



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

ANNA DÉBORA FERREIRA DA SILVA

ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE  
AMOSTRAS COMERCIAIS DE SUCOS DE UVA E PRODUTOS DERIVADOS DE  
UVAS VINÍCOLAS

JOÃO PESSOA, PARAÍBA-BRASIL

2010

ANNA DÉBORA FERREIRA DA SILVA

ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E POTENCIALANTIOXIDANTE DE  
AMOSTRAS COMERCIAIS DE SUCOS DE UVA E PRODUTOS DERIVADOS DE  
UVAS VINÍCOLAS

Dissertação submetida como requisito parcial  
para obtenção de grau de mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos na área de  
concentração Química e Bioquímica de  
Alimentos da Universidade Federal da Paraíba.

Sob a Orientação do Professor: Dr. Eduardo de Jesus Oliveira

JOÃO PESSOA-PB

2010

Ficha catalográfica

S586a *Silva, Anna Débora Ferreira da.*  
*Análise de Compostos Fenólicos e Potencialantioxidante de*  
*Amostras Comerciais de Sucos de Uva e Produtos Derivados de*  
*Uvas Venícolas/ Anna Débora Ferreira da Silva.- Pessoa : [s.n.],*  
*2010.*  
*103f. :il.*  
*Orientador: Eduardo Jesus de Oliveira.*  
*Dissertação (Mestrado) – UFPb /CT*

1. *Uvas – Produtos Derivados.* 2. *Compostos Polifenólicos –*  
*Antioxidante.*

UFPb/BC

CDU: 634.8.076(043)

ANNA DÉBORA FERREIRA DA SILVA

ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE  
AMOSTRAS COMERCIAIS DE SUCOS DE UVA E PRODUTOS DERIVADOS DE  
UVAS VINÍCOLAS

Dissertação submetida como requisito parcial  
para obtenção de grau de mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos na área de  
concentração Química e Bioquímica de  
Alimentos na Universidade Federal da  
Paraíba-UFPB.

Aprovada em: 30/setembro/2010

Prof. Dr. Eduardo de Jesus Oliveira

---

(Orientador)

Prof.Dra Marta Suely Madruga

---

(Membro interno)

Prof. Dra Tânia Maria Sarmiento Silva

---

(Membro externo)

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e principalmente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse.

Ao professor Dr. Eduardo Oliveira pela orientação prestada e exímia paciência comigo.

A professora Dra. Marta Suely por aceitar participar da correção deste trabalho e por me mostrar as qualidades de um bom professor, quando me acompanhou no estágio de docência.

A professora Dra. Tânia Sarmiento por aceitar participar das correções deste trabalho e pelas sugestões apresentadas.

A fazenda Vinibrasil, na pessoa de Dr João Santos que gentilmente cedeu as uvas para as análises e a seu funcionário José Augusto que me acompanhou na coleta das uvas.

À minha família por apoiar e incentivar-me nos estudos. Aos meus pais que me ensinaram o valor da educação em nossas vidas.

Aos meus irmãos que sempre me ajudaram com os computadores e em especial a Diego que se dispôs a descascar manualmente as uvas comigo. Agradeço a Edilma e Ana Paula, pelo auxílio quando possível.

Às minhas primas Gerciane e Ana Luiza por me ajudar na organização da defesa, muitíssimo obrigada, principalmente Gerci por sua criatividade!!!

À professora Dra Janneeyre Maciel pelo apoio e dedicação na hora de cumprir com as atividades do programa Reuni. Ao programa de bolsas REUNI, que financiou meu curso com bolsa de estudos.

Ao programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos pela verba destinada a compra de reagente.

Aos funcionários Gilvandro e Nonato pelo auxílio sempre que necessário.

Ao professor Dr. Fábio e doutorando Valmir que auxiliaram-me em uma parte das análises.

Aos amigos da universidade que sempre faziam de nossos encontros estímulos para continuarmos na luta, em especial Fátima, principal estimuladora, Aline que me ajudou na hora de escrever o trabalho final, Daniele Sanchez que me ajudou com os experimentos e dissertação, Roberto Jerfeson e June Anne que me ensinaram boa parte das metodologias,

Elieide pelo auxílio no estágio de docência. Às colegas de laboratório: Mônica, Renata, Adriana, Antonileni, Camila, Karine e em especial a Mayara Lins, que me ajudou no decorrer de toda a pesquisa. Obrigada turma de mestrado!

Aos amigos Ana Paula, Raquel e Rodrigo por me ajudarem a chegar em Petrolina.

Aos amigos de graduação Júlio Abrantes, Zilmara Vieira pelo apoio, e a Cibele Cabral David que me ajudou na hora de corrigir as referências do texto. Como também Luiza e Raquel pelo apoio e horas de diversão.

Agradeço também ao professor Dr. Adalberto que me incentivou a fazer mestrado e indicou-me Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Que Deus abençoe a todos!

## RESUMO

Os compostos fenólicos são largamente encontrados no reino vegetal. Dentre as frutas consideradas como alimentos funcionais, as uvas e seus derivados aparecem sempre em posição de destaque. Principalmente, após a associação do consumo regular do vinho a uma vida saudável. Este trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer a propriedade antioxidante e concentração de resveratrol de uva, sucos de uva e bagaço, subproduto da vinificação. As cascas de uvas viníferas do Vale de São Francisco (das variedades *Syrah* e *Cabernet sauvignon*), o bagaço da uva *Syrah* e sucos de uva comerciais foram estudados quanto ao seu perfil de compostos polifenólicos e atividade antioxidante. Foram coletadas amostras de uva *Syrah* expostas ao sol, chamadas de *Syrah* “sol” e uvas sombreadas pelas folhagens do dossel vegetativo, chamadas *Syrah* “sombra”. As amostras de sucos eram compostas 11 sucos integrais, 8 sucos reprocessados e 11 néctares de uva. Foi preparado extrato das uvas e do bagaço a partir de 0,5mg da amostra (peso seco) com 3 ml de uma solução de Etanol/água (80/20 v/v). A concentração dos isômeros *cis* e *trans* do resveratrol foi determinada usando um método cromatográfico (CLAE-UV/DAD, com coluna cromatográfica C8) e por métodos espectrofotométricos foram determinados os fenólicos totais, as antocianinas monoméricas e a capacidade de reduzir 50% do radical DPPH ( $CE_{50}$   $\mu\text{g/mL}$ ). Foi detectado o *trans* e *cis*-resveratrol nas uvas *Syrah* sombra, *Cabernet sauvignon*, bagaço de uva *Syrah* e em 60% dos sucos analisados. Foi determinado apenas o *cis*-resveratrol na uva *Syrah* sol. Os néctares de uva não tiveram teor de *cis*-resveratrol detectado. Os fenólicos totais para as uvas variaram entre  $3,7 \pm 0,05$  e  $17,59 \pm 0,61$   $\mu\text{g/mL}$  para as uvas viníferas e entre  $451,7 \pm 4,68$  e  $1935 \pm 15,06$  mgEAG/L para os sucos de uva. No bagaço foi determinado  $3268 \pm 360,7$  mgEAG/g ( $n=3$ ). As antocianinas monoméricas para as uvas variaram entre  $1,47 \pm 0,08$  e  $10,0 \pm 0,56$  mg/mL para as uvas viníferas e entre  $6,88 \pm 0,63$  e  $292,4 \pm 27,7$  mg/L para os sucos de uva. No bagaço foi determinado  $0,75 \pm 0,07$  mg/mL ( $n=3$ ). O bagaço de uva *Syrah* apresentou elevada atividade antioxidante ( $CE_{50}$   $1,09 \mu\text{g/mL}$ ) comparada ao ácido ascórbico ( $CE_{50}$   $2,12 \pm 0,0009 \mu\text{g/mL}$ ) A uvas *Syrah* sol e sombra apresentaram diferenças significativa quanto sua capacidade de seqüestrar o radical DPPH, respectivamente. Os resultados obtidos permitem-nos concluir que não apenas o conteúdo de polifenólicos, como também o seu perfil influenciam na atividade antioxidante da amostra. O bagaço de uva *Syrah* apresentou um elevado teor de fenólicos totais e atividade antiradicalar, sendo assim uma fonte potencial destas substâncias que merece ser melhor reaproveitado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Uvas , compostos polifenólicos, atividade antioxidante.

## ABSTRACT

Phenolic compounds are widely found in the plant kingdom. Among the fruits considered as functional foods, grapes and their derivatives are always in a position of prominence, especially after the association of regular consumption of wine to a healthy life. This work was carried out in order to know the antioxidant properties and resveratrol concentration of grape juices and also of grape pomace samples, a byproduct of winemaking. The skins of wine grapes Vale São Francisco (varieties *Syrah* and *Cabernet Sauvignon*), the *Syrah* grape pomace and commercially available grape juices were studied for their profile of polyphenolic compounds and antioxidant activity. Samples were taken from sun-exposed grape *Syrah*, coded as “sol” and grape shade by the foliage canopy, coded as “sombra” .” The juice samples were composed 11 integrals juices, 8 reprocessed grape juice and 11 nectars. An extract of grape and pomace was prepared from 0,5mg of sample (dry weight) with 3 ml of a solution of ethanol / water (80/20 v / v). The concentration of the *cis* and *trans*-isomers of resveratrol were determined by using a chromatographic method (HPLC-UV/DAD with C8 chromatography column) and spectrophotometric methods were determined phenolic monomeric anthocyanins and DPPH radical scavenging activity (expressed as EC<sub>50</sub> µg / mL ). The *trans* isomer of resveratrol was determined in samples of *Syrah* “sombra”, *Cabernet Sauvignon*, *Syrah* pomace and on 60% of the juices analyzed. The isomer *cis* of resveratrol was determined only on the samples *Syrah* grape “sol” and this isomer was not found in the nectar juice samples. The total phenolic for grapes ranged between 3,7 and 17,59 ± 0,05 ± 0,61 mg / mL for wine grapes and from 451,7 ± 4,68 and 1935,0 ± 15,06 g / mL for grape juices. Grape pomace was determined in 3268,0 ± 360.7 mg / mL (n = 3). Monomeric anthocyanins for grapes ranged from 1,47 ± 0,08 and 10,0 ± 0,56 mg / mL for wine grapes and between 6,88 ± 0,63 and 292,4 ± 27,7 mg/L the grape juices. In the pomace was determined 0,75 ± 0,07 mg/mL (n = 3). The *Syrah* grape pomace showed high antioxidant activity (EC<sub>50</sub> 1,09 µg/mL) compared to ascorbic acid (EC<sub>50</sub> 2,12 ± 0,0009 µg/mL) The *Syrah* grape “sol and “sombra” showed significant differences regarding their ability to scavenge the DPPH radical. The results obtained allow us to conclude that the not only the polyphenolic content, but also their profile, influenced the antioxidant activity of the sample. The *Syrah* grape pomace had a very high content of total phenolics and radical-scavenging activity, and is thus a potential source of these substances that deserve to be used.

