

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL COORDENAÇÃO
DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

BRUNO ALVES DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR DIFERENTES
MÉTODOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO
2018

BRUNO ALVES DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR DIFERENTES
MÉTODOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR *Campus* Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador: Dr. Clayton Antunes Martin

TOLEDO
2018

**TERMO DE APROVAÇÃO
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

BRUNO ALVES DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR DIFERENTES
MÉTODOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Campus Toledo*, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

Profº Dr. Clayton Antunes Martin
Orientador

Profª Ms. Camila Moresco
Avaliadora

Profº Dr. Ricardo Fiori Zara
Avaliador

Toledo, junho de 2018

Em memória de Emidio Soares dos Santos, homem íntegro que quando em vida, apoiou, incentivou e auxiliou minha caminhada para que fosse possível chegar até aqui.

RESUMO

A produção de uvas é uma atividade que vem aumentando cada vez mais no Brasil e no mundo, sendo grande parte das uvas destinadas a produção de vinhos e sucos. Com isso uma grande quantidade de resíduos orgânicos é gerada, tais como o bagaço e as sementes, originando graves problemas econômicos e ambientais. Este trabalho apresenta a proposta de dar um fim melhor a esse resíduo, extraíndo o óleo das sementes de uva, que pode ser utilizado como matéria-prima em diversos segmentos industriais. O objetivo deste trabalho foi extrair o óleo da semente de uva utilizando o método de extração a frio de Kates e o método de extração com solvente quente de Soxhlet, utilizando os solventes hexano e acetato de etila e também a de mistura dos solventes, bem como avaliar a atividade antioxidante pelo método ABTS. O método de extração de Soxhlet apresentou o maior rendimento de óleo na condição de mistura dos solventes, com um rendimento médio de 15,72%, já a extração pelo método de Kates apresentou um rendimento médio de 10,46 %. A melhor atividade antioxidante pelo foi observada no óleo extraído pelo método a frio de Kates, com um resultado médio de 6,58 μmol de equivalente Trolox g^{-1} e a menor atividade foi constatada no óleo extraído pelo método de Soxhlet no tempo de 8 horas cujo o valor foi 2,94 μmol equivalente ao Trolox g^{-1} . Além disso, foi realizada uma análise do perfil de ácidos graxos onde pode-se constatar a presença dos ácidos graxos linoleico (72,26 %), oleico (17,52 %), palmítico (7,21 %) e o esteárico (3,36 %). Contudo, o método que apresentou a melhor extração de óleo, obteve a menor atividade antioxidante, além disso o óleo extraído demonstrou ser uma boa fonte de de ácido linoleico, um ácido graxo ômega-6, que é muito importante para a saúde humana.

Palavras-chave: ABTS. Ácidos graxos. Óleo bruto.

ABSTRACT

The production of grapes is an activity that is increasing in Brazil and in the world, most of the grapes are destined to the production of wines and juices, generating a great amount of organic residues that cause serious economic and environmental problems, however there are few alternatives for the use of such waste. This work presents the proposal to give a better end to this residue by extracting the oil from the grape seeds, which can be used as raw material in several industrial segments. The objective of this work was to extract the oil of the grape seed using the cold extraction method of Kates and the method of hot solvent extraction of Soxhlet, using the hexane and ethyl acetate solvents and the solvent mixing condition as well how to evaluate the antioxidant activity by the ABTS method. The method of extraction of Soxhlet presented the highest oil yield in the solvent mixing condition, with an average yield of 15.72%, whereas extraction by the Kates method presented an average yield of 10.46%. The best antioxidant activity was observed in the oil extracted by the cold method of Kates, with an average result of 6.58 μmol equivalent of Trolox g^{-1} and the lowest activity was recorded in the oil extracted by the Soxhlet method in the time of 8 hours being on average 2.94 μmol equivalent of Trolox g^{-1} . In addition, an analysis of the fatty acid profile was carried out, where one can find the presence of fatty acids how they linoleic (72.26%), oleic (17.52%), palmitic (7.21%) and stearic acid 36%). However, the method that presented the best oil extraction, obtained the lowest antioxidant activity, in addition, the extracted oil proved to be a good source of linoleic acid, an omega-6 fatty acid, which is very important for human health.

Keywords: ABTS. Fatty acids. Crude oil.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições utilizadas para a extração pelo método de Soxhlet.....	17
Tabela 2 - Rendimento de extração de óleo pelo método de Soxhlet.....	22
Tabela 3 - Resultados ANOVA para as diferentes extrações de óleo de semente de uva.	23
Tabela 4 - Composição de Ácidos Graxos (%) da fração lipídica do óleo da semente de uva Bordô.	27
Tabela 5 - Atividade antioxidante média dos óleos de semente de uva pelo método ABTS.....	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Objetivos	10
1.1.1	Objetivo geral	10
1.1.2	Objetivos específicos	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	Uva	11
2.2	Ácidos graxos	12
2.3	Óleo de semente de uva	13
2.4	Extração por Soxhlet	14
2.5	Extração por Kates	15
2.6	Atividade antioxidante	15
2.6.1	O método ABTS	15
2.7	Planejamento fatorial	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1	Obtenção e armazenamento das sementes	17
3.2	Processamento das sementes	17
3.3	Extração do óleo a quente por Soxhlet	17
3.4	Extração do óleo a frio por Kates	18
3.5	Determinação da composição de ácidos graxos	18
3.5.1	Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos	18
3.5.2	Análise cromatográfica	19
3.6	Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS	19
3.7	Análise estatística	21

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1	Extração com solvente à quente	22
4.2	Extração com solvente a frio	25
4.3	Determinação da composição de ácidos graxos do óleo de semente de uva..	26
4.4	Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS.	27
4	CONCLUSÃO.....	29
5	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A vitivinicultura é uma atividade importante em todo o mundo e nas últimas décadas este setor tem sido valorizado por países que não são produtores tradicionais. A viticultura brasileira ocupa, atualmente, área de 79.094 mil hectares sendo que as regiões Sul e Nordeste tem se destacado por sua alta produção que passa de 2 milhões de toneladas por ano. Na região Sul, o principal estado produtor é o Rio Grande do Sul (CAMARGO et. al. 2011; MELLO 2016).

A maior parte da uva colhida no país é destinada a produção de vinho ou suco de uva (MELLO 2016). A quantidade de resíduos orgânicos gerados pelas indústrias de sucos e vinhos apresentam graves problemas de armazenamento, transformação, ou de eliminação, em termos econômicos e ambientais, havendo ainda poucas alternativas para a utilização desses resíduos, a sua reutilização poderia ser um grande avanço na manutenção do equilíbrio ambiental. Nos dias atuais existe um interesse crescente na exploração dos resíduos gerados pela indústria do vinho que na maioria das vezes são somente descartados (ROCKENBACH 2008). A produção do óleo da semente de uva é uma boa alternativa de uso para o resíduo gerado pela indústria vinícola. Este óleo é de boa qualidade podendo ser utilizado como matéria prima na indústria de alimentos, cosméticos e tintas (FREITAS, 2007).

