

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

VANESSA FREITAS BOURSCHEIDT

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE RESÍDUO
VITIVINÍCOLA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA
2015

VANESSA FREITAS BOURSCHEIDT

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE RESÍDUO VITIVINÍCOLA

Proposta de Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentada à disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso 2 do curso de
Engenharia de Alimentos do Câmpus
Medianeira da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Aziza Kamal Genena

MEDIANEIRA
2015

TERMO DE APROVAÇÃO



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Medianeira
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Coordenação Engenharia de Alimentos

VANESSA FREITAS BOURSCHIEDT

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE RESÍDUO VITIVÍCOLA

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como requisito parcial para obtenção de grau de Engenheiro de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira, avaliado pela banca formada pelos professores:

Prof^a. Dr^a. Aziza Kamal Genena
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Daiane Cristina Lenhard
Membro da Banca

Prof^a. Dr^a. Gláucia Cristina Morreira
Membro da Banca

Vanessa Freitas Bourscheidt
Aluna

Medianeira, 06 de novembro de 2015

“A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso (ou programa)”

RESUMO

BOURSCHEIDT, VANESSA FREITAS. **Investigação do potencial antioxidante de resíduo vitivinícola.** Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus - Medianeira.

A constante procura para a redução do desperdício, reaproveitamento de resíduos e preocupações com o meio ambiente resultam na motivação de estudos que buscam a solução destes problemas, além de agregar valor a estes subprodutos. Os resíduos provenientes da produção de vinho somam aproximadamente 30% das uvas utilizadas como matéria-prima, os quais são descartados a céu aberto, nos arredores da indústria, sem receber nenhum tratamento por ser um produto natural e com pouco potencial de contaminação. O objetivo do presente estudo foi investigar o potencial de reaproveitamento de um resíduo vitivinícola como antioxidante natural. O potencial antioxidante do resíduo foi determinado por meio dos métodos DPPH, ABTS^{•+} e β -caroteno/ácido linoleico. Os resultados obtidos indicaram um valor de EC50 de 145,62 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, um potencial antioxidante similar ao do Trolox de acordo com o método do β -caroteno/ácido linoleico e ainda, um TEAC de 159,49 \pm 2,94 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g resíduo}^{-1}$. Concluiu-se, portanto, que o resíduo investigado apresentou ótimo potencial antioxidante, tanto quando comparado à outros antioxidantes naturais como à antioxidantes sintéticos, o que torna sua utilização vantajosa por ser um produto natural que não irá gerar prejuízos à saúde, irá auxiliar na preservação do meio ambiente, e irá ainda permitir que se agregue valor à um resíduo transformando-o em renda para a indústria de beneficiamento e para as vinícolas.

Palavras-chave: Reaproveitamento de resíduos. Antioxidantes. Valor agregado. *Vitis vinífera*.

ABSTRACT

BOURSCHEIDT, VANESSA FREITAS. **Investigation of antioxidant potential of the wine residue.** Work of Course Conclusion – Course of Food Engineering, Federal Technological University of Paraná– Câmpus - Medianeira.

The constant search to reduce the wasting, the reuse of residues and concerns about the environment result in motivation of studies that seek the solution of these problems besides adding value to these by-products. The residues from wine production add to 30% of the grapes used as raw material, which are disposed in the open sky, outside the industry, without receiving any treatment for being a natural product and with little potential for contamination. The target of this study was to investigate the reuse potential of a wine residue as natural antioxidant. The residue antioxidant potential was determined by the DPPH methods ABTS^{•+} and β -carotene / Linoleic acid. The results showed an EC50 value of 145.62 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, an antioxidant potential similar to that of Trolox according to the method of β -carotene/Linoleic acid and also a TEAC 159.49 \pm 2.94 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g residue}^{-1}$. It was concluded thus, that the investigated residue showed a great antioxidant capacity, both when compared to other natural antioxidants such as synthetic antioxidants, which makes its use advantageous because it is a natural product that will not generate health hazards, it will assist in preserving the environment, and it will still allow them to add value to waste turned into income for the processing industry and the wineries.

Keywords: Reuse of residues. Antioxidants. Added value. *Vitis vinífera*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por guiar meus passos, me conduzir até aqui e por jamais me desamparar durante toda minha vida.

Agradeço imensamente a minha família, meus pais Rudi e Ivanilda, meus irmãos Luan e Willian e meu noivo por todo apoio, e por serem minha base nos momentos de fraqueza, à minha querida mãe por jamais me deixar desistir de lutar por meus sonhos e sempre me incentivar a seguir em frente, à meu estimado pai por todo carinho e apoio financeiro durante toda a graduação.

Agradeço também a minha orientadora de TCC professora Doutora Aziza Kamal Genena, primeiramente por aceitar o convite em me orientar, por repassar-me uma enorme bagagem de conhecimentos, por sempre estar disposta, por atender prontamente todas as minhas necessidades, sanar todas as minhas dúvidas, e por ser um exemplo de pessoa e profissional.

Agradeço a todos os meus professores, por seus ensinamentos, por sua imensa dedicação e acima de tudo por serem bons amigos, certamente lembrar-me-ei de cada um com muito carinho.

Agradeço as minhas amigas, algumas colegas de curso outras de moradia, por serem essas pessoas tão especiais, pois certamente sem elas essa fase da minha vida não seria tão boa, agradeço pela paciência durante as incansáveis horas de estudo, por compartilharem comigo os bons e alguns maus momentos, vocês todas ficaram guardadas pra sempre em minha memória e no meu coração.

E finalmente mais não menos importante agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Medianeira, por acreditar neste projeto e auxiliar com as despesas do mesmo.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO DO VINHO	16
FIGURA 2 - REAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO DO RADICAL DPPH.....	22
FIGURA 3 - (A) ESTRUTURA DO β -CAROTENO, (B) ESTRUTURA DO ÁCIDO LINOLEICO.	23
FIGURA 4 - REAÇÃO DE REDUÇÃO DO ABTS ⁺ • POR AÇÃO DE UM ANTIOXIDANTE.....	24
FIGURA 5 - AMOSTRA DE UVA CONGELADA	26
FIGURA 6 - DESIDRATADOR DE ALIMENTOS.....	27
FIGURA 7 - REAÇÃO DPPH.....	29
FIGURA 8 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO β -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO	30
FIGURA 9 - REAÇÃO ABTS	31
FIGURA 10 - INDICAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DO EC50 A PARTIR DA PLOTAGEM DA CONCENTRAÇÃO DO EXTRATO VERSUS A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO MESMO.	35
FIGURA 11 - VARIAÇÃO DA ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO E PARA O TROLOX.....	36
FIGURA 12- REDUÇÃO DA ABSORBÂNCIA (120 MIN) EM RELAÇÃO À CONCENTRAÇÃO DO RESÍDUO.	37
FIGURA 13- CURVA PADRÃO TROLOX PARA MÉTODO ABTS ^{•+}	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA) PELO MÉTODO DPPH EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE EXTRATO DE RESÍDUO VITIVINÍCOLA.....	34
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	JUSTIFICATIVA	12
3	OBJETIVOS	13
3.1	OBJETIVO GERAL	13
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4.1	UVA	14
4.2	O PROCESSO DE VINIFICAÇÃO	15
4.3	RESÍDUOS	17
4.4	ANTIOXIDANTES	18
4.4.1	Radicais livres	18
4.4.2	Antioxidantes naturais versus antioxidantes sintéticos	19
4.4.3	Potencial antioxidante do resíduo da uva	20
4.5	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE	21
4.5.1.	Atividade sequestrante do radical DPPH	21
4.5.2.	Ação de descoloramento pelo método β -caroteno/ ácido linoleico	22
4.5.3.	Potencial antioxidante pelo método do ABTS	23
5	MATERIAIS E MÉTODOS	25
5.1	REAGENTES QUÍMICOS	25
5.2	AMOSTRA	25
5.3	METODOLOGIA	26
5.3.1	Métodos de secagem e preparo da amostra	26
5.3.1.1	Determinação da umidade	27
5.3.2	Método de extração	27
5.3.3	Métodos de avaliação da atividade antioxidante	28

5.3.3.1	Método DPPH	28
5.3.3.2	Análise pelo método β -caroteno/ácido linoleico	30
5.3.3.3	Análise pelo método ABTS.....	31
5.3.4	Análise estatística	33
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1	UMIDADE DA AMOSTRA UTILIZADA	34
6.2	MÉTODO DPPH	34
6.3	MÉTODO β -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO	36
6.4	ANÁLISE DO MÉTODO ABTS*+	38
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
8	CONCLUSÃO.....	41
9	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

As indústrias de alimentos produzem uma série de resíduos com alto potencial de reuso que, se manuseados corretamente, reduzem os impactos causados ao meio ambiente e minimizam os custos de tratamento. Assim, alguns desses resíduos podem ser utilizados como insumos no processo produtivo e com valor agregado pelo fato de se tratar de um produto natural (SAIDELLES et al., 2012).