**KEYWORDS:** grapes, polyphenols, antioxidant activity.

## Lista de figuras

<b>FIGURA 1.</b> Sistema de condução da videira em latada.....	24
<b>FIGURA 2.</b> Sistema de condução da videira em espaldeira e com poda mista.....	25
<b>FIGURA 3.</b> Fluxograma da preparação dos sucos de frutas.....	26
<b>FIGURA 4 .</b> Bagaço da uva.....	28
<b>FIGURA 5.</b> Fluxograma do processo de vinificação.....	28
<b>FIGURA 6.</b> Estrutura básica de um flavonóide.....	31
<b>FIGURA 7.</b> Estrutura química das principais classes de compostos fenólicos.....	32
<b>FIGURA 8.</b> Estruturas químicas das antocianinas glicosiladas.....	34
<b>FIGURA 9</b> Estrutura química dos <i>trans</i> e <i>cis</i> resveratrol.....	35
<b>FIGURA 10.</b> Sistema de plantio espaldeira utilizado no cultivo da <i>Syrah</i> na fazenda Vinibrasil, em Petrolina, PE.....	40
<b>FIGURA 11 -</b> Cachos de uva <i>Syrah</i> sob o sol.....	41
<b>FIGURA 12:</b> Cachos de uva <i>Syrah</i> sombreadas (sob folhagens da videira).....	41
<b>FIGURA 13:</b> Sistema de plantio do tipo pérgola da uva <i>Carbernet sauvignon</i> ....	41
<b>FIGURA 14:</b> Obtenção de extrato das uvas <i>Syrah</i> e <i>Carbernet Sauvignon</i> , bagaço (subproduto de vinificação) da uva <i>Syrah</i> .....	43
<b>FIGURA 15.</b> Cromatogramas referentes a detecção de resveratrol.....	50
<b>FIGURA 16</b> Cromatograma do extrato de uva <i>Syrah</i> exposta ao sol, mostrando o <i>cis</i> -resveratrol em 7,3 min.	50
<b>FIGURA 17.</b> Cromatograma do extrato de casca da uva <i>Syrah</i> sombreada, mostrando <i>trans</i> em 5,0min e <i>cis</i> em 7,5.	50
<b>FIGURA 18.</b> Cromatograma do extrato da cascas de <i>Cabernet Sauvignon</i> , mostrando <i>trans</i> em 4,98 e <i>cis</i> em 7,4, isso a 307 nm.	51

<b>FIGURA 19.</b> Cromatograma do suco IN 9, mostrando trans-resverastrol em 5 min e cis-resveratrol em 7,5 min.	51
<b>FIGURA 20.</b> Cromatograma em 290nm da amostra IN6.....	77
<b>FIGURA 21.</b> Cromatograma em 320nm da amostra IN6.....	77
<b>FIGURA 22</b> A-Cromatograma em 320nm da amostra IN7 e B ampliação do mesmo	78
<b>FIGURA 23</b> . A-Cromatograma em 320nm da amostra IN7 e B ampliação do mesmo	79
<b>FIGURA 24.</b> Cromatograma em 290nm da amostra IN8.....	79
<b>FIGURA 25.</b> Cromatograma em 320nm da amostra IN8.....	79
<b>FIGURA 26.</b> Cromatograma em 290 nm da amostra IN9.....	79
<b>FIGURA 27.</b> Cromatograma em 320 nm da amostra IN9.....	80
<b>FIGURA 28.</b> Cromatograma em 290 nm da amostra IN10.....	80
<b>FIGURA 29.</b> Cromatograma em 320 nm da amostra IN10.....	80
<b>FIGURA 30.</b> Cromatograma em 290 nm da amostra IN11.....	80
<b>FIGURA 31.</b> Cromatograma em 320 nm da amostra IN11.....	81
<b>FIGURA 32.</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra SR5e B ampliação do mesmo.	81
<b>FIGURA 33.</b> A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR5e B ampliação do mesmo.	82
<b>FIGURA 34.</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra SR6e B ampliação do mesmo	82
<b>FIGURA 35</b> . A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR6e B ampliação do mesmo.	83
<b>FIGURA 36.</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra SR7e B ampliação do mesmo.	83

<b>FIGURA 37.</b> A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR7e B ampliação do mesmo	84
<b>FIGURA 38.</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra SR8e B ampliação do mesmo.	84
<b>FIGURA 39.</b> A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR8e B ampliação do mesmo.	85
<b>FIGURA 40</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra NE8e B ampliação do mesmo.	85
<b>FIGURA 41.</b> A-Cromatograma em 320 nm da amostra NE8e B ampliação do mesmo.	86
<b>FIGURA 42.</b> A-Cromatograma em 290 nm da amostra NE9e B ampliação do mesmo.	86
<b>FIGURA 43.</b> A-Comatograma em 320 nm da amostra NE9e B ampliação do mesmo.	87
<b>FIGURA 44</b> A-Cromatograma da uva <i>Syrah</i> exposta ao sol a 290nm.B-Ampliação do mesmo.	87
<b>FIGURA 45</b> Cromatograma da uva <i>Syrah</i> exposta ao sol a 320 nm.	87
<b>FIGURA 46</b> Cromatograma da uva <i>Syrah</i> sombreada 290 nm.	88
<b>FIGURA 47</b> Cromatograma da uva <i>Syrah</i> sombreada 320nm.	88
<b>FIGURA 48</b> Cromatograma da uva <i>Cabernet Sauvignon</i> 290nm.	88
<b>FIGURA 49</b> Cromatograma da uva <i>Cabernet Sauvignon</i> 320nm.	88
<b>FIGURA 50</b> Cromatograma da uva bagaço da uva <i>Syrah</i> 320nm.	89
<b>FIGURA 51</b> Cromatograma da uva bagaço da uva <i>Syrah</i> 320nm.	89

## Lista de Gráficos

<b>GRÁFICO 1.</b> Fenólicos totais em mgEAG/g de casca seca $\pm$ E.P.M (n=3).....	59
<b>GRÁFICO 2.</b> Teste de extração do bagaço da uva <i>Syrah</i> .....	61
<b>GRÁFICO 3.</b> Box Plot dos Fenólicos totais dos sucos analisados.....	64
<b>GRÁFICO 4.</b> Antocianinas monoméricas em mg/g de casca seca ou bagaço seco....	66
<b>GRÁFICO 5.</b> Box Plot das Antocianinas dos sucos de uva analisados.....	69
<b>GRÁFICO 6.</b> Atividade antioxidante das uvas e bagaço de uva.....	71
<b>GRÁFICO 7.</b> Correlação linear entre o teor de fenólicos totais e atividade seqüestradora do radical DPPH.....	74
<b>GRÁFICO 8.</b> Correlação linear entre o teor de Antocianinas Monoméricas e atividade seqüestradora do radical DPPH.....	75
<b>GRÁFICO 9.</b> Box Plot da Atividade seqüestradora do radical DPPH• dos sucos.....	76

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1</b> Origem das amostras de suco.....	42
<b>Tabela 2.</b> Concentração de <i>Trans</i> -resveratrol e <i>cis</i> -resveratrol na casca de uvas secas e no estrato do bagaço de uva seco. Safra 2010.....	49
<b>Tabela 3.</b> Concentração de <i>Trans</i> -resveratrol e <i>cis</i> -resveratrol nos sucos integrais.....	56
<b>Tabela 4.</b> Concentração de <i>Trans</i> -resveratrol e <i>cis</i> -resveratrol nos sucos reprocessados.	57
<b>Tabela 5.</b> Concentração de <i>Trans</i> -resveratrol e <i>cis</i> -resveratrol nos néctares de uva.....	58
<b>Tabela 6.</b> Fenólicos totais dos sucos de uva.....	63
<b>Tabela 7.</b> Antocianinas monoméricas dos sucos de uva.....	68
<b>Tabela 8.</b> Capacidade seqüestradora de radicais DPPH● dos sucos de uva e néctares....	73
<b>Tabela 9.</b> Amostras que apresentaram sinais característicos nos comprimentos de onda para ácidos fenólicos (290nm) e flavonóides (320nm).	77
<b>Tabela 10.</b> Valores médios para resveratrol, fenólicos totais, antocianinas e atividade seqüestradora do radical DPPH de todas as amostras analisadas.	90

## SUMÁRIO

**Lista de figuras**

**Lista de gráficos**

**Lista de tabelas**

**RESUMO**

**ABSTRACT**

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>19</b>
<b>3.REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Uva.....</b>	<b>21</b>
3.1.1 Estrutura e classificação das uvas.....	22
3.1.2 Sistema de condução das videiras.....	23
<b>3.2 Suco de uva.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 Bagaço.....</b>	<b>27</b>
<b>3.4 Compostos fenólicos.....</b>	<b>30</b>
3.4.1 Flavonóides.....	30
3.4.1.1 <i>Antocianinas</i> .....	33
3.4.2 Estilbeno.....	35
<b>3.5 Fatores que afetam a presença de compostos fenólicos nas uvas.....</b>	<b>36</b>
<b>3.6 Atividade antioxidante dos compostos fenólicos.....</b>	<b>38</b>

<b>4.MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Amostras.....</b>	<b>40</b>
4.1.1 Preparo das amostras.....	42
<b>4.2 Determinação de resveratrol.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3 Análise dos componentes fenólicos.....</b>	<b>45</b>
<b>4.4 Quantificação das Antocianinas monomérica.....</b>	<b>45</b>
<b>4.5 Análise da Atividade Antioxidante.....</b>	<b>47</b>
<b>4.6 Flavonóides e ácidos fenólicos.....</b>	<b>48</b>
<b>4.7 Tratamento estatístico.....</b>	<b>48</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Determinação de resveratrol.....</b>	<b>49</b>
5.1.1 Uvas viníferas.....	49
5.1.2 Bagaço.....	54
5.1.3 Sucos de uva e Néctares.....	55
<b>5.2. Análise de componentes fenólicos.....</b>	<b>59</b>
5.2.1 Uvas viníferas.....	59
5.2.2 Bagaço.....	60
5.2.3 Sucos de uva e Néctares.....	62
<b>5.3 Quantificação das Antocianinas monomérica.....</b>	<b>65</b>
5.3.1 Uvas viníferas.....	65
5.3.2 Bagaço.....	67
5.3.3 Sucos de uva e Néctares.....	68
<b>5.4 Análise da Atividade Antioxidante.....</b>	<b>70</b>

5.4.1 Uvas viníferas.....	70
5.4.2 Bagaço.....	72
5.4.3 Sucos de uva e Néctares.....	73
<b>5.5 Flavonóides e ácidos fenólicos.....</b>	<b>76</b>
<b>5.6 Resumo dos resultados quantitativos.....</b>	<b>89</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>92</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Diversos estudos têm demonstrado que substâncias antioxidantes são capazes de produzir um efeito protetor ao organismo, pois atuam inibindo ou retardando reações oxidativas. Sabe-se que os compostos fenólicos têm grande capacidade antioxidante e, por esse motivo, são apresentados como compostos que podem ser utilizados oferecendo grande contribuição para a dieta devido ao seu efeito na prevenção de doenças como: diabetes mellitus, câncer, aterosclerose e doenças do coração (ROSS; KASUM,2002).