Nas últimas décadas estudos têm sido realizados para a extração e análise de óleo. Estes trabalhos demonstraram que os ácidos graxos presentes no óleo de sementes de uvas são compostos em grande parte por ácido linoleico, ácido oleico, ácido palmítico e o esteárico (ROCKENBACH, 2010) que são responsáveis pela regeneração e manutenção do tecido cutâneo. Devido a esses ácidos graxos, o óleo da semente de uva pode agir aumentando os níveis plasmáticos da lipoproteína de

alta densidade (HDL-C) e diminuindo a lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), um efeito que acaba minimizando os riscos de doenças vasculares e ajudando na prevenção da hipertensão previne a hipertensão, obesidade e fortalecendo o sistema imunológico, sendo um excelente aliado nas dietas. (LEHNINGER, 2007).

Baseando-se nisso, este estudo apresentou uma proposta de estudo da extração do óleo da semente da uva pelos métodos com solvente à quente por Soxhlet (1879) e a frio por Kates (1972), buscando determinar qual o método é mais eficiente para a extração do óleo deste tipo de semente, tendo em vista que além de reaproveitar o resíduo dando um destino mais nobre, pode ser uma alternativa rentável para a indústria vinícola. Além disso, foi avaliado antioxidante dos óleos extraídos por ambos os métodos, e que devido a presença de substâncias bioativas possa ser potencialmente utilizado na indústria de alimentos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Extrair o óleo de sementes de uva bordô (*Vitis labrusca*) por diferentes métodos e posteriormente avaliar a atividade antioxidante do óleo extraído.

1.1.2 Objetivos específicos

Extrair o óleo das sementes de uva da espécie *Vitis labrusca* que passaram pelo processo de fermentação, utilizando os métodos com solvente a quente de Soxhlet (1879), e com solvente a frio de Kates (1972).

Avaliar a atividade antioxidante dos óleos extraídos pelo método ABTS e realizar a comparação da atividade antioxidante entre os diferentes métodos de extração.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uva

A videira é uma das mais antigas plantas cultivadas pelo homem. Ela surgiu a milhões de anos antes mesmo do aparecimento do homem, segundo pesquisadores, provavelmente na atual Groenlândia. A partir daí as videiras primitivas se dispersaram principalmente para as regiões da américo-asiática e eurasiática (SATO, 2000).

A uva possui em sua composição química a presença de antioxidantes naturais, tais como os polifenóis, sendo estes os principais compostos fenólicos presentes na fruta, possui também a presença de flavonoides, de estilbenos (resveratrol), dos ácidos fenólicos e uma variedade de taninos (PIRES, 2010). A composição destas substâncias é influenciada pela variedade da uva, pelas condições climáticas, região geográfica onde é plantada e pela viticultura utilizada. Além disso esses compostos fenólicos têm diversos efeitos positivos para a saúde humana (FLAMINI et al, 2013).

Um dos compostos fenólicos mais importantes na uva é o resveratrol, que é encontrado na casca da uva e apresenta uma grande atividade biológica, possuindo ação comprovada em casos de doenças do coração e contribuindo para a diminuição dos níveis de colesterol (LDL), apresenta também ação anticâncer, na qual ele é capaz de reter a multiplicação das células, evitando que células malignas se espalhem formando tumores (MORAIS et al. 2010; FLAMINI, 2013).

A vitivinicultura é economicamente importante no mundo globalizado e nas últimas décadas este setor tem sido valorizado por países que não são tradicionais produtores. De acordo com a Organização Mundial da Vinha e do Vinho a área mundial de uvas em 2016 foi de 7,5 milhões de hectares com uma produção de 7,8 milhões de toneladas de uva em todo o mundo (OIV, 2017).

No Brasil, duas regiões se destacam na produção de uva, sendo a região sul com destaque para o estado do Rio Grande do Sul por contribuir, em média, com 777 milhões de quilos de uva por ano e a região nordeste do Brasil com os polos de frutas

de Petrolina em Pernambuco e de Juazeiro na Bahia, que são responsáveis por 95% das exportações nacionais de uvas finas de mesa (BRASIL, 2015).

O consumo de uva de mesa no Brasil está concentrado basicamente na região Sudeste, que consome aproximadamente 46% da oferta nacional, tendo São Paulo como o principal consumidor, enquanto a região Nordeste responde por apenas 23,7% (EMBRAPA, 2015).

De acordo com os dados estatísticos do IBGE, em 2015 o suco de uva apresentou um aumento na produção de 9,63% com relação ao ano de 2014, sendo que o maior aumento foi no suco de uva integral, cerca de 20,54%. A produção de suco concentrado também aumentou em 6,79% com relação a 2014. É importante ressaltar também o aumento da produção de mosto simples em 75,24%. Este pode ser utilizado tanto para produção de vinhos quanto para a produção de sucos e outros derivados (MELLO, 2016).

2.2 Ácidos graxos

Os lipídios biológicos são compostos quimicamente diferentes uns dos outros, mas tem uma insolubilidade em água que é comum entre todos eles. Suas funções biológicas são tão importantes quanto as suas características. Gorduras e óleos são fontes importantes de armazenamento de energia em muitos organismos vivos e são derivados dos ácidos graxos. Eles são derivados de hidrocarbonetos e possui o mesmo estado oxidativo dos hidrocarbonetos de origem fóssil, o que significa que eles são altamente reduzidos (AOCS, 1990).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias que variam de 4 a 36 átomos de carbono. Em alguns destes ácidos graxos, a cadeia não possui nenhuma ligação dupla, sendo chamada de cadeia saturada. Já as cadeias insaturadas apresentam uma ou mais ligações duplas. A nomenclatura dos ácidos graxos é simples e se dá pelo número de átomos de carbono presentes na cadeia e pelo número de ligações duplas. Em sua maior ocorrência na natureza, os ácidos graxos apresentam um número par de átomos de carbono (AOCS, 1990).

Alguns ácidos graxos são essenciais para a saúde humana, especialmente os ácidos graxos linoleico, linolênico e oleico não são sintetizados naturalmente e precisam ser ingeridos através da dieta, encontrando-se principalmente na composição de células vegetais (Specher, 1981). As estruturas químicas desses ácidos graxos estão dispostas na figura 1.

compostos antioxidantes (PRASAIN et al., 2009). De acordo com os autores MENDES e ARAÚJO, (2006) a quantidade de óleo presente na semente de uva é influenciada pela da variedade e pela safra, estando entre 10 a 16 % da massa seca das sementes.