O resíduo da produção de vinhos é constituído principalmente por cascas, sementes e engaço de uva, representando este uma quantidade significativa para as agroindústrias que muitas vezes, sem possuir um destino correto, acabam dispondo-o a céu aberto, sendo então um possível contaminante ao meio ambiente (CAMPOS, 2005).

A recuperação destes resíduos representa um grande avanço na manutenção do equilíbrio entre indústria e meio ambiente. Considerando ainda o elevado potencial antioxidante do resíduo da produção de vinhos aliado consequentemente à sua contribuição para o aumento da vida de prateleira de produtos alimentícios, pesquisas são constantemente desenvolvidas para a utilização eficiente dos mesmos (ALONSO et al., 2002).

A oxidação de lipídios insaturados iniciada por radicais livres é uma das principais causas de deterioração da qualidade de alimentos, e, com o intuito de retardá-la ou preveni-la, antioxidantes de origem sintética como: BHA, BHT e Trolox, ou natural são empregados aos alimentos. Há um grande interesse na obtenção de antioxidantes naturais uma vez que os antioxidantes sintéticos têm o seu uso restrito em muitos países, em função de questionamentos quanto à sua inocuidade e seu potencial toxicológico (FERREIRA et al., 2012).

Para a avaliação do potencial antioxidante de compostos e extratos existem diferentes métodos e considera-se fundamental que sejam realizados dois ou mais métodos de avaliação, já que um ensaio apenas não será significativo na afirmação do potencial antioxidante total da amostra (SUCUPIRA et al., 2012). Dentre os métodos para avaliação de potencial antioxidante pode-se citar o método do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), que avalia a capacidade dos antioxidantes presentes no extrato em capturar este radical livre (RUFINO et al., 2007 a). Outro

método utilizado é o do ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) sal diamônio), que mede o potencial antioxidante do extrato em capturar o radical catiônico ABTS. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (RUFINO et al., 2007 b). Ainda há um terceiro método conhecido como β -caroteno/ácido linoleico, que é baseado no retardamento da oxidação (descoloração) do β -caroteno induzida pelos causadores da degradação oxidativa do ácido linoleico (RUFINO et al., 2006).

O presente estudo tem como objetivo, portanto, a avaliação do potencial antioxidante do resíduo resultante do processamento da uva utilizada na produção de vinho (resíduo vitivinícola).

2 JUSTIFICATIVA

O presente estudo justificou-se, primeiramente, pelo fato de promover o reaproveitamento de resíduos resultantes da produção de vinho, com o intuito de minimizar a geração de contaminantes ao meio ambiente.

Adicionalmente, o trabalho foi justificado pelo fato de permitir agregar valor a esse resíduo por meio da obtenção de extratos com considerável potencial antioxidante, os quais, ainda, por serem antioxidantes naturais, podem ser empregados em substituição aos antioxidantes sintéticos em alimentos, com o objetivo de prologar sua vida de prateleira.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antioxidante do extrato obtido a partir do resíduo resultante do processamento da uva na produção de vinho – resíduo vitivinícola.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o preparo da amostra por meio da secagem e posterior moagem da mesma;
- Determinar a umidade inicial da amostra de estudo e o rendimento após a secagem;
- Realizar procedimento de obtenção do extrato.
- Determinar o potencial antioxidante do extrato por meio dos métodos DPPH, ABTS e β -caroteno/ácido linoleico.
- Avaliar, a partir dos resultados obtidos em cada um dos três métodos, a real potencialidade da amostra investigada como antioxidante.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 UVA

Ano a ano a produção de vinhos vem se destacando e, dentre as uvas mais utilizadas nesta atividade, estão as das cultivares *Cabernet Sauvignon*, *Tannat* e *Isabel*. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Vinhos, a produção apenas no estado do Rio Grande do Sul no ano de 2013, foi de 371,45 milhões de litros de vinho, e a produção de uvas processadas neste mesmo estado foi de 73,9 milhões de kg apenas das variedades viníferas (IBRAVIN, 2013).

A uva pertence ao gênero *Vitis*, sendo este o único dentre a família *Vitaceae* que tem valor econômico considerável. Inclui-se neste gênero uvas frescas e secas, bem como as variedades para produção de vinhos. No Brasil as variedades mais cultivadas pertencem à espécie *Vitis vinífera*, para a produção de vinhos finos as variedades tintas mais utilizadas são *Cabernet Sauvignon*, *Merlot*, *Cabernet Franc* e *Tannat*, já as uvas *Isabel* e *Niágara* são as principais variedades rústicas de mesa também utilizadas para o devido fim (EMBRAPA, 2008).

A cultivar *Cabernet Sauvignon* encontra-se em maior quantidade nas regiões sul e sudoeste do Brasil por apresentarem umidade relativa e temperatura adequada para o desenvolvimento da planta. Originária da França, esta variedade adaptou-se bem a região a qual foi introduzida, sendo a uva tinta fina mais utilizada (DETONI; CLEMENTE; FORNARI, 2007).

Esta cultivar apresenta uma brotação e maturação tardia, com ramos novos de porte ereto, com uma produção relativamente média e uma elevada qualidade. A uva apresenta um sabor particular e elevada resistência à podridão do cacho, porém esta é sensível ao dessecamento do cacho. A *Cabernet Sauvignon* destina-se à elaboração de vinho tinto de guarda, o qual requer amadurecimento e envelhecimento, mas também pode ser consumido jovem (RIZZON; MIELI, 2002).

A videira *Tannat* tem como origem a região de Madiran, na França, localização na qual se encontra a maior produção desta cultivar e, ainda, apresenta-se como a principal variedade cultivada no Uruguai, ocupando mais de 30% da área

de vinhedos. Procedente da Argentina ela foi introduzida no Rio Grande do sul em 1971 (ROBERTO et al., 2004).

O vinho elaborado a partir da uva *Tannat* é rico em cor, taninos e extrato seco, tendo assim que envelhecer para que possa ser agradável ao paladar. Uma vez que o vinho fino vem ganhando cada vez mais destaque, a implantação desta cultivar na região norte do Paraná, além de ser uma alternativa para a diversificação de cultivares, torna-se também uma oportunidade de maior rentabilidade (ROBERTO et al., 2004).

É notório que as uvas apresentam um poder antioxidante considerável, e dentre os compostos responsáveis, destacam-se os polifenólicos e os flavonóides (CABRITA; SILVA; LAUREANO, 2003).

4.2 O PROCESSO DE VINIFICAÇÃO

A fabricação de vinhos depende principalmente da variedade da uva utilizada, pois cada cultivar possui características específicas que a tornam uma bebida de qualidade. De forma geral, o fluxograma do processo de produção de vinhos está apresentado na Figura 1.

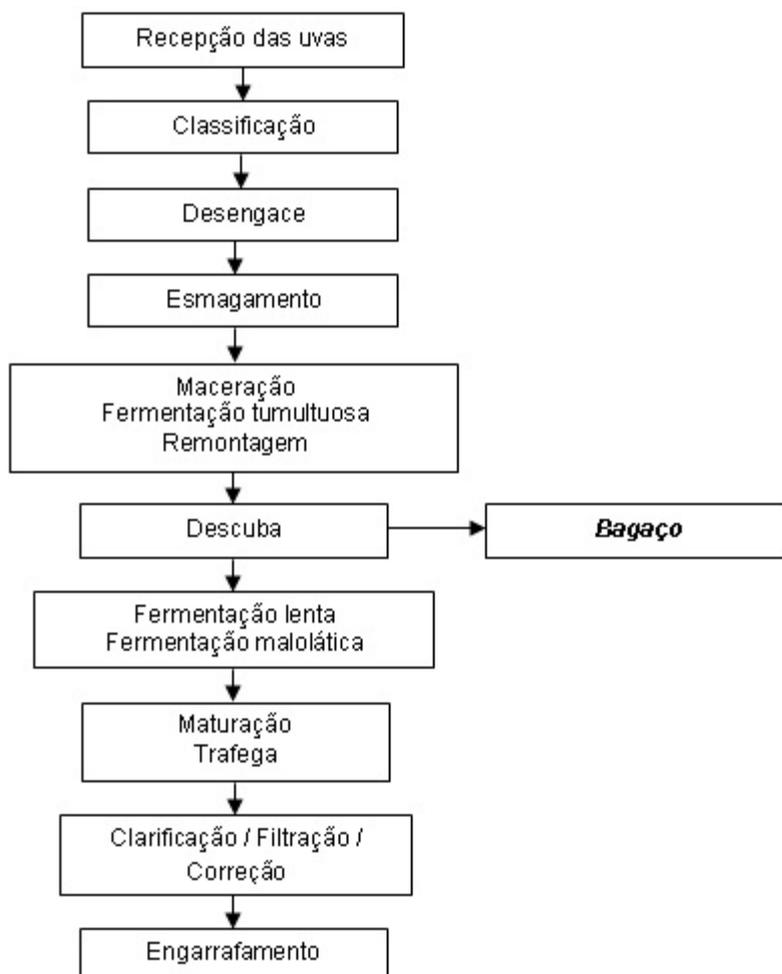


Figura 1 - Fluxograma de obtenção do vinho

Fonte: Oliveira (2010).