Sua introdução em nossa dieta pode influenciar positivamente os mecanismos endógenos de defesa (ou mediadores de redox tais como: superóxido dismutase, catalase, peroxidase e metaloproteínas) e trazer ao homem benefícios a sua saúde por toda a vida (DEGÁSPARI; WASCZYNSKYJ, 2004).

Conhecer a capacidade antioxidante de diversos alimentos tem sido objetivo de diferentes tipos de estudo (FERRARI, 2002; KUSKOSKI, 2006). Não só a classe científica têm se interessado como a população em geral que, na busca por uma vida saudável, inclui diariamente os alimentos conhecidos como funcionais.

Segundo a legislação brasileira propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que um nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Dois grandes ramos industriais têm demonstrado interesse na área: a indústria alimentícia e a indústria farmacêutica. No ramo alimentício as pesquisas com agentes antioxidantes objetivam não só o conhecimento de alimentos funcionais como também a obtenção de aditivos alimentícios com menos efeitos colaterais. Já no ramo farmacêutico a busca é por substâncias de excelência quanto aos aspectos funcionais no combate aos radicais livres e todos os possíveis males que podem causar à saúde humana (DEGASPARI; WASCZYNSKYJ, 2004).

Quando relacionamos alimentação a uma vida saudável percebemos que alimentos capazes de atuar frente a doenças e na sua prevenção são um objetivo de estudo em comum

entre a indústria alimentícia e farmacêutica devido, principalmente, a grande contribuição que pode ser ofertada para a sociedade.

Os compostos fenólicos são largamente encontrados no reino vegetal. Dentre as frutas consideradas como alimentos funcionais, as uvas e seus derivados aparecem sempre em posição de destaque. Principalmente, após a associação do consumo regular do vinho a uma vida saudável, já incluído como complemento extra-pirâmide no modelo de Pirâmide Alimentar de Havard (DAPCICH, 2004)

Os vinhos e as frações extraídas de vinhos tintos monovarietais derivados das uvas *Syrah* e *Cabernet Sauvignon* provenientes no Vale do São Francisco demonstraram considerável atividade antioxidante (LUCENA, 2008).

O Vale de São Francisco engloba cidades entre Pernambuco e Bahia. A região caminha para ser um dos importantes produtores vitivinícolas do país. Responsável por 99% da uva de mesa exportada pelo Brasil e pela produção de 6 milhões de litros de vinhos finos por ano. A vinicultura pernambucana/baiana já detém 15% do mercado nacional e emprega diretamente 30 mil pessoas no Vale do São Francisco, única região do mundo que produz duas safras e meia por ano (CODEVASF, 2010).

No processo de vinificação os compostos fenólicos são extraídos da uva e o álcool produzido na fermentação ajuda neste processo. O conteúdo de fenólicos que restam no bagaço e o teor inicial que contém a uva do Vale de São Francisco são interesses deste estudo.

O bagaço é um subproduto da vinificação que geralmente é desprezado na natureza. Estudos já têm demonstrado sua atividade no combate de doenças. Produtos alimentícios foram desenvolvidos para seu reaproveitamento como, por exemplo, no trabalho realizado por Ishimoto (2008) que desenvolveu um picolé a base de bagaço. Neste mesmo estudo, Ishimoto mostrou que a suplementação da ração de hamsters com o bagaço da uva foi capaz de melhorar o perfil lipêmico dos animais mantidos em dietas com alto teor de lipídeos. A redução dos níveis de colesterol nos animais do grupo cuja dieta foi suplementada com o bagaço da uva chegou a 32%.

Outro produto da uva que tem sido investigado quanto aos benefícios ofertados á saúde humana é o suco de uva que, por não conter álcool em sua formulação, pode ser uma alternativa ao consumo de vinho.

Diante o exposto, objetivamos avaliar o potencial antioxidante das uvas *Syrah* e *Carbernet Sauvignon*, do bagaço (subproduto de vinificação) da uva *Syrah*, provenientes do Vale de São Francisco e sucos de uvas comercializados na cidade de João Pessoa.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial antioxidante das uvas *Syrah* e *Carbernet sauvignon*, do bagaço (subproduto de vinificação) da uva *Syrah*, provenientes do Vale de São Francisco e em 30 sucos de uvas comercializados na cidade de João Pessoa.

### 2.2 Objetivos específicos

Desenvolver uma metodologia para extração de fenólicos totais e resveratrol nas uva e bagaço da uva.

Determinar a concentração de *cis* e *trans*-resveratrol das uvas, bagaço da uva e de 30 sucos de uvas engarrafados e comercializados na cidade de João Pessoa;

Verificar se a irradiação solar influencia o teor dos isômeros do resveratrol encontrados na uva *Syrah*, coletada sob o sol e das coletadas na sombra (sob folhagens da videira);

Determinar o teor de fenólicos totais nas uvas, bagaço e de 30 sucos de uvas engarrafados e comercializados na cidade de João pessoa;

Determinar o tempo de extração ideal para o bagaço de uva, utilizando-se o teor de fenólicos totais para isto;

Determinar a atividade antiradicalar frente ao radical DPPH de uvas, bagaço da uva e de 30 sucos de uvas engarrafados e comercializados na cidade de João pessoa;

Determinar as Antocianinas monoméricas na casca das uvas, no bagaço e nos sucos de uva;

Avaliar a influência do sol sobre a atividade antirradicalar dos extratos de uva *Syrah* coletadas sob o sol e coletadas sob folhagens da videira.

Verificar a presença de flavonóides e ácido fenólicos na corrida cromatográfica utilizada na determinação do resveratrol.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Uva

A uva é o fruto da videira (*Vitis sp.*), uma planta da família das *Vitaceae*. É utilizada freqüentemente para produzir suco, doce (geléia), vinho e passas, podendo também ser consumida crua.

O cultivo da videira no Brasil foi introduzido em 1535, mas foi com a chegada de imigrantes italianos que esta atividade começou a ter importância econômica, no século XIX (GUERRA et al., 2009).

Em 2009, a produção de uvas no Brasil foi de 1.345.719 toneladas, sendo que, praticamente a metade (678 169 toneladas) foi destinada para a produção de vinhos, sucos de uvas e derivados (MELLO, 2009). Não existe no Brasil dados estatísticos sobre a comercialização e produção dos vinhos e sucos de uva que englobe todas as regiões produtoras. Estima-se apenas que o consumo percapita de vinhos, sucos de uva e uvas de mesa são de 2,01L, 0,54L e 3,54 kg, respectivamente (MELLO, 2006).

As duas maiores regiões produtoras no Brasil são o Rio grande do Sul e o Vale de São Francisco. No vale do São Francisco, a videira é a terceira cultura mais importante em termos de área plantada, dentre as culturas frutíferas. O clima da região permite a colheita de mais de uma safra, com características diferentes, chegando a produzir 6 000 000 litros de vinho fino por ano (CODEVASF, 2010).

O mercado consumidor do país para os vinhos do Vale de São Francisco tem crescido consideravelmente e começam a ser comercializados também no mercado europeu. Oito vinícolas engarrafam cerca de 10 marcas diferentes, representando 15% da produção nacional de vinho fino. Os vinhos do Vale são jovens e competem de maneira muito satisfatória com produtos similares de áreas tradicionais de produção no país, como o Rio Grande do Sul, e também no exterior, como o Chile, Argentina, Estados Unidos e Europa (CODEVASF, 2010).

A vitivinicultura levou crescimento econômico a região devido ao seu alto volume de produção e qualidade da uva produzida (SILVA; CORREIRA, 2004). Não só seu aspecto lucrativo tem estado em evidência ultimamente, mas a correlação que tem sido feita entre a uva e prevenção de doenças. Tudo isto devido a identificação de compostos químicos que têm atuação comprovada frente à patologias. Cerca de 1600 compostos já foram identificados na

uva, incluindo-se as antocianinas, catequinas, licopeno, quercetina e compostos antioxidantes (PEZZUTO, 2008).

Os teores de compostos químicos variam muito entre os cultivares. Variações no perfil de compostos polifenólicos produzem uvas com sabores e cores variadas (ABE et al., 2007). Caracterizar os diferentes tipos de uva torna-se importante.

A uva destinada à produção de vinho é colhida segundo diferentes critérios, em função do tipo de vinho a ser elaborado e das condições climáticas. O critério mais utilizado é o do teor de açúcares. Sabe-se que, para a obtenção de 1°GL de álcool, são necessários 18g/L de açúcar na uva. Para que um vinho conserve-se adequadamente, o mesmo deve ter no mínimo 11°GL. Desse modo, para que o vinho contenha 11°GL, o mesmo deverá ser elaborado com uvas contendo pelo menos 20% (198g/L) de açúcar (GUERRA, 2003).