Os ácidos graxos encontrados em maior quantidade no óleo de semente de uva são o linoleico (18:2n-6) entre 51 a 60 %, o oleico (18:1n-9) 9 a 16%, o palmítico (16:0) 6 a 8 % e o esteárico (18:0) 3 a 4 %. A composição em ácidos graxos do óleo das sementes de uva é similar à de óleos como açafrão, girassol, soja, milho e semente de algodão (ROCKENBACH *et al*, 2010).

A presença de alguns compostos bioativos nesse óleo, tais como polifenóis o torna resistente à oxidação (RIBEIRO; MANFROI, 2010). Além disso alguns estudos relatam, que proantocianidinas presentes no óleo, podem inibir a metástases em células carcinogênicas, prevenindo o câncer de mama e cólon (LUTHER et al., 2007).

O óleo de semente de uva também pode ser usado para o tratamento de pele seca e proteção antienvhecimento, além disso o óleo ajuda a balancear o pH da pele, e a combater irritações (MENDES e ARAÚJO, 2006).

2.4 Extração por Soxhlet

Os processos recentes de extração de óleos à base de solventes consistem na extração por sucessivas lavagens com solventes orgânicos como hexano e éter de petróleo. Apesar de existirem estudos de extração de óleo de sementes com éter de petróleo, o solvente mais utilizado é o hexano, sendo este um hidrocarboneto derivado do petróleo, miscível com o óleo e imiscível com a água. Em um extrator de Soxhlet, o solvente é aquecido até ao seu ponto de ebulição, gerando vapores que sobem até ao condensador, onde o vapor sofre condensação, caindo gota a gota sobre o cartucho de celulose que contém a amostra. A solubilização do óleo no solvente ocorre por dissolução pelo contato entre as células vegetais destruídas durante a redução de dimensões ou por difusão, onde o óleo atravessa lentamente as paredes semipermeáveis das células intactas para o meio líquido. Quando o nível de líquido que contém o material extraído atinge o mesmo nível do topo do sifão, é escoado até ao balão de extração, onde se encontrava o solvente inicial. No final do processo, o material extraído é recuperado pela remoção do solvente por evaporação (SOUSA, 2012).

2.5 Extração por Kates

Esse método surgiu como uma adaptação ao método proposto por Bligh e Dyer (1959) de extração lipídica a frio utilizando os solventes metanol-clorofórmio na razão 2:1 v/v, sendo este desenvolvido por Kates (1972) para tecidos vegetais, como raízes, folhas e sementes, devido à grande quantidade de enzimas degradativas presentes.

Nesse método é necessário determinar o teor de umidade, pois assim como no de Bligh e Dyer (1959) possui restrição com relação a umidade da amostra que deve se de até 10 % de umidade. Além disso alguns trabalhos mostraram que, dependendo do tipo de tecido que será analisado, a escolha do método de extração tem influência significativa no resultado final (SHAHIDI, F. e WANASUNDARA, 1998). Sendo assim, baseia-se no mesmo princípio de extração dos lipídios totais utilizando os solventes metanol-clorofórmio na razão 2:1 v/v, porém são realizadas mais etapas de lavagens com os solventes.

2.6 Atividade antioxidante

Existem diversas técnicas empregadas para a determinação da atividade antioxidante, dentre os métodos mais utilizados temos o DPPH, FRAP e o ABTS. Atualmente percebe-se um crescente aumento no uso da avaliação da atividade antioxidante em alimentos, cosméticos, fármacos e produtos naturais. Este interesse começou na década de 1990, quando passaram a ser conhecidos os benefícios de muitos produtos naturais na saúde humana devido ao seu poder antioxidante (TOMEI; SALVADOR 2007).

2.6.1 O método ABTS

Esse método avalia a atividade antioxidante através da estabilização do radical ABTS, que resulta na supressão da sua cor, quando na presença de substâncias antioxidantes. Este radical apresenta absorvância máxima no comprimento de onda de 750 nm (VEDANA, 2008).

O método de determinação da atividade antioxidante ABTS pode ser utilizado para soluções que diferem em pH, é solúvel em solventes orgânicos e aquosos, e como não se afeta por soluções iônicas o ABTS pode ser utilizado também para as análises de capacidade antioxidante de extratos e fluidos corpóreos, tanto hidrofílicos como lipofílicos. É o um dos métodos para análise de antioxidantes mais simples viável economicamente (AWIKA et al, 2003).

Quando utiliza-se o padrão Trolox para expressar os resultados, a técnica ABTS também é conhecida como equivalente de Trolox. É um método de captura de radicais livres, porém nesse caso o ABTS é um cátion, logo é mais chamado de cátion radicalar. É fácil de realizar, já que se a amostra analisada reduzir o cátion ABTS a seu estado neutro, ela possui atividade antioxidante (BOROSKI, et al. 2015).

Esse método é a base dos métodos de análise antioxidante espectrofotométricos, principalmente em compostos puros. A técnica ABTS melhorada para a geração ABTS⁺, descreve que há o envolvimento de produção direta do cromóforo ABTS⁺ azul/verde através da reação entre ABTS e persulfato de potássio (RE et al, 1999).

2.7 Planejamento fatorial

Um dos maiores problemas para quem faz experimentos é determinar a influência de uma ou mais variáveis de interesse. No planejamento dos experimentos, o primeiro passo é determinar os fatores de interesse, podem ser eles qualitativos como um catalizador ou quantitativo como temperatura. Já as respostas são as variáveis que se pretende analisar, se teve influência ou não na variação dos fatores escolhidos. Depois destas etapas o passo é determinar o objetivo do trabalho, para escolher o planejamento fatorial adequado (NETO, 2010).

Para estudar o efeito de qualquer fator sobre dada resposta, precisamos manipulá-la e observar o resultado que essa variação produz sobre a resposta. Para isso precisamos ter fatores em dois níveis ou mais. Tais níveis podemos chamar de k. Os planejamentos mais simples são os 2², pois precisam de menos fatores ao ser analisado, quando acrescentamos mais um fator, o planejamento fatorial completo passa a ter 8 ensaios ou planejamento 2³ (NETO, 2010).

Neste tipo de planejamento fatorial, os níveis são costumeiramente codificados com os sinais (+) e (-). A atribuição aos níveis superiores ou inferiores se dá de forma arbitrária e não interfere nos experimentos ou interpretação das respostas. Estes sinais também permitem esquematizar estas variáveis na forma de matrizes de planejamento, podendo assim, calcular a influência das mesmas e das suas interações no sistema (NETO, 2010).