Ao chegar na vinícola, as uvas passam por um processo de classificação quanto a sua maturação, sanidade e variedade, sendo então direcionadas para a realização de análises nas quais é determinado o teor de açúcar de cada espécie. Os cachos de uva seguem então para a etapa de desengace para a retirada dos engaços (cabinhos de sustentação), para que assim as uvas possam ser encaminhadas à prensa, na qual, por meio de uma ação mecânica com leve pressão, ocorre o rompimento da casca, e liberação do suco, originando o mosto (OLIVEIRA, 2010).

A fermentação do mosto é o principal processo da vinificação, pois é nesta etapa que ocorrem as reações químicas de transformação dos açúcares em álcoois. No caso dos vinhos tintos as cascas permanecem junto ao mosto durante a fermentação com o intuito de conferir cor, no entanto, estas também irão proporcionar uma maior adstringência ao vinho. Este processo pode ocorrer em

tonéis de madeira ou aço inoxidável, com temperatura controlada entre 25°C a 30°C. Após certo tempo nestes tanques, as cascas formam uma camada espessa que se sobrepõe sobre o mosto, sendo necessária a transferência do líquido da parte inferior para a parte superior, proporcionando uma maior areação ao meio, e por consequência multiplicação das leveduras. Esta fermentação tumultuosa, como é conhecida, dura em média de dois a cinco dias (ACADEMIA DO VINHO, 2015).

Quando ocorre uma queda na fermentação, é realizado o processo de descuba, onde as cascas são separadas do mosto. O que acontece na sequência é a fermentação lenta do mosto, quando os últimos traços de glicose são convertidos em álcool, e, neste momento ocorre também a fermentação malolática que é a transformação do ácido málico em ácido lático, durando aproximadamente entre 20 a 40 dias. Após esse período é realizado então um tratamento a frio para precipitação dos sais, e por consequência a estabilização física do vinho (ACADEMIA DO VINHO, 2015).

A etapa de maturação acontece geralmente em tonéis de madeira, de preferência o carvalho, por um período de seis meses a cinco anos, com o vinho totalmente em repouso para que se processe a clarificação, e desenvolvam-se suas características organolépticas. Durante a maturação ocorrem várias transferências de vinho para diferentes barris (trasfega), para que se possa remover a borra formada, algumas leveduras e outras substâncias que ocasionam características desagradáveis ao vinho. É necessário também que se realize um controle constante do nível de vinho no barril pois o mesmo evapora e propicia a entrada de oxigênio que causará a acetificação do vinho. Após o tempo de maturação o vinho segue para o engarrafamento podendo ainda ser filtrado, adicionado de anidro sulfuroso, ou misturado a outras variedades de vinho para que este se torne bem equilibrado e harmonioso (ACADEMIA DO VINHO, 2015).

4.3 RESÍDUOS

Dentre os diversos resíduos oriundos da agroindústria, os da viticultura tomam grande destaque, pois além de serem excelentes fontes de antioxidantes

ainda representam 30% do volume de uvas utilizadas na produção de vinhos (MAKRIS et al., 2007). Esse resíduo é classificado como o produto resultante da prensagem das uvas frescas fermentadas ou não. Esse volume composto por casca, engaço, semente e borra é, em parte, fornecido aos animais como alimento, porém, por conterem uma quantidade elevada de fibras devem ser triturados e misturados à outros produtos, tornando assim inviável sua aplicação para este fim (FREITAS, 2007). Esse resíduo pode também ser utilizado como adubo, no entanto, a grande maioria destes resíduos é descartada sem nenhum tratamento ocasionando danos ao meio ambiente (MELO et al., 2011) pois as sementes que compõem este resíduo apresentam baixa degradabilidade não sendo convertidas totalmente em matéria orgânica entre uma safra e outra (FREITAS, 2007).

O bagaço da uva é obtido por meio da prensagem da uva e ainda possui grandes quantidades de compostos que não foram extraídos. Pode-se ter dois tipos de bagaço: o bagaço doce, que é aquele que não passa pela fermentação com o mosto e contém, portanto, apenas quantidades de açúcares e mínimas quantidades de álcool; e o outro tipo de bagaço é o tinto, o qual fermenta com o mosto e é proveniente da prensagem das uvas (PERIN; SCHOTT, 2011).

Diante destes fatos, a recuperação dos antioxidantes oriundos destes descartes, além de representar lucro às empresas, ainda auxilia na manutenção do meio ambiente (OLIVEIRA, 2010).

4.4 ANTIOXIDANTES

4.4.1 Radicais livres

Os radicais livres possuem um alto poder reativo, sendo um dos principais causadores de danos irreversíveis as biomoléculas, pois acabam assim por destruir as membranas biológicas e alterar as funções das enzimas (HAMANAKA; CHANDEL, 2010).

Nos processos alimentícios os radicais livres possuem a capacidade de atacar as moléculas de lipídios, carboidratos e proteínas, iniciando o processo de rancificação e conseqüentemente diminuindo a qualidade nutricional e sensorial do alimento (LOULI, et al., 2004). Os antioxidantes podem ser definidos como “qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparado com outros substratos oxidáveis, retarda ou previne significativamente a oxidação deste substrato” (HALLIWELL, 1995).

4.4.2 Antioxidantes naturais *versus* antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes podem ser separados em duas classes, os antioxidantes sintéticos e os naturais. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são o BHA (butil-hidroxi-anisol), o BHT (butil-hidroxi-tolueno), o PG (propil galato) e o TBHQ (butil-hidroquinona terceária). Esses compostos possuem uma estrutura que possibilita a doação de um próton a um radical livre, reagindo com o mesmo e evitando a oxidação. No entanto, estudos toxicológicos indicam que esta classe de antioxidantes sintéticos apresentaram efeitos carcinogênicos em testes realizados com animais em laboratórios, além de apontarem que o BHA induziu a hiperplasia gastrointestinal em roedores (BOTTERWECK et al., 2000). Por este motivo o uso de muitos antioxidantes sintéticos passou a ser limitado e controlado por órgãos responsáveis. Sabendo dos malefícios que estes antioxidantes causam, muitos pesquisadores da área estão dirigindo seus estudos com o objetivo de encontrar antioxidantes naturais que possam substituir os sintéticos (RAMALHO; JORGE, 2006), e que possuam um potencial antioxidante similar aos mesmos (THOMAZINI, 2011).

Os antioxidantes naturais, por sua vez, podem ser extraídos de plantas e vegetais, sendo que os mais utilizados são os tocoferóis e os ácidos fenólicos (SOARES et al., 2008). O tocoferol é um dos antioxidantes mais utilizados para inibir a oxidação de óleos e gorduras comestíveis, e a legislação brasileira permite a utilização de até 300 mg.kg⁻¹ deste em óleos e gorduras, como aditivos com função antioxidante (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos na natureza, mas é nas frutas e vegetais que se encontram em maiores quantidades, e, agindo como antioxidantes recebem grande destaque nos estudos na área (SOARES et al., 2008). Na película e na semente das uvas é que estão concentradas as maiores quantidades desses compostos (PERIN; SCHOTT, 2011).

A uva é fonte de inúmeros compostos fenólicos, e os subprodutos dela podem manter quantidades apreciáveis destes, sendo as antocianinas e os flavonóis os mais estudados devido ao seu teor antioxidante e suas propriedades anti-inflamatórias e anticancerígenas (NEGRO; TOMMASI; MICELI, 2003).

4.4.3 Potencial antioxidante do resíduo da uva

Segundo Rockenbach et al. (2008) pode-se considerar que, mesmo que o bagaço tenha sido obtido a partir da prensagem de uvas e separado do mosto, o conteúdo de compostos fenólicos que permanece no mesmo ainda é elevado quando comparado aos compostos antioxidantes de outras frutas.

Em experimentos desenvolvidos por Melo et al. (2011), os resultados obtidos comprovaram que os resíduos agroindustriais provenientes da vinificação são ricos em compostos bioativos, nos quais os compostos fenólicos analisados em CG-EM obtiveram grande destaque. Esses resíduos possuem alta atividade antioxidante disponível para a aplicação na indústria de alimentos.

Pode-se considerar também que quanto mais intensa a coloração da uva e do seu resíduo, um maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante serão apresentados, juntamente com a quantidade de antocianinas que estão presentes em maior concentração nas uvas escuras (ABE et al., 2007).

4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

A medida da atividade antioxidante não pode ser feita de forma direta, no entanto, ela pode ser realizada a partir dos efeitos que os antioxidantes proporcionam durante a oxidação. Atualmente utilizam-se métodos de análise rápidos e eficientes, baseados em uma etapa da oxidação seguidos por uma medida de resultado (BECKER; NISSEN; SKIBSTED, 2004). Dentre os métodos mais utilizados estão o ABTS, o DPPH, o FRAP (poder antioxidante de redução do ferro), a auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e ainda o método rancimat (PRADO, 2009).

Para a medida da atividade antioxidante em frutas, são recomendados os métodos DPPH e ABTS, devido a estabilidade e rapidez dos mesmos (LEONG; SHUI, 2002) juntamente com a utilização do método β -caroteno/ácido linoleico (ALVES et al., 2010).