Outro parâmetro utilizado para determinar a data de colheita é a maturação fenólica, onde são quantificadas as antocianinas e taninos. A extratibilidade das antocianinas e o teor de taninos das cascas (que conferem qualidade ao vinho) são tanto maiores quanto mais avançada estiver a maturação das bagas de uva. Este parâmetro é levado em consideração desde que se respeitem outros fatores importantes para a qualidade (como aromas e ácidos) que pode perder-se se a colheita for realizada demasiadamente tarde (GUERRA, 2003).

A colheita da uva é denominada de vindima. Cada tipo de vinho e cada tipo de uva têm uma vindima elaborada de diferentes formas e épocas. A elaboração de um bom vinho está muito ligada à escolha de uvas que tem um bom grau de maturação e que estão também com boa sanidade. A vindima deve ser realizada quando a uva estiver perfeitamente madura, variando apenas se o que se busca é um vinho mais licoroso e seco, aonde a uva permanece por mais tempo no pé. O tempo decorrido entre a colheita da uva e produção do vinho varia muito, depende do tipo e qualidade sensorial do produto final (RIZZON;MANFROI, 2006).

As diferentes etapas da produção do vinho têm tempos determinados pelos fabricantes, por exemplo, a fermentação pode durar até 6 dias. Para obtenção de vinhos envelhecidos as vinícolas submetem o vinho ao processo de amadurecimento onde o produto perde sua tanicidade e adstringência. Esta etapa pode durar de 6 a 12 semanas (RIZZON;MANFROI, 2006).

No caso de uvas destinadas à elaboração de suco, os aspectos mais importantes a considerar são o teor de açúcar, que deve ser o maior possível, acidez equilibrada, similar àquela considerada ideal para vinhos, e altos teores de matéria corante (intensidade superior a 1,000). Este último aspecto está diretamente relacionado com a aceitabilidade por parte do consumidor. Sucos com baixa intensidade de cor não são atrativos. Além disso, uvas com

baixos teores em pigmentos são deficientes em açúcar e excessivamente ácidas, de modo que a cor é também um bom indicador da qualidade geral da uva e, por consequência, do suco (GUERRA, 2005).

### 3.1.1 Estrutura e classificação das uvas

O cacho de uva é composto de duas partes básicas – o engaço (3 a 6%) e os bagos (94 a 97%). Os bagos são formados pela película (7 a 12%), polpa (83 a 91%) e sementes. A polpa pode ser macia ou dura, sucosa ou carnosa, dependendo da variedade. As sementes encontram-se no centro do bago e variam de zero a quatro dependendo da variedade. (PACHECO, 1995 apud BRUNELLO et al., 2009).

Quanto ao destino da produção, as uvas são classificadas em uva de mesa, para consumo *in natura* ou produção de sucos e *Vitis vinifera* para vinicultura (GUERRA et al., 2009).

*Vitis labruscas* é uma espécie de videira que produz uvas para consumo *in natura* e produção de sucos, podendo também ser utilizadas para a produção de vinhos. É uma videira de originária da América do Norte que contém uvas como: uva Isabel, Bordô e Niágara rosada (GUERRA et al., 2009).

*Vitis vinifera* é a espécie de videira (*Vitis sp.*) mais cultivada para a produção do vinho na Europa. Tem sido cultivada por várias civilizações européias há milhares de anos, o que originou dezenas de variedades, as denominadas *castas*, através de seleção artificial. A *Cabernet Sauvignon* e a *Syrah* são casta de uvas tintas (GUERRA et al., 2009). Cerca de 13 % dos vinhos finos brasileiros são produzidos a partir de castas *Vitis vinifera* (IBRAVIN,2010).

*Cabernet Sauvignon* é uma antiga variedade de uva da região de Bordeaux, França. No Brasil foi introduzida em 1913 quando começou a ser cultivada experimentalmente pelo Instituto Agrônomo e Veterinário de Porto Alegre (GUERRA et al., 2009). Considerada a uva mais nobre do mundo, tem cor carregada e pele grossa, com muito tanino (SANTOS, 2004).

*Syrah* é uma das mais antigas castas cultivadas. Sua origem ainda é duvidosa. Têm-se dúvida entre Schiraz, na Pérsia e Vila de Siracusa, na Sicília. É uma casta muito vigorosa e produtiva, características que, aliadas a sua alta sensibilidade a podridões do cacho, a tornam de difícil cultivo nas condições ambientais da Serra Gaúcha. Todavia, nas condições semi-

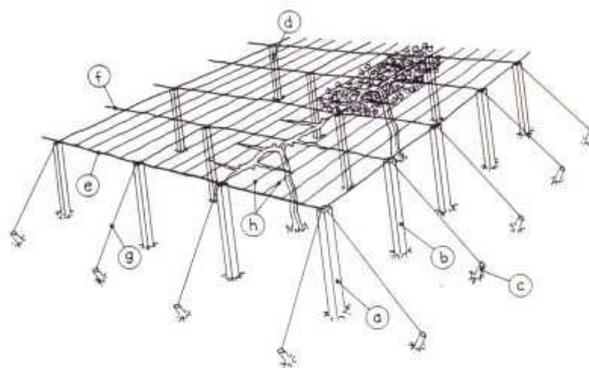
áridas do Nordeste, tem mostrado ótima performance na região do Vale de São Francisco (GUERRA et al., 2009).

### 3.1.2 Sistema de condução das videiras

A videira é uma planta que não pode ser cultivada satisfatoriamente sem alguma forma de suporte. Apresenta diversidade de arquitetura de seu dossel vegetativo e das partes perenes. A distribuição espacial do dossel vegetativo, do tronco e dos braços, juntamente com o sistema de sustentação, constitui o sistema de condução da videira. O sistema de condução do vinhedo pode afetar significativamente o crescimento vegetativo da videira, a produtividade do vinhedo e a qualidade da uva e do vinho (MIELE; MANDELLI, 2010).

Existe uma diversidade de sistema de condução utilizados no mundo, porém no Brasil os mais utilizados são o latada ou pérgola e o espaldeira (MIELE; MANDELLI, 2010).

O sistema latada caracteriza-se pelo dossel vegetativo horizontal. A estrutura do sistema de sustentação é formada pela posteação e pelo aramado. A posteação compreende as cantoneiras, postes externos, rabichos, postes internos e tutores; o aramado é formado pelos fios e cordões (Figura 1).

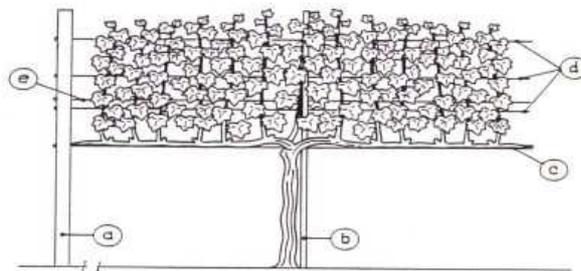


**FIGURA 1.** Sistema de condução da videira em latada: a) cantoneira; b) poste externo; c) rabicho; d) poste interno; e) cordão primário, f) cordão secundário; g) cordão-rabicho; h) fio simples (MIELE; MANDELLI, 2010).

Neste sistema a posição horizontal do dossel vegetativo pode causar sombreamento, pois os galhos ficam dependurados sob uma trama de folhas e ramos escondidos da insolação.

Este sombreamento pode afetar a fertilidade das gemas e a qualidade da uva e do vinho (MIELE; MANDELLI, 2010).

O sistema de condução espaldeira caracteriza-se por um dossel vegetativo vertical. A estrutura do sistema de sustentação é formada de postes externos e internos, rabichos, tutores e fios (Figura 2). Dois ou mais arames paralelos são esticados por estacas entre as parreiras plantadas em fileira. As uvas recebem luz direta o que contribui para um melhor amadurecimento (SANTOS, 2004)



**FIGURA 2.** Sistema de condução da videira em espaldeira e com poda mista: a) poste externo; b) poste interno; c) fio da produção; d) fios fixos do dossel vegetativo; e) fio móvel do dossel vegetativo (MIELE; MANDELLI, 2010).

### 3.2 Suco de uva

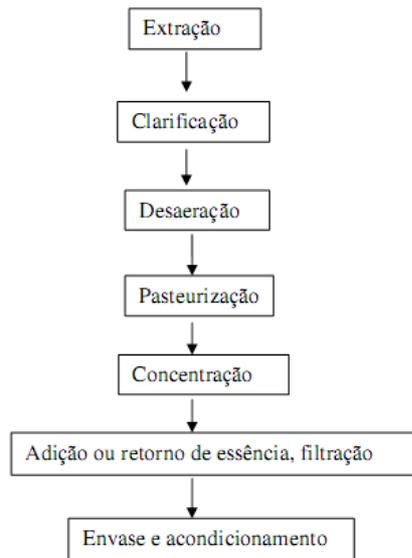
O suco da fruta é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo (BRASIL, 2003).

O suco é consumido pelo homem há muitos anos *in natura*. A comercialização industrial começou em 1869 com o engarrafamento do suco não fermentado (VARNAM et al., 1997). Hoje a tecnologia da preparação do suco de frutas permite a comercialização em grande escala do produto que antigamente era consumido apenas fresco.

A qualidade da matéria-prima é imprescindível. As frutas que são utilizadas são geralmente cultivadas e destinadas, especificamente, para a preparação dos sucos. A escolha

da fruta deve seguir requisitos como o grau de maturação, ausência de contaminação microbiológica, alteração física e a variedade da espécie que pode interferir no sabor do produto final (VARNAM et al., 1997).

As principais etapas da preparação do suco são: extração, clarificação, desaeração, pasteurização, concentração, adição ou retorno de essência, filtração, envase e acondicionamento (Figura 3).



**FIGURA 3.** Fluxograma da preparação dos sucos de frutas (Fonte: o autor).

Os métodos de produção influenciam na composição química do produto final. O método de prensagem no processo de produção de suco de uva tem grande efeito sobre a extração de resveratrol, composto fenólico encontrado na casca da uva tinta (FULEKI, 2001 apud SAUTTER et al., 2005). Claro que a cultivar terá maior influência sobre a concentração do resveratrol.

Estudos mostram que o suco da cultivar *Concord* prensado a quente e o suco de uvas brancas produzido por maceração a frio antes da prensagem são boas fontes de resveratrol (SAUTTER et al., 2005).