Num planejamento fatorial, as réplicas ou repetições de experimentos são de fundamental importância e servem para determinar o erro experimental na resposta em estudo ou a reprodutibilidade do esquema (CUNICO, 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção e armazenamento das sementes

As sementes de uva bordô foram obtidas em uma vinícola localizada no interior da cidade de Quatro Pontes – PR. As sementes foram separadas das cascas mergulhando-as em água, como o material de interesse é mais denso, ele ficou no fundo do recipiente facilitando a sua coleta. Depois de separadas, as sementes foram lavadas e secas ao sol para retirar a umidade e posteriormente foram peneiradas para separar quaisquer resquícios de casca que haviam sobrado.

3.2 Processamento das sementes

As sementes já secas foram trituradas em um moinho de facas, com uma peneira de abertura de aproximadamente 0,36 mm de diâmetro.

3.3 Extração do óleo a quente por Soxhlet

A extração por Soxhlet foi baseada na metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005), utilizando os solventes hexano, acetato de etila e a mistura hexano:acetato de etila (1:1, v/v), em extração contínua nos tempos de 4, 6 e 8 horas, sendo as extrações realizadas na temperatura de ebulição do solvente, conforme a Tabela 1. Para as extrações foram utilizados cerca de 5 gramas da amostra, envolto em papel de filtro na forma de um cartucho. No balão acrescentou-se aproximadamente 170 mL do solvente.

Tabela 1 - Condições utilizadas para a extração pelo método de Soxhlet

Condição experimental	
Solvente	Tempo (h)
Hexano (-1)	4 horas (-1)
Acetato de Etila (1)	4 horas (-1)
Hexano (-1)	8 horas (1)
Acetato de Etila (1)	8 horas (1)
Hexano + Acetato de etila (0)	6 horas (0)
Hexano + Acetato de etila (0)	6 horas (0)
Hexano + Acetato de etila (0)	6 horas (0)
Hexano + Acetato de etila (0)	6 horas (0)
Hexano (-1)	6 horas (0)
Hexano + Acetato de etila (0)	4 horas (-1)
Acetato de Etila (1)	6 horas (0)
Hexano + Acetato de etila (0)	8 horas (1)

Fonte: Autoria própria

3.4 Extração do óleo a frio por Kates

Primeiramente determinou-se o teor de umidade da amostra, em seguida pesou-se aproximadamente 15 g da amostra fresca e triturada em um béquer, então adicionou-se na amostra a mistura de 30 mL de metanol e 15 mL de clorofórmio, agitou-se por 2 minutos. A seguir filtrou-se à vácuo em funil de Büchner com papel de filtro quantitativo, e em seguida reservou-se o filtrado e retornou o resíduo ao béquer, então foi adicionado ao resíduo novamente a mistura de 30 mL de metanol e 15 mL de clorofórmio, acrescentou-se 12 mL de água destilada e agitou-se por 2 minutos, filtrou-se a vácuo no funil de Büchner e reservou-se novamente o filtrado, foi preparado uma mistura de 16 mL de metanol e 8 mL de clorofórmio e lavou-se o resíduo da filtração. Por fim juntou-se o filtrado obtido da lavagem com os demais filtrados obtidos anteriormente e adicionou-se 38 mL de clorofórmio ao filtrado e 44 mL de água. O filtrado foi transferido para um funil de separação, após a separação das fases foi coletado a fase inferior (clorofórmio) em um balão pesado previamente e concentrou-se em um evaporador rotativo, secou-se o balão em estufa por 1 hora e por fim pesou-se o balão até peso constante e obteve-se a massa de óleo extraído (KATES 1972). Os resultados obtidos nas extrações foram calculados pela equação 1 a seguir:

Equação 1 - Rendimento de óleo obtido

$$\% = \frac{P_f - P_i}{m} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

P_f: Peso final do balão.

P_i: Peso inicial do balão.

m: Massa da amostra.

3.5 Determinação da composição de ácidos graxos

3.5.1 Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos

A preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada conforme proposto por Hartman e Lago (1973), com as adaptações de Maia e Rodriguez-Amaya (1993). Foram pesados em tubo de ensaio com tampa rosqueável 30 ± 1

mg de lipídios, extraídos pelo método de Kates (1972). A seguir adicionou-se 4 mL de solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio em metanol, seguido de agitação e aquecimento em banho de água em ebulição durante cerca de 5 min. Após, os tubos de ensaio foram resfriados em água corrente e adicionou-se 5 mL do reagente esterificante (mistura constituída de cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico na proporção de 1:30:1,5 (m/v/v)) seguido do aquecimento em banho de água em ebulição por 3 min. O tubo foi resfriado em água corrente, sendo adicionado 5 mL de solução saturada de cloreto de sódio, e 2 mL de n-heptano, e 1 mL de padrão interno, seguido de agitação vigorosa por 30 s. Após a separação das fases, retirou-se a fase superior com pipeta de Pasteur e armazenou-se em tubos de eppendorf. Os tubos foram armazenados em congelador ($-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior análise cromatográfica.

3.5.2 Análise cromatográfica

A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada em um cromatógrafo a gás, modelo Clarus 680 GC (Perkin Elmer, Estados Unidos), equipado com coluna capilar de sílica fundida CP Select CB FAME (100 m x 0,25 mm x 0,25 μm de cianopropilpolisiloxano) e detector de ionização em chama. A temperatura inicial da coluna foi $165 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 min, sendo elevada a $235 \text{ }^{\circ}\text{C}$ à taxa de $4 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecendo nesta temperatura por 10 min. As temperaturas do injetor e detector foram respectivamente, 240 e $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$. O volume injetado foi de $2,0 \mu\text{L}$, com injeção automática. As velocidades de fluxo dos gases foram de $1,1 \text{ mL min}^{-1}$ para o gás de arraste (He); 40 e 400 mL min^{-1} para os gases da chama, hidrogênio e ar sintético, respectivamente. As áreas dos picos foram determinadas através do software TotalChrom versão 6.3.2 (Perkin Elmer). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção com o de misturas padrão de ésteres metílicos obtidas da Sigma (EUA). A quantificação dos ácidos graxos foi realizada pelo método da normalização das áreas.

3.6 Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS

A metodologia utilizada foi segundo Boroski et. al (2015) com algumas modificações.

A solução estoque de ABTS 7 mmol L^{-1} foi preparada dissolvendo $192,0 \text{ mg}$ do sal ABTS em água destilada, em um balão volumétrico de 50 mL , completando o

volume até o menisco. Essa solução foi homogeneizada e armazenada em frasco âmbar.

O segundo reagente a ser preparado foi a solução de persulfato de potássio 140 mmol L^{-1} . Dissolveu-se $378,40 \text{ mg}$ do sal persulfato de potássio em água destilada, em um balão volumétrico de 10 mL completando o volume até o menisco. Essa solução também foi homogeneizada e armazenada em frasco âmbar.