4.5.1. Atividade sequestrante do radical DPPH

O DPPH é um radical de coloração roxa, que possui sua absorção máxima na faixa de medição de 515 a 520 nm, sendo a redução do radical acompanhada de acordo com o decréscimo na leitura da absorbância durante a reação (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Quando na presença de um doador de hidrogênio, a intensidade da absorção tende a reduzir e a solução torna-se amarelada (PRADO, 2009), conforme a reação descrita na Figura 2.

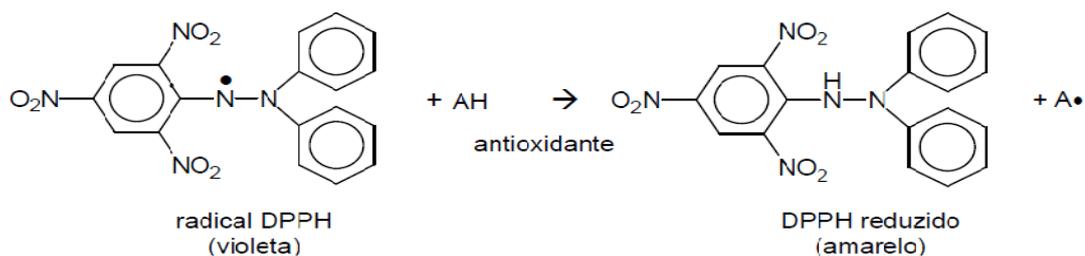


Figura 2 - Reação de descoloração do radical DPPH

Fonte: Molyneux (2004).

Os resultados expressos para este método geralmente são na forma de EC50, que representa a concentração de extrato necessária para reduzir em 50% a concentração do radical DPPH (PRADO, 2009).

4.5.2. Ação de descoloramento pelo método β -caroteno/ ácido linoleico

O β -caroteno é um dos carotenóides mais abundantes que existe, é altamente insolúvel em água, porém com alta solubilidade em ambientes hidrofóbicos e solventes com baixa polaridade. Estudos demonstram que ele é capaz de inibir a auto-oxidação de lipídios em produtos alimentícios (ALVES et al., 2010).

O sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, apresentado na Figura 3, descrito por Marco (1968) e adaptado por Miller (1971), avalia a capacidade de uma substância prevenir a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. A reação é monitorada com o auxílio de um espectrofotômetro observando a perda da coloração do β -caroteno em 470 nm (BROINIZI et al., 2007). Os resultados obtidos geralmente são comparados com antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e trolox, ou naturais, como ácido gálico ou quercetina. Este método tem sido amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante tanto de substâncias isoladas de extratos vegetais, quanto de frutas e bebidas (ALVES et al., 2010).

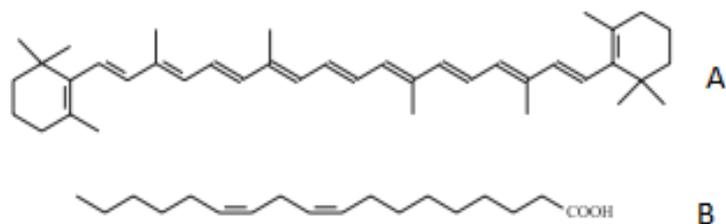


Figura 3 - (A) estrutura do β -caroteno, (B) estrutura do ácido linoleico

Fonte: ALVES et al. (2010).

4.5.3. Potencial antioxidante pelo método do ABTS

É também um dos métodos mais utilizados devido à sua excelente estabilidade. Em algumas condições de análise, o radical $ABTS^{•+}$ origina-se por meio de ligações enzimáticas ou químicas, podendo também ser solubilizado em meios aquosos e orgânicos nos quais a atividade antioxidante pode ser determinada (ARNAO, 2000).

Segundo Kuskoski et al. (2005) este método além de rápido oferece resultados reprodutíveis, além de ser de fácil solubilização permitindo assim tanto análises de natureza lipofílica quanto hidrofílica.

De acordo com Re et al. (1999) esse método é baseado na geração do radical $ABTS^{•+}$ de coloração azul esverdeado, por meio de uma reação que acontece na presença de persulfato de potássio e ABTS, possuindo uma absorção máxima em 645, 734 e 845 nm. Assim quando se adiciona um antioxidante à solução, irá ocorrer uma redução no $ABTS^{•+}$ e conseqüentemente a descoloração da mesma, conforme a reação apresentada na Figura 4.

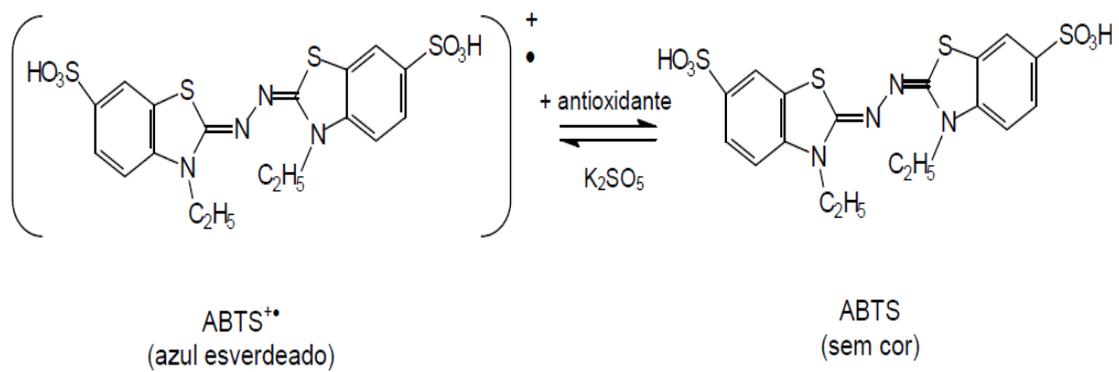


Figura 4 - Reação de redução do ABTS^{•+} por ação de um antioxidante

Fonte: Moon e Shibamoto (2009).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 REAGENTES QUÍMICOS

Os reagentes DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) sal diamônio) e Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico), foram adquiridos na *Sigma-Aldrich*. Todos os demais reagentes: acetona P.A., álcool etílico P.A., álcool metílico P.A. e persulfato de potássio foram de grau analítico.

5.2 AMOSTRA

A amostra do presente estudo (Figura 5), cedida por uma vinícola localizada no município de Toledo-PR, é composta do resíduo de duas diferentes variedades de uva, a *Tannat* e *Cabernet Sauvignon*. Essa amostra (resíduo vitivinícola) compreende a casca, semente, engaço e borra, e foi proveniente da etapa de descuba (Figura 1).

Após sua retirada do mosto, o material foi congelado e transportado em caixa térmica com a finalidade de evitar sua fermentação. As amostras foram mantidas congeladas em freezer (Consul) a uma temperatura inferior a -18 °C, até sua utilização.

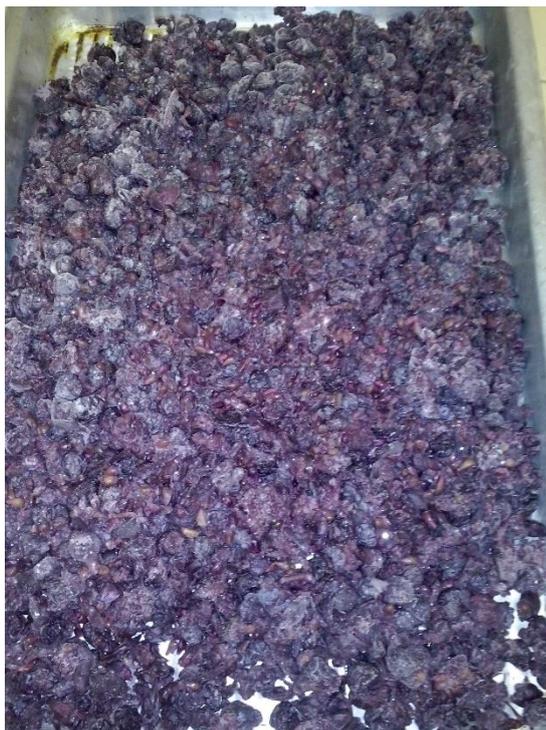


Figura 5 - Amostra de uva congelada

Fonte: Autoria própria.

5.3 METODOLOGIA

5.3.1 Métodos de secagem e preparo da amostra

Inicialmente descongelou-se a amostra em temperatura ambiente, e a mesma foi submetida à secagem em um desidratador de alimentos (*Food Dehydrator, SWEDA*), apresentado na Figura 6, a uma temperatura de aproximadamente 60°C até peso constante. Após a secagem do resíduo, o mesmo foi triturado em moinho de facas tipo Willye (modelo SL-031, SOLAB) e passadas por uma peneira de 20 mesh acoplada ao equipamento. A amostra foi então embalada a vácuo em sacos de PVC e congelada a temperatura de -18°C até a utilização.



Figura 6 - Desidratador de alimentos

Fonte: Autoria própria.