O suco de uva obtido pela diluição do concentrado ou desidratado até sua concentração natural, deverá ser designado suco de uva reprocessado ou reconstituído, podendo conter ou não adição de açúcar. A designação integral ou simples é privativa do suco de uva sem adição de açúcares e na sua concentração natural (BRASIL, 1990).

O Néctar é a bebida não fermentada, obtida da dissolução, em água potável, da parte comestível da fruta e adicionada de açúcares. Pode ou não ser acrescida de ácidos e é destinada ao consumo direto. O néctar cuja quantidade mínima de polpa de uma determinada fruta não tenha sido fixada em Regulamento Técnico específico deve conter no mínimo 30% (m/m) da respectiva polpa, ressalvado o caso de fruta com acidez ou conteúdo de polpa muito elevado ou sabor muito forte e, neste caso, o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 20% (m/m) (BRASIL, 2003).

A designação de suco ou néctar é realizada pelo ministério da agricultura que os diferencia principalmente pelo teor de polpa da fruta utilizada. Suco integral é um produto composto por 100% de fruta *in natura*. Ele não pode conter aromas ou corantes artificiais. Já o néctar tem uma concentração menor de suco, que varia de 20% a 30% conforme a fruta e, ao contrário dos sucos, pode receber aditivos, como corantes e conservantes (BRASIL, 2003).

O suco de uva é considerado um alimento energético por conter elevado teor de açúcar, glicose e frutose. Os açúcares presentes na uva variam de 15 a 30% em função de vários fatores como o clima, solo, estágio de maturação e variedade. Os ácidos tartárico, málico e cítrico contidos no suco de uva conferem a acidez ao mesmo o que garante um equilíbrio entre os gostos doce e ácido (SANTANA et al., 2008).

Os compostos fenólicos, também encontrados na uva e derivados, são responsáveis pela cor, adstringência e estrutura, sendo as antocianinas, os taninos e os ácidos fenólicos, os mais importantes. Os compostos nitrogenados do suco de uva são constituídos por aminoácidos, polipeptídeos e proteínas (MIELE et al., 1990).

Foi observada uma tendência de oxidação de polifenóis a quinonas regulada pela presença de ácido ascórbico e outros antioxidantes que impedem o acúmulo destas últimas, forçando o equilíbrio para o lado dos polifenóis. Porém, a vitamina C presente no suco em concentrações variadas, pode ser facilmente oxidada. A intensidade do processo depende de fatores como luz, temperatura, presença de enzimas oxidantes ou catalisadores metálicos (CHEFTEL; CHEFTEL, 1992 apud SANTANA et al., 2008).

### **3.3 Bagaço**

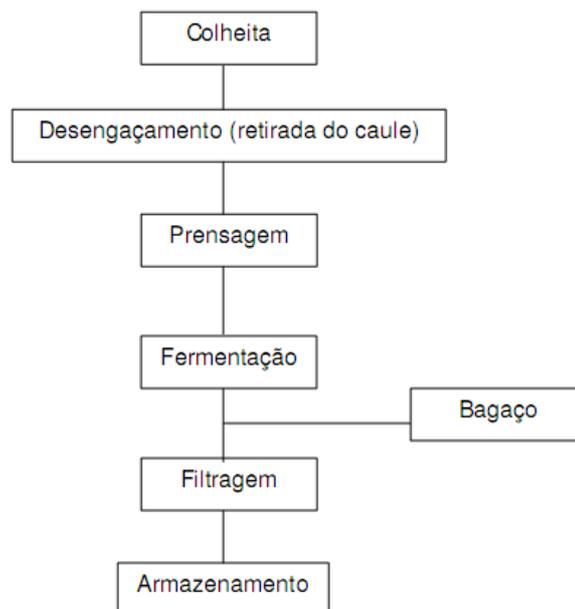
O bagaço é originado da prensagem das matérias-primas da vinificação, constituídas pelas partes sólidas das uvas (semente, casca e engaço da uva) (Figura 4). Como resíduo da

prensagem, o bagaço representa 12 a 15 % em peso da matéria-prima inicial, contendo na sua composição açúcares e outros glicídios, proteínas e, nas sementes, um elevado teor de lipídios (CAMPOS, 2005).

Na vinificação, o bagaço da uva é recolhido após a etapa da fermentação (Figura 5), podendo ser posteriormente utilizado para a produção de grappa (ou bagaceira), bebida destilada com alto teor alcoólico (40%) ou na fabricação de produtos cosméticos (LOULI et al., 2004). Sendo também utilizado como ração animal, adubo para o vinhedo ou é totalmente descartado.



**FIGURA 4 .** Bagaço da uva (Fonte: o autor).



**FIGURA 5.** Fluxograma do processo de vinificação (ISHIMOTO, 2008).

Dados da indústria mostram que para 100 L de vinho produzido geram-se 31,7 kg de resíduos, dos quais 20 kg são de bagaço (CAMPOS, 2005). Esses resíduos agroindustriais contêm uma variedade de espécies biologicamente ativas que são desperdiçadas, muitos deles ricos em compostos polifenólicos. Estima-se que, após o processamento das indústrias vinícolas, cerca de 13% do peso total das uvas são descartados (CATANEO et al., 2008).

Apesar de se tratar de um resíduo biodegradável, o acúmulo deste produto pode se tornar um sério problema ambiental, já que precisa de um tempo mínimo para ser mineralizado (CANTONEO, 2008). Por isso busca-se estudar formas de reaproveitamento pela indústria.

A natureza das castas de onde ele provém, a forma de vinificação, as condições atmosféricas que presidem a vegetação da vinha, a composição das uvas, os sistemas de condução da vinha e o estado sanitário das uvas no momento da vindima, influenciam a composição química do bagaço. (SILVA, 2003 apud ROCKENBACH, 2008a).

O bagaço é rico em polifenóis e fibras alimentares. Diferentes trabalhos têm demonstrado suas propriedades nutricionais e fisiológicas. Foi identificado no extrato etanólico do bagaço de uva tinta (*Vitis vinífera*, variedade *Negro Amaro*), o seguinte perfil de compostos fenólicos (em % do peso seco): fenólicos totais: 4,2%; flavonóides: 4%; antocianinas: 1%; taninos condensados: 2,2%; proantocianidinas: 1,3%. O teor de polifenóis encontrados nas sementes foi maior (8,5%) do que nas cascas de uvas (3,3%) (NEGRO et al., 2003).

Ruberto et al. (2007) verificaram significativa atividade antioxidante do bagaço de uva através da determinação da atividade seqüestradora de radical DPPH. O  $EC_{50}$  determinado variou entre 14-36  $\mu\text{g/mL}$  de extrato etanólico e Campos et al (2008), ao estudarem o bagaço da uva *Cabernet sauvignon* determinaram  $EC_{50}$  de 13  $\mu\text{g/mL}$  na extração com acetato de etila.

Ishimoto (2008) ao avaliar, no plasma de hamsters hipercolesterolêmicos, a capacidade dos subprodutos da uva em melhorar o perfil lipídico, verificou redução de lipídios no plasma de hamsters, principalmente com relação a triglicérides e colesterol total após administração de extrato do bagaço de uva em doses diárias.

Estes estudos demonstram que pode existir um destino mais nobre a esse resíduo industrial. Pode ser realizada a extração de substâncias com propriedades farmacológicas que estão presentes no bagaço de uva como antioxidantes a ácidos graxos bem como o desenvolvimento de alimentos enriquecidos com farinha do bagaço.

Existem diferentes estudos que avaliam a casca ou semente separadamente. Porém já foi verificado que a utilização do bagaço (casca mais semente) mostra resultados eficazes

quanto à atuação de seus componentes bioativos. Shanmuganayagam et al. (2002 apud ISHIMOTO, 2008) evidenciaram que a combinação de casca e semente de uva parece levar a uma interação sinérgica entre as substâncias bioativas na redução da agregação plaquetária. Ao administrar em cães e humanos as substâncias da uva, verificou, após oito semanas de estudo, que a combinação da casca com a semente foi mais eficaz do que a forma isolada (casca ou semente).

### **3.4 Compostos fenólicos**

Composto fenólico é um termo genérico que engloba todas as substâncias de núcleo fenólico. Fenóis são compostos que contêm um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas. Os compostos que contem múltiplos anéis fenólicos em sua estrutura são chamados de polifenólicos como exemplo tem os flavonóides e os taninos.

As videiras sintetizam os compostos fenólicos quando submetidas ao estresse biótico (defesa patogênica) ou abiótico no caso de radiação ultravioleta, temperaturas extremas, déficit hídrico e outros. Estudos demonstram que a luz ultravioleta UV-B emitida pelo sol, está associada ao aumento das enzimas responsáveis pela biossíntese de flavonóides, possivelmente para evitar dano genético (CANTOS et al., 2000).

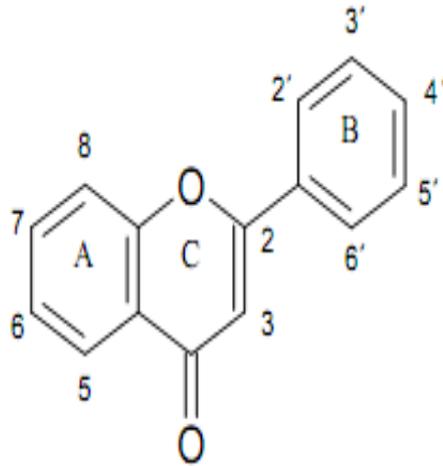
Os compostos fenólicos são classificados em dois grandes grupos, os flavonóides e os derivados do ácido benzóico e ácido cinâmico. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (canferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmico. Além destes compostos, pode-se encontrar também o resveratrol, polifenol pertencente à classe dos estilbenos (ABE et al., 2007).

#### **3.4.1 Flavonóides**

Os flavonóides representam o maior grupo de polifenóis encontrados em alimentos (SCALBERT; WILLIANSO 2000), além de serem considerados os mais potentes antioxidantes entre os compostos fenólicos (SHAHID et al., 1992; SOOBRAATTEE et al.,

2005). Os flavonóides são uma classe de compostos fenólicos que diferem entre si pela sua estrutura química e características particulares. Podem ser encontrados nas frutas, vegetais, grãos, flores, chá e vinho (NIJVELDT et al., 2001).

O termo flavonóide é um nome coletivo dado aos pigmentos de plantas derivados da benzo-g-pirona (BELINHG et al., 2004). Consistem de um esqueleto de difenil propano (C6C3C6) com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C) (Figura 6).