Por último preparou-se o radical ABTS^+ a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS com $88 \text{ }\mu\text{L}$ da solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida protegida da luz, em um frasco de vidro âmbar, à temperatura ambiente por 16 horas . Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura (cátion ABTS) em álcool etílico (aproximadamente 54 mL) até obter uma absorvância de $0,700 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ em um comprimento de onda de 734 nm , utilizou-se etanol como branco. A solução foi mantida protegida da luz com papel alumínio.

A curva de calibração foi realizada com Trolox. Para o preparo foram dissolvidos 25 mg de Trolox em etanol e avolumou-se para 50 mL em um balão volumétrico, homogeneizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar. A partir dessa solução padrão foram preparadas soluções com diferentes concentrações, entre $100 \text{ }\mu\text{M}$ a $2000 \text{ }\mu\text{M}$.

Para obtenção da curva de calibração foi transferido alíquotas de $30 \text{ }\mu\text{L}$ de cada solução de Trolox (nas concentrações preparadas) para as cubetas e em seguida foi adicionado $3,0 \text{ mL}$ da solução radicalar ABTS^+ , essa etapa foi realizada em ambiente escuro. Em seguida homogeneizou-se. Após 6 minutos foi realizado a leitura em espectrofotômetro em 734 nm . Etanol foi utilizado como branco e a análise foi realizada em triplicata.

Pesou-se 100 mg da amostra em balões volumétricos de 10 mL , solubilizou-se em etanol e completou-se o volume até o menisco, resultando em uma concentração de 10 mg mL^{-1} . Envolveu-se cada balão em papel alumínio para ficarem ao abrigo da luz. Em seguida transferiu-se uma alíquota de $300 \text{ }\mu\text{L}$ para as cubetas, então foram adicionados $3,0 \text{ mL}$ da solução do radical ABTS^+ . As cubetas foram homogeneizadas e após 6 minutos realizou-se a leitura em espectrofotômetro UV-vis 190-1100nm modelo PHARO 300 de feixe simples da marca Merck no comprimento de onda de 734 nm . O teste foi realizado em triplicata, utilizando etanol como branco.

3.7 Análise estatística

Foi realizado um planejamento fatorial composto central de face centrada para dois fatores avaliados na extração por Soxhlet (Tabela 1), que foram o solvente e o tempo de extração. A partir dos resultados do planejamento fatorial foi realizada a modelagem e obtenção da superfície de resposta.

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguido da aplicação do teste de Tukey, quando constatado diferença entre as médias. Em todas as análises foi empregado o nível de significância de 0,05. A análise dos resultados e a construção dos gráficos foi realizada por meio do software Statistica, versão 10.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Extração com solvente à quente

Os rendimentos obtidos na extração pelo método de Soxhlet estão dispostos na tabela 2. A condição de extração do ponto central (0, 0) resultou no rendimento médio de 15,72 %, que foi o maior rendimento obtido em relação as demais extrações realizadas. O maior teor de óleo encontrado para a extração com n-hexano foi de 13,97 %, no tempo de 8 horas. Para o acetato de etila o maior rendimento foi de 13,54 %, também para 8 horas de extração.

Tabela 2- Rendimento de extração de óleo pelo método de Soxhlet.

Condição experimental		Rendimento
Solvente	Tempo (h)	%
-1	-1	13,14
1	-1	12,37
-1	1	13,97
1	1	13,54
0	0	15,80
0	0	16,00
0	0	15,60
0	0	15,50
-1	0	12,81
0	-1	12,55
1	0	12,60
0	1	14,61

Legenda: a esquerda, (-1) hexano; (1) acetato de etila; (0) Mistura dos solventes. A direita, (-1) 4 horas; (1) 8 Horas; (0) Média dos tempos.

Fonte: Autoria Própria.

Menezes (2014) ao avaliar o efeito da temperatura e do tempo de extração sobre o rendimento de óleo obtido pela extração por Soxhlet, para a variedade de uva Bordô, encontrou o teor de 15,0 % para a extração realizada com acetato de etila, realizada a 80 °C, durante 8 h. Para o tempo de extração de 48 h foi obtido o maior rendimento de óleo, cujo valor foi 17,8 %. Neste estudo também foi avaliado a extração com hexano, sendo obtido o teor de óleo de 15,2 % para a extração realizada a 80 °C por 8 h. Quando a extração foi conduzida por 48 h o rendimento aumentou para 15,7 %. A comparação dos resultados obtidos por esta autora com os encontrados neste estudo indicou que foram 10,8 e 8,8 % maiores, respectivamente, para a extração com acetato de etila e hexano, que os teores encontrados no presente trabalho.

Os autores Liu et. al. (2017) ao extraírem o óleo de semente de uva pelo método de Soxhlet, utilizando o solvente hexano em sua temperatura de ebulição, constataram que o maior rendimento de óleo obtido para as sementes de uva do tipo Cabernet Sauvignon e Bordô foram de 14 e 13 % respectivamente. Os autores também concluíram que o rendimento de óleo obtido foi diretamente proporcional ao tempo de extração.

Rockenbach et. al. (2010) citam em seu trabalho que as sementes de uva podem conter um teor de óleo, entre 14 e 17%, podendo mudar conforme a variedade e a safra.

A partir da ANOVA para os resultados obtidos do planejamento fatorial composto central, foram determinadas as variáveis significativas ($p < 0,05$) na extração do óleo de semente de uva Bordô (Tabela 2).

Tabela 3 - Resultados ANOVA para as diferentes extrações de óleo de semente de uva.

FV	SQ	GL	SQM	F	p-valor
Composição (L)	0,331	1	0,331	0,367	0,567
Composição (Q)	7,459	1	7,459	8,266	0,028
Tempo (L)	2,747	1	2,747	3,033	0,132
Tempo (Q)	1,696	1	1,696	1,879	0,220
Composição*Tempo	0,028	1	0,028	0,032	0,864
Erro	5,415	6	0,902		

Legenda: SQM = Soma dos quadrados médios; GL = Graus de Liberdade; SQ = Soma dos quadrados; FV = Fonte de Variação.

Fonte: Autoria Própria.

Na Tabela 3, observa-se que apenas o termo quadrático da composição do solvente apresentou p-valor menor que 0,05 e, portanto, é uma variável significativa no processo de extração, sendo que o coeficiente de correlação obtido para o modelo foi de 0,865. O coeficiente de correlação nos fornece uma informação complementar a análise de variância, com ele é possível verificar se o modelo é adequado, quanto mais próximo a 1 estiverem os valores melhor a adequação do modelo. Já a variável tempo é maior que 5% isso significa que, mesmo que o tempo tenha influência no teor de óleo obtido, essa influência não é significativa (NETO,2010).