5.3.1.1 Determinação da Umidade

A umidade da amostra in natura foi determinada de acordo com a Equação

(1):

$$\frac{100 \cdot N}{P} = \text{umidade \%} \quad (1)$$

Onde :

N= perda de massa em gramas

P= peso da amostra inicial

5.3.2 Método de extração

Para extração dos antioxidantes do resíduo vitivinícola foi empregado o procedimento proposto por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997) com pequenas

modificações. Uma amostra seca do resíduo (20 g) foi extraída sequencialmente com 40 mL de metanol:água (50:50, v:v) e 40 mL de acetona:água (70:30, v:v) à temperatura ambiente por 60 min em cada caso. Após centrifugação (Cientec, modelo CT-5000R) a 6000 rpm, em temperatura de 25°C durante um período de 15 min, os sobrenadantes de cada caso foram combinados e o volume foi corrigido para 100 mL com água destilada.

5.3.3 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

Avaliar a atividade antioxidante de um sistema nada mais é do que verificar a capacidade que um antioxidante tem de proteger o alimento de uma oxidação (ANTOLOVICH et al., 2002), sendo uma forma de garantia da qualidade do produto.

Os métodos espectrofotométricos utilizados para avaliação do potencial antioxidante da amostra foram o DPPH, ABTS^{•+} e β -caroteno/ácido linoleico. Os experimentos foram conduzidos em espectrofotômetro PerkinElmer modelo Lambda XLS.

5.3.3.1 Método DPPH

De acordo do Rufino et al. (2007) este método é embasado na transferência de elétrons na qual, por ação de um antioxidante, o DPPH de coloração roxa é reduzido a difenil-picril-hidrazina com uma coloração amarela conforme a Figura 7, podendo esta variação ser medida por meio de ensaios espectrofotométricos, e com os resultados obtidos pode-se determinar a atividade antioxidante.

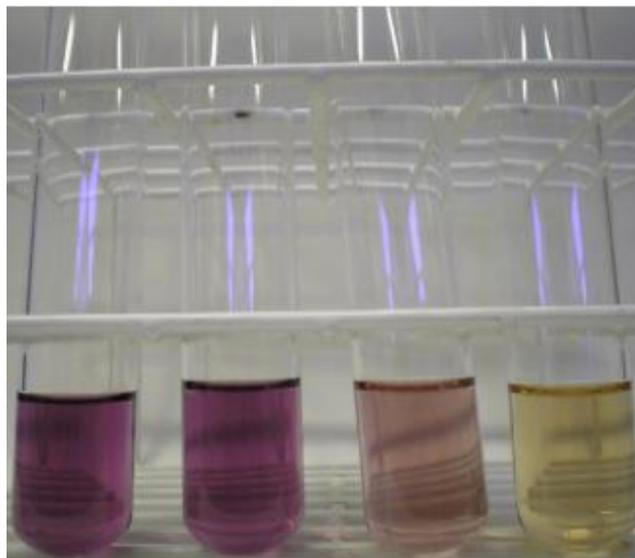


Figura 7 - Reação DPPH
Fonte: Rufino et al. (2007).

A capacidade dos antioxidantes em inibir o radical DPPH foi determinada de acordo com o método proposto por Mensor et al. (2001). A amostra foi diluída para concentrações finais de 100, 200, 300, 500, 1000 e 5000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, em etanol. Um mL da solução etanólica de DPPH (0,3 mM) foi adicionada a 2,5 mL das soluções da amostra nas diferentes concentrações, e foram deixadas para reagir à temperatura ambiente. Após 30 min a absorvância foi medida a 518 nm e convertida em percentagem de atividade antioxidante (AA) pela Equação (2) apresentada a seguir:

$$AA\% = 100 - \left\{ \left[(Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO}) \cdot 100 \right] Abs_{CONTROLE} \right\} \quad (2)$$

Etanol (1,0 mL) adicionado de 2,5 mL da solução da amostra investigada (em suas respectivas concentrações) foi usado como branco. A solução etanólica de DPPH (1,0 mL; 0,3 mM) adicionada de etanol (2,5 mL) foi utilizada como controle negativo. O valor de EC_{50} , definido como a concentração de amostra necessária para obter 50% da máxima AA estimada, foi calculado por regressão linear do gráfico no qual, no eixo da abcissa foram plotadas as concentrações de extrato investigadas e no eixo da ordenada foi plotado o percentual médio de atividade antioxidante dos ensaios feitos em triplicata.

5.3.3.2 Análise pelo método β -caroteno/ácido linoleico

Este método possui como característica a avaliação da atividade de inibição de radicais livres produzidos durante a peroxidação do ácido linoleico. Por meio de medidas espectrofotométricas pode-se observar a descoloração do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico (ALMEIDA et al., 2006), como ilustrado na Figura 8.



Figura 8 - Reação de oxidação β -caroteno/ácido linoleico
Fonte: Rufino et al. (2006).

A capacidade antioxidante da amostra foi estimada pelo método de descoloramento do β -caroteno, de acordo com o procedimento descrito por Rufino et al. (2010). O preparo da solução sistema β -caroteno/ácido linoleico deu-se pela adição de 40 μ L de ácido linoleico, 530 μ L de emulsificante Tween 40 e 50 μ L de β -caroteno (37,25 mM em clorofórmio) a 1 mL de clorofórmio, com posterior homogeneização, evaporação do clorofórmio com oxigenação, e adição de água aerada (tratada com oxigênio por 30 min) até a obtenção de uma absorbância entre 0,6 e 0,7 a 470 nm. Soluções foram preparadas pela mistura de 5 mL da solução sistema β -caroteno/ácido linoleico e 0,4 mL de extrato do resíduo/solução Trolox a diferentes concentrações. A mistura foi mantida em banho de água a 40°C. As

leituras espectrofotométricas foram realizadas a 470 nm, no tempo de 2 min após a mistura e em intervalos de 15 min até 120 min. Os resultados foram expressos em termos de decréscimo da absorbância das amostras em função do tempo.

5.3.3.3 Análise pelo método ABTS

Este método é embasado na habilidade dos antioxidantes realizarem o sequestro do ânion $ABTS^-$, sendo que este é oxidado pelo radical peroxil, para o radical cátion $ABTS^+$ que apresenta uma coloração marcante. Desta maneira a capacidade antioxidante é medida por meio de ensaios espectrofotométricos observando a capacidade do composto no decréscimo da coloração (AWIKA et al., 2003), como ilustrado na Figura 9.

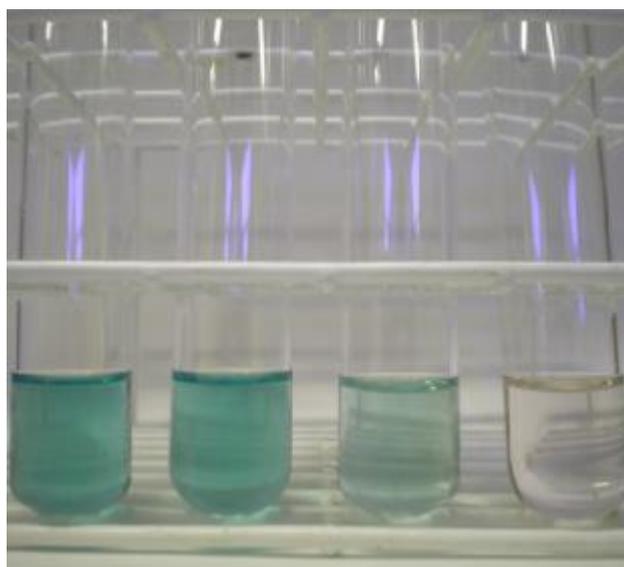


Figura 9 - Reação ABTS
Fonte: Rufino et al. (2007).

A capacidade dos antioxidantes quelarem o radical de $ABTS^{\bullet+}$ foi determinada de acordo com o método proposto por Re et al. (1999). Uma solução estoque de ABTS 7 mM foi preparada pela dissolução de ABTS em água destilada. O radical cátion $ABTS^{\bullet+}$ foi produzido pela reação da solução estoque ABTS (7 mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio (concentração final), e a mistura foi mantida

em temperatura ambiente no escuro por 12 – 16 h antes do uso. A solução ABTS^{•+} foi diluída com etanol até obter-se uma absorbância de 0,70 ($\pm 0,02$) à 734 nm. Para o ensaio, após a adição de 3,0 mL da solução ABTS^{•+} diluída ($Abs_{734\text{ nm}} = 0,70 \pm 0,02$) à 30 μL da amostra em estudo, a absorbância a 734 nm foi medida após 6 min da mistura. Para o branco utilizou-se etanol ao invés da amostra. Para a curva padrão foi utilizado o Trolox, nas concentrações de 300, 500, 1000, 1500 e 2000 μM (em etanol). Todas as determinações foram feitas em triplicata.

A percentagem de inibição da absorbância à 734 nm foi calculada de acordo com a Equação (3) e plotada como uma função da concentração de Trolox.

$$\% \text{ Inibição} = 1 - \left(\frac{Abs_{AMOSTRA}}{Abs_{BRANCO}} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

Soluções da amostra em diferentes concentrações (1 – 25 mg/mL) foram preparadas com etanol, e após a introdução de uma alíquota de 30 μL de cada diluição da amostra no ensaio com o ABTS^{•+}, foi utilizada efetivamente àquela cuja diluição produziu entre 20 e 80% de inibição da absorbância do branco.