**FIGURA 6.** Estrutura básica de um flavonóide (BELINHG, 2004).

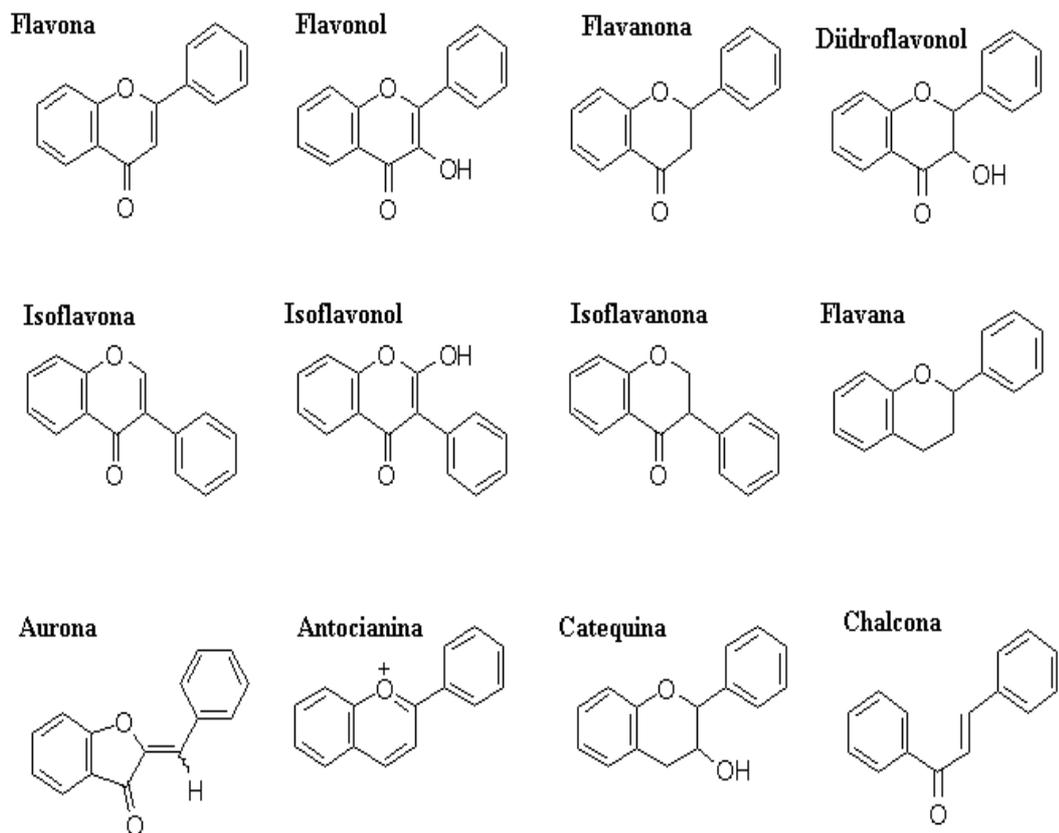
Os favonóides encontrados nas uvas e vinhos têm os mesmos grupos substituintes nas hidroxilas do anel A, nas posições 5 e 7. Diferenças no estado de oxidação e substituição no anel C definem as diferentes classes de flavonóides. Por exemplo, um anel C saturado define as flavanas, uma cetona na posição 4 (em um a insaturação entre 2 e 3) define as flavonas e o anel aromático completo, o que também tem uma carga positiva, define as antocianinas. O sufixo -ol especifica um álcool substituinte no anel C, como em flavan-3-ol (HALLIWEL, 1995) (Figura 7).

Os flavonóides freqüentemente ocorrem nos alimentos como glicosídeos, mas podem ocorrer como agliconas, ou como parte de outras estruturas que contenham flavonóides, como as flavolignanas. Eles podem ser subdivididos em 13 classes, com mais de 5000 compostos descritos até 1990. As subclasses dos flavonóides são: chalconas, dihidrochalconas, auronas, flavonas (apegenina, luteolina, diosmetina), flavonóis (quercetina, miricetina, canferol), dihidroflavonol, flavanonas (naringina, hesperidina), flavanol, flavandioliol, antocianidina, isoflavonóides (genisteína, daizdeína), biflavonóides e proantocianinas (BRAVO, 1998).

A composição de flavonóis nas diferentes partes das plantas difere consideravelmente. Os flavonóis se acumulam nas cascas e folhas das plantas porque a sua síntese é estimulada pela luz. Os frutos que recebem uma maior quantidade de luz tendem a ter uma síntese pronunciada desses compostos (PRICE et al., 1995).

Nas uvas os flavonóis são os pigmentos amarelos e são encontrados principalmente na película, e geralmente, ligados a açúcares como a glicose, rafinose e o ácido glucurônico. O flavonol predominante nas cultivares de *Vitis vinifera* é o canferol, enquanto que nas cultivares de *Vitis labrusca* é a quercetina (JACKSON, 1994).

A catequina e a epicatequina são, normalmente, encontradas em frutas, enquanto que a galocatequina, a epigalocatequina e a epigalocatequina são encontradas em sementes (YILMAZ; TOLEDO, 2004) e, principalmente, em chás (LUXIMON-RAMMA et al., 2005).



**FIGURA 7.** Estrutura química das principais classes de compostos fenólicos (MACIEL, 2009).

A (+)-catequina e (-)-epicatequina são as unidades básicas do grupo dos flavanóis. As procianidinas (também conhecidos como taninos condensados) são formadas pela associação de várias unidades monoméricas (2 a 5 unidades) de catequinas oligoméricas, além de 5 unidades de catequinas poliméricas. As procianidinas diferem em posição e configuração de outras ligações monoméricas (ABE et al., 2007).

As catequinas e epicatequinas definem o sabor e adstringência de vinhos e sucos de uva, presentes principalmente nas sementes das uvas. Quercetina, canferol e miricetina, embora presentes em menor quantidade, possuem importante papel no desenvolvimento da coloração dos subprodutos da uva, atuando como co-pigmentos junto às antocianinas (ABE et al., 2007).

#### 3.4.1.1 Antocianinas

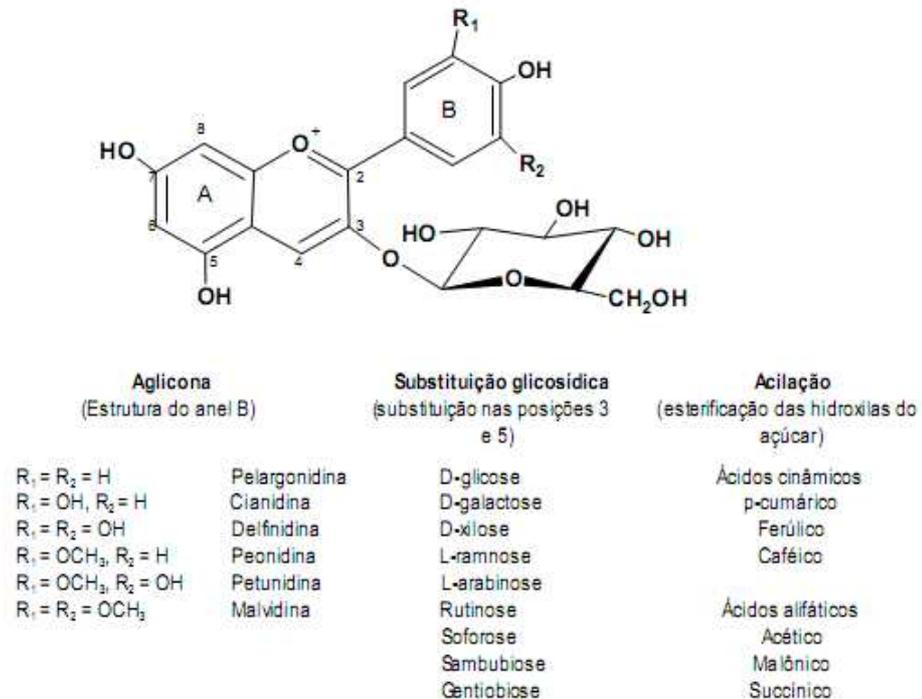
As antocianinas são amplamente distribuídas na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho, presentes em fores e frutos. Existem aproximadamente 400 antocianinas diferentes (KONG et al., 2003). Encontram-se distribuídas em numerosas famílias de plantas: *Vitaceae* (uva), *Rosaceae* (cereja, ameixa, framboesa, morango, amora, maçã, pêssego, etc.), *Solanaceae* (tamarindo, batata), *Saxifragaceae* (groselha preta e vermelha), *Ericaceae* (mirtilo, oxicoco), *Cruciferae* (repolho roxo, rabanete), *Leguminoseae* (vagem) e *Gramineae* (sementes de cereais) (JACKMAN; SMITH, 1996).

Em uvas tintas, as antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos, representando um constituinte importante para a produção de vinhos tintos porque contribuem para os atributos sensoriais e, principalmente, para a coloração do vinho (MUÑOZ-ESPADA et al., 2004).

As antocianinas são compostos solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas (SHAHIDI; NACZK, 1995 apud MALACRIDA; MOTTA, 2006).

A molécula de antocianina (Figura 8) é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos. Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e apenas seis (pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000).

Antocianinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (FRANCIS, 2000). A glicosilação pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior frequência na posição 3.



**FIGURA 8.** Estruturas químicas das antocianinas glicosiladas. (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

As uvas contêm complexa variedade de antocianinas. Goldy et al. (1986) verificaram a presença de 31 antocianinas diferentes em uvas da espécie *Vitis labrusca* (variedade *Concord*). Desse total, apenas 12 foram completamente caracterizadas: 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo de cianidina, 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo de peonidina, 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo de delfinidina, 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo de petunidina, 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo de malvidina, 3- acetilglicosídeo de malvidina e 3-p-cumarilglicosídeo de malvidina.