A equação do modelo é dada por:

$$Re(\%) = 15,28 - 0,24.X1 - 1,67.X1^2 + 0,68.X2 - 0,80.X2^2 + 0,085.X1.X2 \quad (2)$$

Onde:

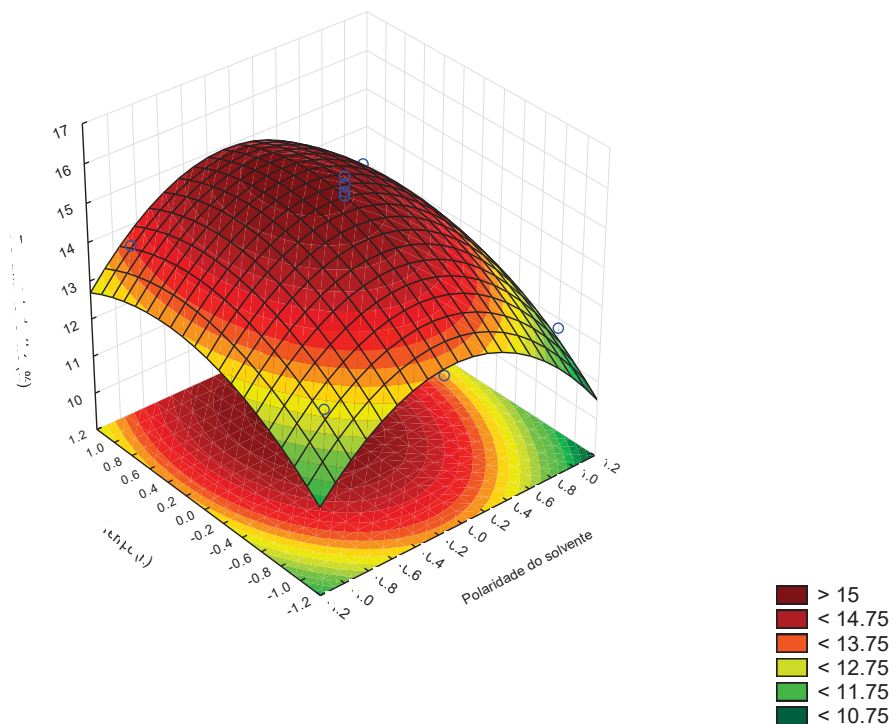
R_e = Rendimento de óleo

X_1 = Solvente extrator

X_2 = Tempo de extração

A partir dos valores de rendimento de óleo obtidos foi realizado um gráfico de superfície de resposta (Figura 2). Entre o acetato de etila, o n-hexano e a mistura dos solventes, a última condição foi o que apresentou maior rendimento de óleo. Os maiores rendimentos da extração são encontrados na região do ponto central, indicando que a mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 1:1 (v/v) é mais adequada que o uso destes solventes puros. O teor de óleo obtido para os tempos de 6 e 8 horas não diferiu muito. Contudo, o tempo de extração de 4 h resulta em um menor rendimento de óleo.

Figura 2 - Gráfico de superfície de resposta obtida para o rendimento de óleo em função da composição do solvente extrator e do tempo de extração.

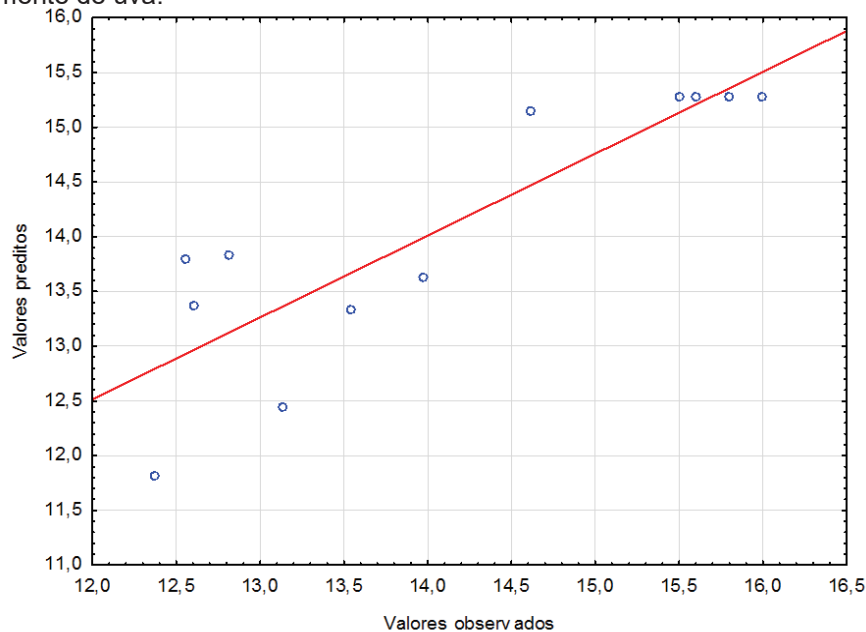


Fonte: Autoria Própria.

Para a avaliação do ajuste do modelo realizou-se a análise da relação entre os valores observados e os valores preditos através do modelo. A diferença entre o

observado e o modelo predito, é dado através do resíduo. Um modelo para ter um bom ajuste deve ter valores observados e preditos próximos. Na Figura 3 temos o gráfico dos valores preditos *versus* valores observados, sendo possível verificar que a maioria dos pontos estão próximos da linha reta.

Figura 3- Gráfico dos valores preditos versus valores observados para o rendimento da extração do óleo de semente de uva.



Fonte: Autoria Própria.

A presença de um ponto anômalo introduz certo desvio no modelo, o que resulta em resíduos positivos e negativos. O ideal é que os resíduos sejam pequenos, pois se o modelo apresenta muitos resíduos, o modelo não teve um bom ajuste. Repetiram-se os ensaios, para verificar se esse desvio não era ocasionado por um erro, porém o resultado foi praticamente o mesmo obtido anteriormente. De fato o modelo ainda pode ser aperfeiçoado e para obter-se uma representação com um ajuste melhor, podemos incluir ao modelo termos de ordem mais alta (NETO 2010).

4.2 Extração com solvente a frio

O resultado médio obtido da extração a frio pelo método de Kates foi de 10,46% $\pm 0,72$ com um teor de umidade de 8%. Autores como Rockenbach et al. (2010) obtiveram em seu trabalho um rendimento de 12,87% de óleo para uva da variedade bordô, utilizando o método de Folch et al. (1957) que baseia-se no mesmo princípio de extração a frio utilizando clorofórmio e metanol.

A extração a frio possui menor eficiência que os método de extração a quente como o de Soxhlet, pois em temperaturas elevadas ocorre uma queda nas viscosidades do solvente e do óleo, e conseqüentemente há um aumento na solubilidade do óleo com o solvente, aumentando assim a velocidade e a eficiência da extração, favorecendo a extração a quente (ZACHI, 2007).