A partir da determinação da % Inibição da amostra, o valor de TEAC em μM (*Trolox Equivalente Antioxidant Capacity*) para a amostra foi obtido da equação da curva padrão Trolox, e, a partir da Equação (4) foi obtido o valor final do TEAC ($\mu\text{mol/g}_{AMOSTRA}$).

$$TEAC(\mu\text{mol.g amostra}^{-1}) = \frac{TEAC(\mu\text{M})}{[AMOSTRA](\text{mg.mL}^{-1})} \quad (4)$$

Onde: TEAC (μM) é o valor obtido da equação da curva padrão trolox para a % Inibição da amostra, e, [AMOSTRA] (mg.mL^{-1}) é a concentração da amostra utilizada no ensaio.

5.3.4 Análise estatística

Utilizou-se como ferramenta, para fins comparativos, o *software Statistica 7.0*. Os testes foram realizados em triplicata e expressos em média \pm desvio padrão. As médias entre o controle e as amostras foram comparadas pelo método estatístico *T-student*, ao nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 UMIDADE DA AMOSTRA UTILIZADA

A amostra de estudo *in natura* apresentou uma umidade de 66,63%. Ainda, com este resultado, foi possível determinar o rendimento de resíduo seco a partir do resíduo *in natura*, que foi de 33,34 g.kg⁻¹.

6.2 MÉTODO DPPH

A atividade antioxidante (AA) em função da concentração do extrato do resíduo (bagaço) das uvas *Cabernet Sauvignon* e *Tannat*, por meio do método DPPH, está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Atividade antioxidante (AA) pelo método DPPH em função da concentração de extrato de resíduo vitivinícola

[Extrato] (µg.mL ⁻¹)	AA (%)
100	38,48 ± 0,12
300	64,52 ± 0,58
500	84,71 ± 0,12
1000	90,81 ± 0,46
1500	93,82 ± 1,73
2000	95,79 ± 0,34

A Figura 10 ilustra o gráfico de concentração de extrato em função da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH. O valor do EC50 (concentração do extrato necessária para reduzir 50% do radical DPPH), obtido por regressão linear com um ótimo ajuste (R² superior a 0,99), foi de 145,62 µg.mL⁻¹, ou seja, essa é a concentração de extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de radical DPPH. Quanto menor o valor de EC50, maior o potencial antioxidante do extrato.

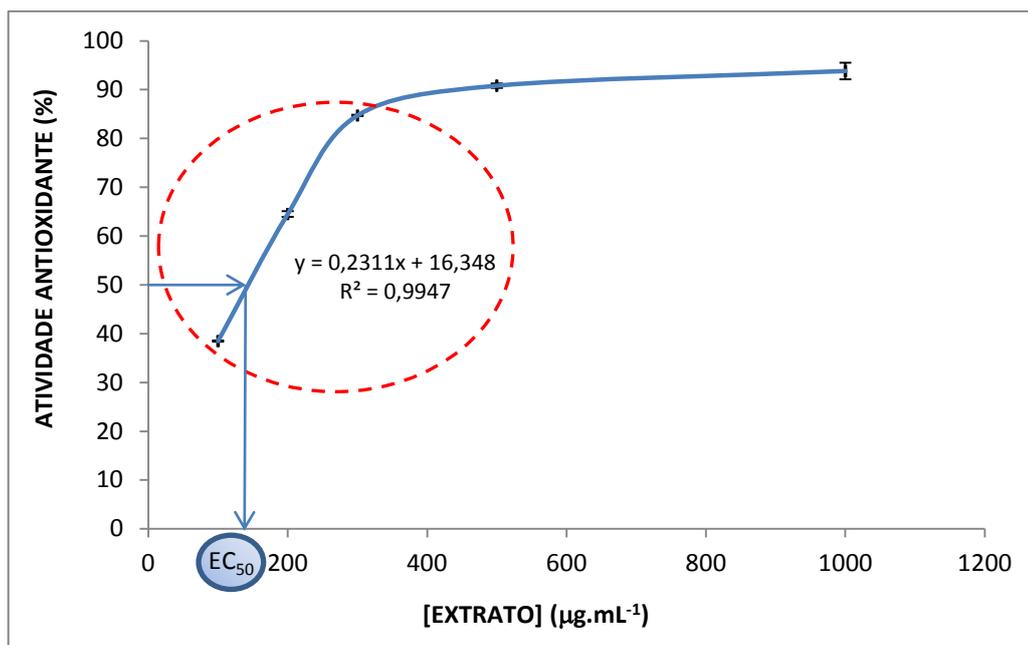


Figura 10 - Indicação da determinação do EC50 a partir da plotagem da concentração do extrato versus a atividade antioxidante do mesmo

De acordo com Campos et al. (2008), valores de EC50 acima de $250\mu\text{g.mL}^{-1}$ indicam baixo potencial antioxidante. Assim, de acordo com o valor do EC50 obtido para o extrato do presente estudo, o mesmo pode ser considerado como um extrato com real potencial antioxidante.

Rubilar et al. (2007) determinaram em seu estudo um valor de EC50 de $200\mu\text{g.mL}^{-1}$ para um extrato obtido de bagaço de *Cabernet Sauvignon* sem tratamento prévio, submetido apenas a trituração com etanol. Já no estudo realizado por Silva (2010), a partir da comparação entre os resíduos de diferentes espécies de uvas, foi constatado que a variedade *Cabernet Sauvignon* apresentou atividade antioxidante elevada em relação às outras amostras testadas, com um EC50 calculado de $87,22\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A comparação dos resultados obtidos por Rubilar et al. (2007) e Silva (2010) sugerem que não somente a variedade da uva interfere no potencial antioxidante da amostra, mas também o período de colheita, forma de cultivo, solo, entre outros fatores (SUN et al., 2001). No presente estudo o resíduo apresentou, de acordo com o EC50 determinado ($145,62\mu\text{g.mL}^{-1}$), melhor potencial antioxidante que aquele encontrado por Rubilar et al. (2007) e pior que o encontrado por Silva (2010), porém, convém ressaltar que o resíduo é composto de duas variedades de uva, a *Cabernet Sauvignon* e a *Tannat*. Pode-se afirmar que, de acordo com os valores de EC50

determinados, os extratos obtidos a partir do resíduo do processamento de uva nos diferentes estudos, apresentam, de uma forma geral, um bom potencial antioxidante de acordo com os limites estabelecidos por Campos et al. (2008).

6.3 MÉTODO β -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

Na Figura 11 estão dispostos os dados de variação de absorbância (470 nm) em função do tempo para as diferentes concentrações de extrato investigadas e também para uma concentração conhecida de trolox, composto antioxidante utilizado como padrão para fins de comparação.

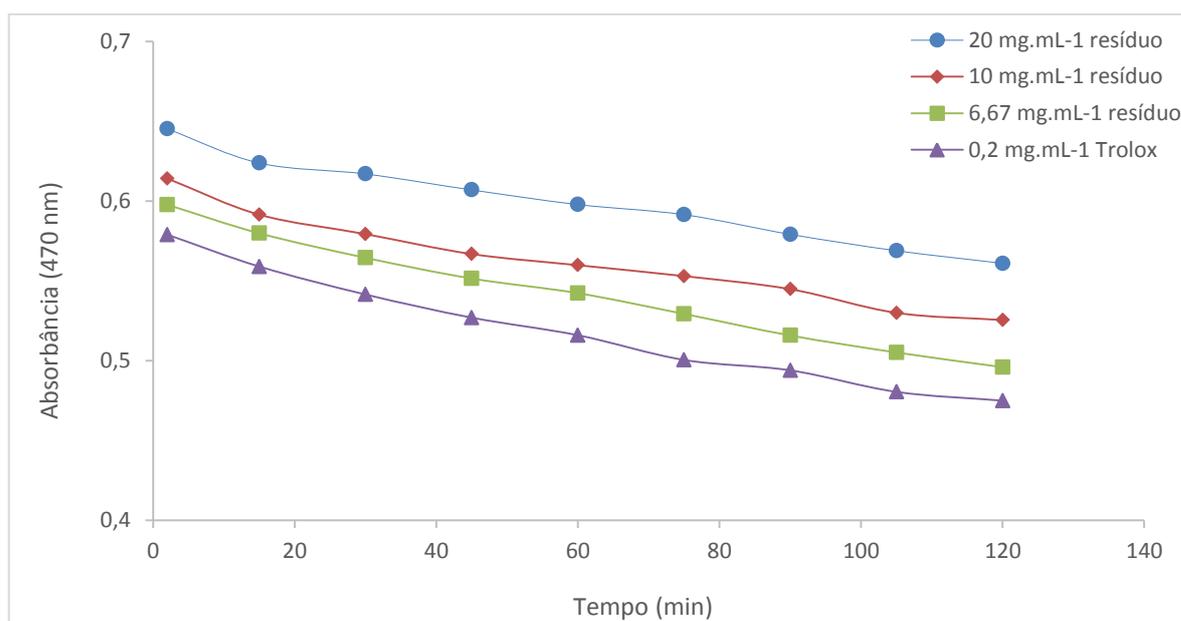


Figura 11 – Variação da absorbância em função do tempo para as diferentes concentrações de extrato e para o trolox

A partir da Figura 11 é possível observar que, quanto maior a concentração de extrato, menor é a redução da absorbância em função do tempo, o que indica a potencialidade do extrato como antioxidante, uma vez que, nesse método, uma menor variação na absorbância do sistema, ou seja, uma menor descoloração do β -caroteno indica uma melhor capacidade antioxidante da amostra.