O suco de uva apresenta pouca diferença na composição de antocianinas em relação às uvas frescas. O suco preparado a partir de uvas da espécie variedade *Concord* apresenta como principais antocianinas cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina e malvidina, todas na forma de mono e diglicosídeos. A cianidina-3-glicosídeo e a delfinidina-3-glicosídeo são as antocianinas encontradas em maiores quantidades no suco de uva (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

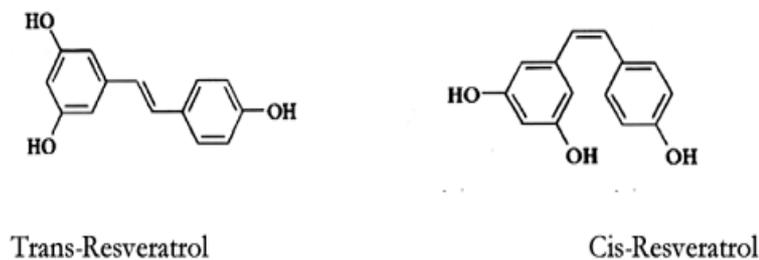
A estabilidade das antocianinas nos alimentos é influenciada pelo pH, temperatura, luz, presença de oxigênio, degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos.

O aquecimento destrói rapidamente as antocianinas durante o processamento e estocagem. Já foi demonstrada uma relação logarítmica entre a destruição das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura. Processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

### 3.4.2 Estilbenos

Os estilbenos formam uma outra classe de compostos fenólicos, e são representados na uva principalmente pelo resveratrol.

O resveratrol (3,5,4 – trihidroxiestilbeno) é um polifenol com estrutura semelhante a de um fitoestrogênio. É sintetizado naturalmente por diversas plantas como eucalipto, amendoim, amora e a uva (principalmente nas sementes e na película) em duas formas isoméricas a *trans* e *cis* (Figura 9). Sua biossíntese nas plantas é induzida por fatores ambientais como a radiação UV e infecção por fungos (LANGCAK; PRYCER, 1976). A forma *trans* é convertida para *cis*-resveratrol na presença de luz visível (SAUTTER et al., 2005). É solúvel em água com 0,03g /L e em etanol 50g /L (WIKPEDIA, 2009).



**FIGURA 9** Estrutura química dos *trans* e *cis* resveratrol (WIKPEDIA, 2009).

O resveratrol foi primeiro isolado da raiz do heléboro-branco (*Veratrum grandiflorum* O. Loes) e depois na knot weed (*Polygonum capsidatum*), uma tradicional planta medicinal japonesa, em 1963 e apenas na década de 90, foi identificada no vinho tinto

(HALLS 2008; BAUR; SINCLAIR, 2006). Desde então artigos tem focado o efeito benéfico do resveratrol através do consumo de vinho.

Dentre todos os compostos fenólicos das uvas, o resveratrol tem atraído atenção especial nas últimas décadas em decorrência de estudos epidemiológicos que mostram correlação inversa entre o consumo moderado de vinho e a incidência de doenças cardiovasculares (BAUR; SINCLAIR, 2006).

### **3.5 Fatores que afetam a presença de compostos fenólicos nas uvas**

Os compostos fenólicos podem acumular-se em todos os órgãos das plantas (raízes, caule, flores, folhas e frutos). Este acúmulo ocorre de formas diferentes dependendo dos vários tipos de planta. Na uva sua distribuição é desigual. As sementes contêm flavanóis e ácido gálico; a polpa, ácidos hidroxicinamil tartáricos; os vasos fibrovasculares, flavanóis e ácidos fenólicos do tipo benzóico e a película, todos os anteriores e ainda flavonóis e antocianinas (CABRITA et al., 2003). O resveratrol, composto de grande interesse, acumula-se na película das uvas.

Cravero e Di Stefano (1990 apud CABRITA et al., 2003) afirmam que os compostos fenólicos são sintetizadas nas células das uvas em estreita dependência do seu patrimônio enzimático, que por sua vez é uma expressão da informação codificada a nível dos genes.

Calò et al. (1994 apud CABRITA et al., 2003) afirmam ainda que as características ambientais sob as quais decorre o desenvolvimento dos bagos têm grande influência na quantidade dos compostos responsáveis pela cor, mas a natureza e as percentagens relativas destas substâncias obedecem a um determinante genético que as torna mais ou menos constantes.

Sabe-se que os compostos fenólicos participam do sistema de defesa das plantas. São metabólitos secundários que defendem os vegetais contra herbívoros e patógenos. Devido à sua diversidade química, os compostos fenólicos não apresentam apenas esta função, mas também servem como suporte mecânico, como atrativo de polinizadores ou dispersores de frutos, como proteção contra radiação ultravioleta ou reduzindo o crescimento de plantas competidoras adjacentes (YAMADA, 2004).

Desta forma podemos perceber que qualquer estímulo que provoque a ativação do sistema de defesa do vegetal poderá levar à biossíntese dos fenólicos. A resposta do

mecanismo de defesa é ativada por infecções provocadas por microorganismos, por stress induzido por luz ultravioleta (UV) ou por agentes químicos como surfactantes, antibióticos, sais de metais pesados entre outros.

Entre os compostos fenólicos, a lignina, as fitoalexinas e os taninos têm papéis importantes na defesa vegetal (YAMADA, 2004).

A lignina promove resistência física, tornando a planta indigerível aos herbívoros. Os taninos agem como repelentes alimentares à grande variedade de animais e também auxiliam na prevenção da decomposição por fungos e bactérias (YAMADA, 2004).

As fitoalexinas constituem um grupo de metabólitos secundário quimicamente diverso, que se acumulam em torno do local de infecção e apresentam atividade antimicrobiana. Mais de 300 tipos de fitoalexinas já foram caracterizadas. Podemos citar ainda as cumarinas, diterpenos, flavonóides, luteolinidina, apigenidina e apigeninidina (MAZARO et al., 2008).

Diversas plantas usam as fitoalexinas como sistema de defesa, porém cada família botânica sintetiza compostos distintos para este fim. Por exemplo, os isoflavonóides são fitoalexinas comuns em leguminosas, enquanto em plantas da família Solanaceae, como batata, tabaco e tomate, vários sesquiterpenos são produzidos como fitoalexinas (YAMADA, 2004).

As fitoalexinas mais conhecidas da família *Vitaceae* constituem um grupo restrito de moléculas do grupo dos estilbenos cuja estrutura molecular baseia-se no esqueleto do *trans*-resveratrol (SOUTO et al., 2001).

A uva sintetiza resveratrol em resposta a agressões sofridas pela planta. Essas agressões podem ser danos mecânicos, ataque de patógenos fúngicos (*Botrytis cinerea*), por irradiações ultravioleta (UVC e UVB) e por substâncias químicas como etileno e ozônio (SAUTTER, 2003).

Em 1981, Langcake, ao estudar a resistência das videiras frente aos fungos *Botrytis cinerea* e *Plasmopora viticola* constatou que no local do ataque houve um aumento da concentração de pterostilbeno (derivado de resveratrol),  $\epsilon$ -viniferin e  $\alpha$ -viniferin.

Outros estudos já revelaram que a velocidade e a intensidade de formação do resveratrol estão relacionadas com a resistência da videira ao ataque do fungo *Botrytis cinerea* (COPELLI, 2005)

Adrian et al. (1996) ao tratarem folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis rupestris* com concentrações diferentes de cloridrato de alumínio, constatou após 15 dias o aumento de resveratrol. Grimming et al. (2002), ao estudarem a resposta do gene promotor de estilbeno

sintetase, sugeriram que o ozônio induz a biossíntese de estilbeno e que o etileno induz indiretamente a síntese de resveratrol.

Cantos et al. (2003) após submeterem diferentes castas de uva viníferas a radiação UVC observaram aumento na concentração de resveratrol, viniferina e piceatanol. Verificou-se neste estudo aumentos em torno de 2,4 a 10,9 vezes no teor total de estilbenos. O teor de resveratrol na *Cabernet sauvignon* aumentou 22,7 vezes após a radiação.

### 3.6 Atividade antioxidante dos compostos fenólicos

Antioxidante é uma substância que diminui os efeitos adversos de espécies reativas nas condições fisiológicas normais nos seres humanos (HUANG; PRIOR, 2005). As espécies reativas causam um dano oxidativo que pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana, aumento na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade e à morte celular (CERQUEIRA et al., 2007). São esses efeitos que têm sido associados ao envelhecimento e ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas.

Podemos dividir os antioxidantes em duas classes: a daqueles com atividade enzimática e a dos sem essa atividade (ANGELO; JORGE, 2007).

Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Incluem-se neste grupo as enzimas superóxido dismutase, a catalase e a glutatona peroxidase (HUANG; PRIOR, 2005)

Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radiculares e são consumidas durante a reação. Aqui incluem-se os cofatores de enzimas antioxidantes (Selênio, Coenzima Q<sub>18</sub>), inibidores de enzimas oxidativas (aspirina e o ibuprofeno), quelantes de metais (EDTA) e os sequestradores de radicais (vitamina C e E) (HUANG; PRIOR, 2005).

Os polifenóis são sequestradores de radicais. São capazes de captar radicais alcóxila (RO•), alquilperóxila (ROO•), superóxido (O<sub>2</sub>•-), radical hidroxila (HO•), óxido nítrico (NO•), além do oxidante peroxinitrito (ONOO/ONOOH) (CERQUEIRA et al., 2007).

A capacidade antioxidante dos polifenóis é influenciada pelo número e posição dos grupos OH, assim como pelas posições de glicosilação. Sua estrutura permite sua atuação em meio aquoso e na camada fosfolipídica (SUN et al., 2007).

Os flavonóides protegem os tecidos dos radicais livres e da peroxidação lipídica. Esta característica é devido à sua capacidade de seqüestrar radicais livres e quelar íons metálicos. A propriedade antioxidante é direcionada sobre o radical hidroxil ( $\bullet\text{OH}$ ) e o ânion superóxido ( $\bullet\text{O}_2$ ), que são espécies altamente reativas envolvidas na iniciação da peroxidação lipídica. O radical hidroxil e o ânion superóxido estão envolvidos no dano tecidual por iniciarem a peroxidação lipídica e destruição da matriz intersticial. Além destes efeitos importantes, os flavonóides têm propriedades estabilizadoras de membrana, podendo afetar alguns processos do metabolismo intermediário (BEHLING et al., 2004).