4.3 Determinação da composição de ácidos graxos do óleo de semente de uva

A composição de ácidos graxos do óleo das sementes de uva Bordô é apresentada na Tabela 4. O ácido graxo encontrado em maior quantidade foi o linoleico (71,26 %), esse ácido graxo poli-insaturado tem despertado um grande interesse por suas atividades biológicas e seus possíveis benefícios para a saúde humana, dentre eles combater a obesidade, auxiliando na perda de peso (MARQUES e BAZOTTE, 2014). Os demais ácidos graxos encontrados foram o oleico (17,52 %), o palmítico (7,21 %) e o esteárico (3,36 %). Os dados obtidos são maiores que os encontrados por Rockenbach et. al. (2010), com exceção ao ácido palmítico, o autor ao comparar o perfil de ácidos graxos do óleo de semente de uva para diferentes variedades, encontrou para a uva Bordô 57,23; 16,81; 8,24 e 3,34 % dos ácidos graxos linoleico, oleico, palmítico e esteárico respectivamente.

Perosa e Sovrani (2016) ao realizarem a caracterização do óleo de semente de uva da variedade Isabel encontraram os valores de ácido linoleico de 72,45%, ácido oleico 15,77%, ácido palmítico 6,78%, e ácido esteárico 3,80%.

A autora Fuentes (2011) em seu trabalho onde realizou a avaliação da qualidade de alguns óleos de vegetais durante o armazenamento obteve para o óleo de milho um teor de 47,2 % do ácido linoleico, 35,3 % de ácido oleico, 12 % de ácido palmítico e 2,3 % de ácido esteárico.

Tabela 4 - Composição de Ácidos Graxos (%) da fração lipídica do óleo da semente de uva Bordô.

Ácido Graxos		%
C16	Palmitico	7,21 ± 0,03
C16:1n-9	Palmitoléico	0,12 ± 0,00
C18:0	Estearico	3,36 ± 0,09
C18:1n-9	Oleico	17,52 ± 0,20
C18:2n-6t	Linolelaídico	0,63 ± 0,01
C18:2n-6c	Linoléico	71,26 ± 0,37
C20:0	Araquídico	0,32 ± 0,26
C18:3n-3	(α)Linolênico	0,38 ± 0,00
C20:1	Gondóico	0,08 ± 0,08

Legenda: % = Médias das amostras analisadas em triplicata seguida do seu respectivo desvio padrão.

Fonte: Autoria própria.

4.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS.

Como podemos observar na Tabela 5, não houveram diferenças significativas nos óleos que foram extraídos pelo método de Soxhlet no tempo de 6 e de 4 horas. Já os extraídos nos tempos de 4 e 8 horas, apresentaram diferenças significativas entre as suas médias ($p < 0,05$). Para o óleo extraído pelo método de Kates, o valor obtido para a atividade antioxidante ($6,58 \mu\text{mol g}^{-1}$) foi significativamente maior ($p < 0,05$) que os valores encontrados para os óleos extraídos por Soxhlet. Dentre os métodos e condições utilizados esse é o único onde a amostra não sofre aquecimento, já que se utiliza somente o solvente a frio para realizar a extração, pois a temperatura é um fator que contribui para a oxidação de óleos.

Tabela 5 - Atividade antioxidante média dos óleos de semente de uva pelo método ABTS.

Método de Extração	KATES	S4	S6	S8
Atividade Antioxidante ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	6,58 ^a ± 0,08	3,30 ^{b,c} ± 0,12	3,67 ^c ± 0,11	2,94 ^b ± 0,31

Legenda: Média das atividades antioxidantes obtidas utilizando o óleo extraído pelo método de Kates e pelo de Soxhlet na condição de mistura (hexano e acetato de etila), onde S8 = extração por 8 horas, S6 = extração por 6 horas e S4 = extração por 4 horas. Letras diferentes na mesma linha correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria Própria

A atividade antioxidante média dos óleos extraídos na condição de mistura (hexano e acetato de etila) pelo método de Soxhlet expressas em equivalentes ao Trolox $2,94 (\mu\text{mol g}^{-1})$ para a extração de 8 horas, $3,67 (\mu\text{mol g}^{-1})$ para 6 horas e $3,30 (\mu\text{mol g}^{-1})$ para a de 4 horas. O óleo extraído no tempo de 8 horas apresentou a menor

atividade antioxidante, isso ocorre em consequência da maior exposição ao aquecimento, pois a temperatura é um fator que contribui diretamente para a oxidação do óleo. Reda e Carneiro (2007) explicam que óleos e gorduras podem deteriorar-se durante sua estocagem em atmosfera com oxigênio, devido a sua auto-oxidação natural, porém quando aquecidos a temperaturas elevadas, o processo de oxidação ocorre de maneira mais rápida, pois ocorrem reações de oxipolimerização e decomposição termooxidativa.

Os óleos extraídos nos tempos de 6 e 4 horas apresentaram atividade antioxidante próximas, ambos sofreram aquecimento por menos tempo, e como visto não apresentaram diferença estatisticamente entre suas médias.

Soares et al. (2008) ao determinar a atividade antioxidante do extrato das cascas de uva da variedade Niágara e Isabel obteve os valores médios de atividade antioxidante equivalente ao Trolox entre 89,22 e 157,31 ($\mu\text{mol } 100\text{g}^{-1}$) respectivamente.

A autora Silva (2015) ao avaliar a atividade antioxidante de extrato do resíduo de goiaba obtido a partir do processamento industrial, obteve o resultado de $24,71 \pm 0,75 \mu\text{mol g}^{-1}$ equivalentes ao Trolox a partir da soma da atividade antioxidante dos extratos obtidos da extração de fenólicos livres, fenólicos solúveis em hexano e fenólicos conjugados.

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o rendimento da extração pelo método e Soxhlet (solvente a quente) é maior que o obtido pelo método de Kates (extração a frio). Esse método vem sendo cada vez mais utilizado na indústria, seja como operação isolada ou complementar à prensagem, devido aos altos rendimentos obtidos (CASTRO, 2009), pois como visto a temperatura facilita com o que o solvente interaja com as moléculas de gordura, fazendo com que a extração seja mais eficiente.

O método de Kates (1972) embora tenha apresentado menor rendimento na extração apresentou a maior atividade antioxidante, com isso podemos afirmar que o melhor método de extração é inversamente proporcional a melhor atividade antioxidante encontrada.

O objetivo deste trabalho foi alcançado, pois mostrou o melhor método para extrair o óleo da semente de uva e determinou que o óleo extraído a partir do resíduo da indústria vinícola possui atividade antioxidante, e conseqüentemente é uma fonte natural de substâncias bioativas podendo ser amplamente utilizado na indústria de alimentos. O óleo de semente de uva também mostrou-se uma boa fonte de ácido linoleico, um ácido graxo omêga-6, que tem grande importância para a saúde humana.

5 REFERÊNCIAS

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 4th ed. Champaign, USA, AOCS, 1990.