Para o extrato de resíduo investigado, a avaliação da concentração em função da redução de absorvância no tempo de 120 min (Figura 12) indicou uma relação linear, com ótimo ajuste (R^2 superior a 0,99).

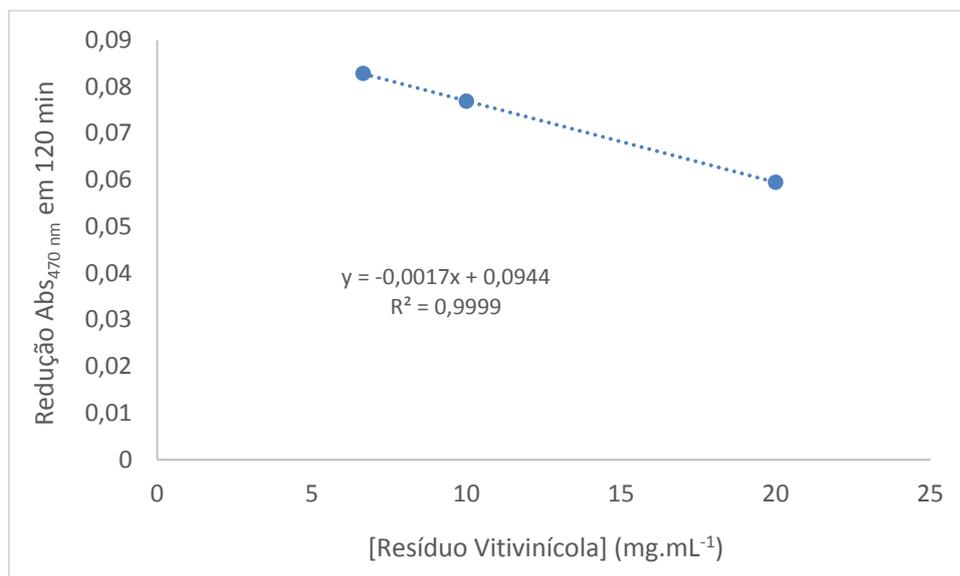


Figura 12- Redução da absorvância (120 min) em relação à concentração do resíduo

O controle avaliado para fins de comparação do resultado foi o antioxidante sintético Trolox na concentração de $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$, o qual apresentou uma redução de absorvância de 0,092 ao final do tempo de 120 min. A partir da equação obtida por regressão linear dos dados apresentados na Figura 12 foi possível estimar qual a redução de absorvância esperada para o extrato de resíduo vitivinícola investigado no presente estudo, se o mesmo fosse utilizado nessa mesma concentração de trolox, ou seja, a $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ e, estimou-se uma redução de absorvância de 0,094.

Por meio do teste *T-student* realizado à um nível de significância de 5% observou-se que não houve diferença significativa na redução de absorvância entre o extrato de resíduo vitivinícola e o trolox utilizados em uma mesma concentração. Dessa maneira, pode-se afirmar que para o método β -caroteno/ácido linoleico o extrato do presente estudo também apresentou-se com considerável potencial antioxidante, e como opção mais viável e segura ao uso de antioxidantes sintéticos tais como o trolox, pelo fato de ser um antioxidante natural, o qual não causa prejuízos a saúde e não possui restrição quanto à quantidade a ser utilizada como ocorre com os antioxidantes sintéticos.

6.4 ANÁLISE DO MÉTODO ABTS^{•+}

A curva padrão obtida para o composto controle (trolox), com a % INIBIÇÃO do ABTS^{•+} em função da concentração de trolox (μM), está apresentada na Figura 13, para a qual foi obtido um ótimo ajuste, com R^2 superior a 0,99.

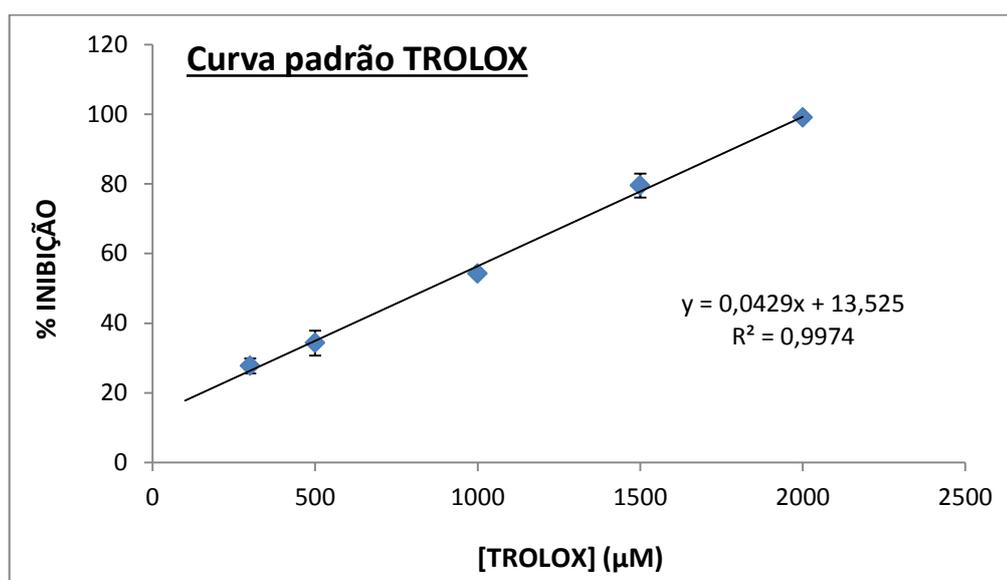


Figura 13- Curva padrão Trolox para método ABTS^{•+}

A concentração do extrato de resíduo vitivinícola que resultou, de acordo com o indicado na metodologia, em uma absorbância na faixa de 20-80% da absorbância do branco, foi a de 5 mg.mL^{-1} , e, portanto, essa foi a concentração utilizada efetivamente para a determinação do TEAC a partir da regressão linear dos dados da Figura 13, que, por sua vez, resultou em um TEAC de $159,49 \pm 2,94 \mu\text{mol Trolox.g resíduo}^{-1}$.

Soares et al. (2008) investigaram os resíduos de duas variedades de uva (Isabel e Niágara) e, a partir do método ABTS para determinação da atividade antioxidante, encontraram valores de TEAC de $89,22 \pm 6,46 \mu\text{mol.100g}^{-1}$ para a uva Isabel e $157,31 \pm 8,15 \mu\text{mol.100g}^{-1}$ para o extrato da uva Niágara, valores inferiores ao encontrado para os resíduo investigado no presente trabalho, composto das uvas *Cabernet Sauvignon* e *Tannat*.

Balestro et al. (2011) determinaram o TEAC em farinhas obtidas a partir dos resíduos de maçã, uva branca e uva escura, e os valores foram de, respectivamente,

24,4 ± 0,1 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ amostra para a maçã, 52,8 ± 0,1 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ amostra para a uva branca e 332,6 ± 0,1 ($\mu\text{mol.g de amostra}^{-1}$) para a uva escura da variedade Bordo. Observa-se que, exceto em comparação ao resíduo da uva da variedade Bordo, o resíduo investigado nesse presente estudo apresentou um melhor potencial antioxidante em termos de TEAC, determinado pelo método ABTS, superior aos outros dois resíduos, de maçã e de uva branca.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do resíduo vitivinícola investigado no presente estudo como um antioxidante, além do seu elevado potencial como tal, apresentou outras vantagens adicionais e importantes que devem ser destacadas. A primeira delas é o fato de que, esse é um resíduo industrial o qual é atualmente descartado pelas indústrias. Portanto, o seu reaproveitamento resulta em benefícios para qualidade do meio ambiente e corrobora com a sua sustentabilidade. Outro ponto importante refere-se ao fato de que esse resíduo pode não somente ser usado como um antioxidante em potencial, mas também, como um antioxidante natural para alimentos em substituição aos antioxidantes sintéticos. Os antioxidantes naturais não apresentam restrições quanto à quantidade de uso como ocorre com os antioxidantes sintéticos e adicionalmente não provocam prejuízos à saúde.

8 CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos pode-se concluir que o resíduo vitivinícola investigado apresentou-se como um potencial e promissor antioxidante, com um EC50 de $145,62 \mu\text{g.mL}^{-1}$, um potencial antioxidante determinado pelo método do β -caroteno similar ao do Trolox a uma mesma concentração, e ainda, um TEAC de $159,49 \pm 2,94 \mu\text{mol Trolox. g resíduo}^{-1}$.

