-242, 2014.

WAN, Y. VINSON, J. A., ETHERTON, T. D., PROCH, J., LAZARUS, S. A., KRIS-ETHERTON, P. M. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 5, p. 596-602, 2001.

WANG, T., JÓNSDÓTTIR, R., ÓLAFSDÓTTIR, G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 240-248, 2009.

WOLFE, K. L., LIU, R. H. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 8896-8907, 2007.

YANG, J., MARTINSON, T. E., LIU, R. H. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 332-339, 2009.

YI, C., SHI, J., KRAMER, J., XUE, S., JIANG Y., ZHANG, M., MA, Y., POHORLYE, J. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 570-576, 2009.