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

BLIGH, E.G. and DYER, W.J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol.** 37:911-917. 1959.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**; disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/uva>> Acessado em 03 de abril de 2017.

BOROSKI, M. et. al. **Antioxidantes: Princípios e métodos Analíticos**, 2015. 1. ed. Appris, 2015. 141 p.

CAMARGO U. A. et. al. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura** (online). P. 144-149, vol.33, 2011.

CASTRO, Heizir F. **Apostila de Processos Químicos Industriais: ÓLEOS E GORDURAS**. Universidade de São Paulo, 2009. 1-22 p.

CUNICO, M. W. M. et. al. Planejamento Fatorial: Uma Ferramenta Estatística Valiosa Para a Definição de Parâmetros Experimentais Empregados na Pesquisa Científica. **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba. P.23-32, v.9, n.1, 2008.

EMBRAPA, 2015. **Nota técnica - Um balanço da Vitivinicultura Mundial em 2014**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/4007952/nota-tecnica----um-balanco-da-vitivinicultura-mundial-em-2014>> Acesso em 19/11/17

FLAMINI, R. et al. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols. **International Journal of Molecular Sciences**. Itália. n. 14 p. 19651-19669, 2013.

FREITAS L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 226 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre 2007.

GAROFALO, A. PETRILLI, A. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 5, p. 611-621, 2006.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. **Laboratory Practice**, London, v. 22, n. 3, p. 475-473, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2005.

KATES, M. - **Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids** – cap.3 p. 346-350, North-Holland Pub. Co., 1972.

LEHNINGER, A. L. et. al. **Princípios de Bioquímica**. 4. Ed. Editora Sarvier – São Paulo, 2006.

LIU, Fernanda et al. - Encontro Nacional de Iniciação Científica, 26º., e encontro Anual de Iniciação Científica Júnior 6º. - EAIC, 2017, Maringá. **Extração do Óleo de Sementes de Uva Cabernet Sauvignon e Bordô, em Soxhlet e pelo Método auxiliado por Ultrassom: Quantificação dos Polifenóis totais**. Maringá: Uem, 2017. 4p. Disponível em: <<http://www.eaic.uem.br/eaic2017/portal/index.php?op=trabalhos>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

LUTHER, M. et al. Inhibitory effect of chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their potential radical scavenging and antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1065-1073, 2007.

LUTTERODT, H. et al. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2, p. 391-399, 2011.

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**, 53(1-2), 27-35, 1993.

MARQUES, Any de Castro Ruiz; BAZOTTE, Roberto Barbosa. Efeitos da Suplementação com Ácido Linoleico Conjugado no Tratamento da Obesidade: Estudo de revisão literária em modelos experimentais animais e em humanos. **Rev. Saúde e biol.**, Maringá. v. 3, n. 9, p. 107-117 2014.

MENDES, M. A; ARAÚJO, J. H. B; **Transformação De Resíduos da Indústria Vinícola em Produtos de Interesse Comercial**. In: Mostra de iniciação científica e tecnológica interdisciplinar, 2006. Camboriú. Anais UFSC: 2006, p.43.

MENEZES, M. L. de. **Estudo dos Processos de Secagem e de Extração para Produção do Óleo Bruto de Semente de Uva**. 263 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Estadual de Maringá - Maringá, 2014.

MELLO, L. M. R. **Artigo: Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015** – Embrapa Uva e Vinho, 2016.

MELLO, L. M. R.; **Artigo: Área e Produção de Uvas - Panorama Mundial** - Embrapa Uva e Vinho, 2010.

MORAES, V. LOCATELLI C. Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. **Revista evidência Interdisciplinar**, Joaçaba. v. 10, n 1-2. p. 57-68, 2010.

NETO, B.B. et. al. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Campinas: Bookman, 2010, p. 227 a 251,311, 312, 412 e 413.

OIV, International Organisation of Vine and Wine. **2017 World Vitiviniculture Situation: OIV Statistical Report on World Vitiviniculture**. Paris - France, 2017.

PEROSA, Flavia; SOVRANI, Alessandra. Seminário de Iniciação Científica, 22^o., Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão, 9^o., Mostra Universitária, 7^a. 2016, Chapecó. **Extração e Caracterização do Óleo de Semente de Uva Produzido na Região meio-oeste do Estado de Santa Catarina**. Chapecó: Unoesc, 2016. 1 p. Disponível em: <<http://editora.unoesc.edu.br/index.php/siepe/issue/view/243>>. Acesso em: 02 maio 2018.

PIRES, A.P.M **Composição química e atividade antioxidante de folhas de diferentes castas de videira**. 64 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) Escola Superior Agrária de Bragança. Instituto politécnico de Bragança, 2010.

PRASAIN, J. K. et al. Liquid chromatography-tandem mass spectroscopy identification of proanthocyanidins in rat plasma after oral administration of grape seed extract. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2-3, p. 233-243, 2009.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231- 1237, 1999.

REDA, Seme Youssef; et. al. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, Ponta Grossa, n. 27, p. 60-67, Fev/mar. 2007.

RIBEIRO, M. E. M.; MANFROI, V. **Vinho e Saúde: uma visão química**. Revista Brasileira de Viticultura e Enologia, ano 2, n. 2, p. 91-103, 2010.

ROCKENBACH, I. I. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera L.* e *Vitis labrusca L.*)**. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

ROCKENBACH, I. et. al. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera L.* e *Vitis labrusca*). **Brazilian Journal of Food Technology** P. 23 -26 n. 04, 2010.

ROMBAUT, N. et. al. **Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grape seed cold screw pressing**. Compiègne France, 2014.

SATO, G. S; **Panorama da Viticultura no Brasil**. Informações Econômicas, v.30, n.11, 2000.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, J. P. D. Extraction and analysis of lipids. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. (Eds.). **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, cap. 5, 1998.

SILVA, M. O. **Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*)**. 130 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2015.

SOUSA, V. R. **Extração e caracterização de óleo de sementes de frutos**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade do Algarve - Portugal, 2012.

SOXHLET, F.; - **Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes**. Polytechnisches J. 1879, 232, 461.

SPECHER, H. Biochemistry of essential fatty acids. **Progress in Lipid Research**. v. 20, p. 217-225. 1981

TOMEI, R.R.; SALVADOR, M.J. **Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais**. ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA 11º ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS GRADUAÇÃO, 2007, Vale do Paraíba. Anais 2007, p. 1963-1967.

VEDANA M. I. S. et. al. - Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alim. Nutr.**, v.19, n.2, p. 159-165, 2008.

ZACHI, Renata. **Influência da Temperatura no Processo de Extração de Óleo de Soja em Leito Fixo**. Dissertação (Mestrado em Modelagem Matemática). - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí – RS. 2007.