Pode-se dizer, portanto, que o resíduo obtido a partir da produção de vinho apresentou um elevado potencial antioxidante, e que sua aplicação em alimentos pode ser vantajosa, pois além de sua atuação com antioxidante no aumento da vida de prateleira de produtos, pode-se agregar valor à um resíduo industrial, que, conseqüentemente resultaria em uma preservação do meio ambiente, e, ainda, seria utilizado sem causar prejuízos à saúde dos consumidores, por ser um produto natural.

9 REFERÊNCIAS

ACADEMIA DO VINHO. Disponível em:

<<http://www.academiadovinho.com.br>>. Acesso em: 29 jun. 2015.

ABE, Lucile T.; DA MOTA, Renata V.; LAJOLO, Franco M.; GENOVESE, Maria I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, abr.-jun. 2007.

ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando o sistema β -caroteno/Ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.

ALONSO, Ángeles M.; GUILLÉN, Dominico A.; BARROSO, Carmelo G.; PUERTAS, Belén.; GARCIA, Alberto. Determination of Antioxidant Activity of Wine Byproducts and Its Correlation with Polyphenolic Content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5832-5836, 2002.

ALVES, Clayton Q.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; BAHIA, Marcus V.; AGUIAR, Rosane M.; SOBRINHO, José Moreira. Métodos para determinação da atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, Vol. 33, No. 10, 2202-2210, 2010.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2002.

ARNAO, M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v.11, p.419-421, 2000.

AWIKA, J. M. et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, Dec. 2003.

BALESTRO, Eveline A.; SANDRI, Ivana G.; FONTANA, Rosilei C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.2, p.203-209, 2011.

BECKER, E.M.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research Technology**, Heidelberg, v.219, p. 561-671, 2004.

BOTTERRWECK, A.A.M; VERHAGEM, H; GOLDBOHM, R.A; KLEINJANS, J; BRANDT, P.A. van den. Intake of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene and Stomach Cancer Risk: Results from Analyses in the Netherlands Cohort Study. **Food and Chemical Toxicology**, v.38, p.599±605, 2000.

BRAND WILLIAMS, W.;CUVELIER, M.E.; BERSET,C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaften und Technologie**, London, v.28, p. 25-30, 1995.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.4, p.902-908, 2007.

CABRITA, M. J; SILVA, J. R.; LAUREANO, O. **Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos**. Seminário Internacional de Vitivinicultura, Ensenada, México, 2003.

CAMPOS, L. M. A. S., LEIMANN, F. V., PEDROSA, R. C., FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8413-8420, 2008.

CAMPOS, Luanda Maria A. S. de. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): parâmetros de processo e modelagem matemática**, 2005. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Florianópolis, 2005.

DETONI, Alessandra Maria; CLEMENTE, Edmar; FORNARI, Carlinhos. Produtividade e qualidade da uva 'Cabernet Sauvignon' produzida sob cobertura de plástico em cultivo orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 530-534, Dezembro 2007.

EMBRAPA 2008- **o produtor pergunta, a EMBRAPA responde**.

FERREIRA, Luiz Fernando D.; PIROZI, Monica R.; RAMOSE, Afonso M.; PEREIRA, José Antônio M. Modelagem matemática da secagem em camada delgada de bagaço de uva fermentado. **Revista Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 47, n. 6, p.855-863, Junho 2012.

FREITAS, Lisiane. S. **Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos**. 2007. 205 f. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2007.

HALLIWELL, Barry. The characterization of antioxidants. **Food and Chemistry Toxicology**, Kidlington, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HAMANAKA, R. B. e CHANDEL, N. S. 2010. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. **Trends in Biochemical Sciences**. Vol. 35, p. 505-513. 2010.

Instituto Brasileiro do vinho (IBRAVIN 2013).

KUSKOSKI, E. M.; ASSUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FEET, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LARRAURI, J A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n.4, p. 1390–1393, 1997.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An Investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, Barking, v.76, p. 69-75, 2002.

LOULI, V.; RAGOUSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 2, p. 201–208, 2004.

MAKRIS, D.P. et al. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.20, p.125-132, 2007.

MARCO, G. J.A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, n. 9, p 594-598, September 1968.

MELO, Priscilla S.; BERGAMASCHI, Keityane B.; TIVERON, Ana P.; MASSARIOLI, Adna P.; OLDONI, Tatiane L C.; ZANUS, Mauro C.; PEREIRA, Giuliano E.; ALENCAR, Severino M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.6, p.1088-1093, jun, 2011.

MENSOR, Luciana L.; MENEZES, Fábio S.; LEITÃO, Gilda G.; REIS, Alexandre S.; SANTOS, Tereza C.; COUBE, Cintia S.; LEITÃO, Suzana G. **Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method.** *Phytotherapy Research*, v. 15, n. [s/n], p. 127-130, 2001.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, n. 2, p. 91-91, February 1971.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Food Science and Technology**, v.26, n.2, p. 211-219, Wiltshire 2004.

MOON, J.K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and Food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1655-1666, Easton 2009.

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

OLIVEIRA, Daniela Alves de. **Caracterização fitoquímica e biológica de Extratos obtidos de bagaço de uva (vitis vinifera) das variedades Merlot e syrah.** 2010. 211f. Dissertação- Curso de pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PERIN, Ellen Cristina; SCHOTT, Igor Bulsing. **Utilização de farinha extraída de resíduos de uva na elaboração de biscoito tipo cookie**, 2011. Trabalho de Conclusão de Curso- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão 2011.

PRADO, Adna.; **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais.** 2009. 107 f. Dissertação- Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba 2009.

RAMALHO, Valéria C; JORGE, Neusa. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, Vol. 29, No. 4, 755-760, 2006.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26(9/10), 1231–1237, 1999.

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

ROBERTO, S. R.; YAMASHITA, F.; BRENNER, E. A.; SATO, J.; SANTOS, C. E.; GENTA, W. Maturation curves of 'Tannat' grape (*Vitis vinifera* L.) for red winemaking. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 3 p. 173-178, jul./set. 2004.

ROCKENBACH, Ismael I.; SILVA, Graciela L. da.; RODRIGUES, Eliseu.; KUSKOSKI, Eugenia Marta.; FETT, Roseane. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, dez. 2008.

RUBILAR, M.; PINELO, M.; SHENE, C.; SINEIRO, J.; NUÑEZ, M. J. Separation and HPLC-MS. Identification of Phenolic Antioxidants from Agricultural Residues: Almond Hulls and Grape Pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 10101-10109, 2007.

RUFINO, Maria. S. M.; ALVES, Ricardo. E.; BRITO, Edy. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara.; FULGENCIO, Diego S.C.; FILHO, Jorge M. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 121, 996–1002, 2010.

RUFINO, Maria do S. M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S.; MORAIS, Selene M. De.; SAMPAIO, Caroline de G.; PERES-JIMENEZ, Jara.; FULGENCIO, Diego S. C. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. ISSN 1679-6535 Julho, 2007 Fortaleza, CE (a).

RUFINO, Maria do S. M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S.; MORAIS, Selene M. De.; SAMPAIO, Caroline de G.; PERES-JIMENEZ, Jara.; FULGENCIO, Diego S. C. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS** ⁺. ISSN 1679-6535 Julho, 2007 Fortaleza, CE (b).

RUFINO, Maria do S. M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S.; FILHO, Jorge M.; MOREIRA, Ana V. B. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas no Sistema β -caroteno/Ácido Linoleico**. ISSN 1679-6535 Dezembro, 2006 Fortaleza, CE.

SAIDELLES, Ana Paula Fleig.; SENNA, Ana Júlia Teixeira.; KIRCHNER, Rosane.; BITENCOURT, Gabriele. Gestão de resíduos sólidos na indústria de beneficiamento de arroz. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. Santa Maria, ed. especial, v. 5, n. 5, 2012. Disponível em: <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/search/results>>. Acesso em: 15 Nov. 2014.

SILVA, Anna D.F. **Análise de compostos fenólicos e potencial antioxidante de amostras comerciais de sucos de uva e produtos derivados de uvas vinícolas**. 2010. 102 f. Dissertação- Programa de pós-graduação em ciências e tecnologia de alimentos. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, Paraíba 2010.

SOARES, Marcia.; WELTER, Lucas.; KUSKOSKI, Eugenia Marta.; GONZAGA, Luciano.; FETT, Roseane. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de Uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 059-064, Março 2008.

SUCUPIRA, Natália R.; SILVA, Aline B da.; PEREIRA, Gerlândia.; COSTA, Juliana N da. Métodos para determinação da atividade antioxidante em frutos. **Revista Unopor Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, 2012.

SUN, B.; SPRANGER, I.; ROQUE-DO-VALE, F.; LEANDRO, C.; BELCHIOR, P. Effect of different winemaking technologies on phenolic composition in tinta miúda red wines. **J agric. Food chem**, V.49, N.12, P.5809-16. DEC 2001.

THOMAZINI, Maria H; KLAGENBOECH, Rafaeli; MOTTA, Claudiana V; LENZ, Guilherme F; ZARA, Ricardo F. Antioxidantes sintéticos e naturais aplicados em óleo vegetal sob condições de oxidação. **Anais do III ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR, campus Toledo, 2011.