Muitos mecanismos antioxidantes têm sido propostos para os flavonóides. Tais mecanismos incluem: a) supressão da formação de espécies reativas do oxigênio pela inibição do sistema enzimático responsável pela geração de radicais livres (ciclooxigenase, lipoxigenase ou xantina oxidase); b) quelação de íons metálicos que podem iniciar a produção de radicais hidroxil pela Reação de Fenton ou Harber-Weis; c) seqüestro de radicais livres; d) regulação positiva ou proteção das defesas antioxidantes por induzir a fase II de enzimas como glutathione transferase que aumenta a excreção de espécies oxidadas ou e) indução de enzimas antioxidantes como a metalotioneína que é uma proteína queladora de metais, com propriedades antioxidantes (PIETTA, 2000).

Embora os estudos *in vitro* indiquem a eficácia de polifenóis como antioxidantes o estudo da sua biodisponibilidade apresenta controvérsias. Estudos relacionando estas substâncias e as reduções de oxidações envolvidas em doenças cardiovasculares mostram atividade para concentrações que variam de 0,1 a 100  $\mu\text{mol/L}$ . Porém, os níveis fisiológicos após ingestão geralmente encontram-se em torno de 1  $\mu\text{mol/L}$ ; desta forma, nem todos os polifenóis consumidos apresentarão atividade antioxidante (ROSS; KASUM, 2002).

Acredita-se ainda que os polifenóis podem exercer efeitos benéficos a saúde não relacionados com sua atividade antioxidante, atuando direto no trato gastrointestinal. Entre esses efeitos inclui-se a ligação a inibidores de telomerase, regulação de vias de transdução de sinal, inibição da enzima conversora de angiotensina, competição com glicose para transporte transmembrana e a alteração da função de plaquetas (CERQUEIRA, 2007).

## 4.MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica LTF da Universidade Federal da Paraíba-UFPB.

### 4.1 Amostras

As amostras de uva *Syrah* e *Carbernet sauvignon*, foram coletadas na fazenda Vinibrazil localizada em Petrolina, PE, às 08:00 horas da manhã em fevereiro de 2010. Foram acondicionadas em isopor contendo bolsa térmica reutilizável durante o trajeto Petrolina-João Pessoa. Até realização das análises foram mantidas congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e protegidas da luz.

As uvas *Syrah* estavam sobre sistema de plantio espaldeira (Figura 10), permitindo-se coletar amostras totalmente expostas ao sol (Figura 11) e amostras sombreadas pelas folhas da videira (Figura 12). Devido ao sistema de plantio do tipo pérgola (Figura 13), não foi possível coletar uvas *Carbernet sauvignon* sob o sol e sombreadas, pois o sistema de plantio colocava as amostra, em boa parte do dia, parcialmente sombreadas.



**FIGURA 10.** Sistema de condução espaldeira utilizado no cultivo da *Syrah* na fazenda Vinibrazil, em Petrolina, PE.



**FIGURA 11** - Cachos de uva *Syrah* sob o sol.



**FIGURA 12:** Cachos de uva *Syrah* sombreadas (sob folhagens da videira)



**FIGURA 13:** Sistema de condução do tipo latada ou pérgola da uva *Carbernet Sauvignon*

O bagaço de uva foi seco de forma natural pela Vinibrasil e enviado acondicionado em sacola plástica dentro de caixa de papelão, mantido congelado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e protegidas da luz até realização das análises. O tempo entre o recebimento do produto e realização das análises foi de 20 dias.

Foi realizada uma pesquisa de mercado onde foram encontradas 30 marcas de sucos diferentes. As 30 amostras de suco de uva, foram adquiridas no comércio da cidade de João

Pessoa, sendo 11 marcas de sucos integrais (IN), 8 marcas de suco de uva reprocessados (SR) e 11 marcas de néctares de uva (NE). As amostras de sucos foram mantidas sobre refrigeração até realização das análises que durou cerca de três meses. Os sucos estavam embalados em garrafas de vidro transparente e os néctares em embalagens cartonadas ou de folha de alumínio. Abaixo na Tabela 1 estão listados as origens dos sucos de uva.

**Tabela 1.** Origem das amostras de suco.

Amostra	Origem	Amostra	Origem	Amostra	Origem
IN 1	RS	SR1	MG	NE1	SP
IN2	RS	SR2	CE	NE2	ES
IN3	RS	SR3	CE	NE3	SP
IN4	RS	SR4	PE	NE4	ES
IN5	CE	SR5	RS	NE5	SP
IN6	SP	SR6	SP	NE6	SP
IN7	RS	SR7	SE	NE7	SP
IN8	MT	SR8	SE	NE8	SE
IN9	RS			NE9	BA
IN10	RS			NE10	PE
IN11	RS			NE11	SC

#### 4.1.1 Preparo das amostras

As uvas foram descascadas manualmente e sua pele (4,6 g) foi liofilizada (equipamento da Marca Terroni, Modelo: LS 3000) a uma temperatura de  $-40^{\circ}\text{C}$  durante 12 horas. Antes de ser liofilizado a amostra foi mantida a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante 12h. Desta forma obteve-se 700 mg de casca seca liofilizada.

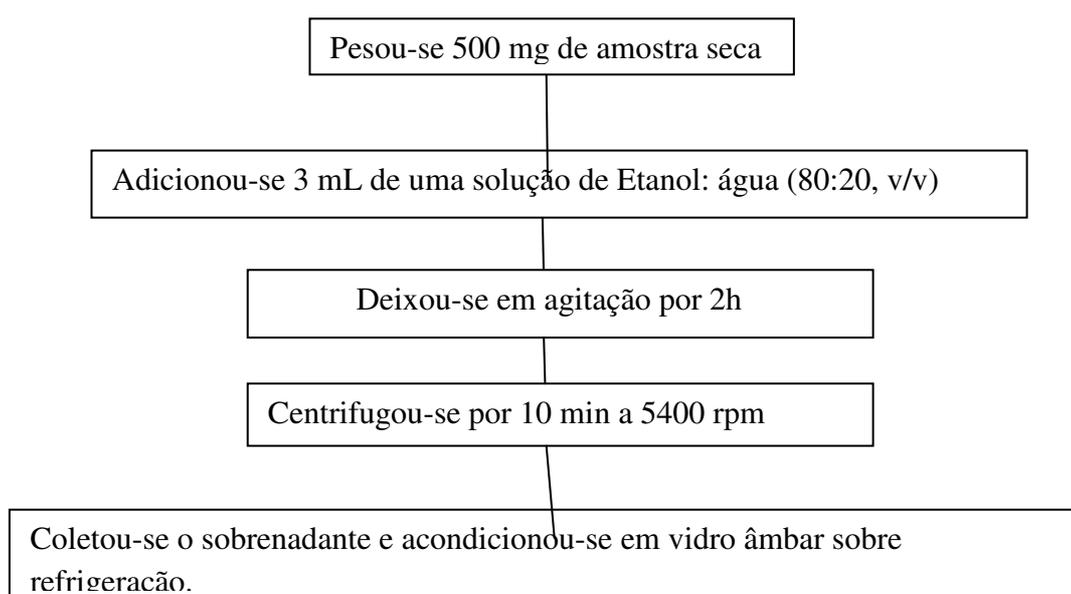
Foi desenvolvida uma metodologia de extração na uva baseada no método de Romero-Perez, 2001 (Figura 14). Pesou-se 500 mg de casca da uva liofilizada, e adicionou-se 3 mL de Etanol: água (80:20, v/v) em um tubo falcon. Este foi levado ao ultrassom (equipamento da marca: Unique, modelo: Usc 1400) por 2 horas. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 5400 rpm (equipamento da marca: Jouan, modelo: Me23i). Coletou-se o sobrenadante, e este foi acondicionado em vidro âmbar sobre refrigeração até a realização das

análises, segundo fluxograma apresentado na Figura 14. O peso seco dos extratos foi determinado após secagem de 1 mL em estufa a 105°C (Marca:Fanem, Modelo; Orion 515) durante 6h. O peso seco obtido foi de 94,6±2,68mg/mL para a uva *Syrah* totalmente exposta ao sol, 61±2,43mg/mL para uva *Syrah* sombreada, 61,13±5,55mg/mL para a uva *Cabernet Sauvignon* e de 8,47±1,47mg/mL para o bagaço.

O bagaço foi desidratado em estufa com circulação e remoção de ar a 40° C durante 10 horas (equipamento Marca: Tecnal e modelo: TE 394/2). Foi então triturado em moinho de facas (Marca Tecnal, Modelo: TE 631). O triturado foi tamisado num conjunto de 5 peneiras (12, 20, 28, 48 e 80 mesh).

Usou-se o triturado resultante da peneira de 28 mesh para realização do experimento. A metodologia descrita na Figura 14 foi utilizada também para obter extrato do bagaço previamente triturado e tamisado. O tempo de extração no ultrassom foi selecionado a partir da determinação de fenólicos totais, testando-se tempos entre 10 minutos e 600 minutos.

Os sucos de uva adquiridos no comércio local foram acondicionados sobre refrigeração e alíquotas foram utilizadas para a determinação de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e quantificação do resveratrol. Para a avaliação da atividade seqüestradora do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH●), foi utilizada uma solução estoque do suco liofilizado a 200mg/mL em água. Uma alíquota de 3 mL de cada suco foi liofilizado (equipamento da Terroni, modelo: LS 3000) durante 12 horas a -40°C, rendendo aproximadamente 1g.



**FIGURA 14:** Obtenção de extrato das uvas *Syrah* e *Carbernet Sauvignon*, bagaço da uva *Syrah*.

## 4.2 Determinação de resveratrol

### Método Cromatográfico:

Foi utilizado método de quantificação previamente validado em nosso laboratório, que tomou como base para a validação do método a resolução RE n<sup>o</sup> 899 da ANVISA. Os padrões de resveratrol (isômeros *cis* e *trans*, Cayman Chemicals, EUA) foram utilizados em concentrações que variaram entre 0,1 a 40 µg/mL. O método utiliza um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, Tóquio, Japão) com detector de arranjo diodos (Marca: Shimadzu, modelo SPD-M10Avp), com coluna cromatográfica C8 de 15 cm X 4,6 mm de diâmetro interno (Marca: Shim-pack, modelo: CLC-C8) e partículas de 5,0 µm de diâmetro e pré-coluna C-8 de 1,0 cm X 4,0 mm de diâmetro interno. A amostra foi introduzida através de um injetor manual, com loop de 100 µL. A fase móvel utilizada foi uma mistura de MeCN: solução aquosa de ácido fórmico 0,1 % (25:75, v/v) (JT.Baker/ Dinâmica, cod. 1105) sob um fluxo de 2,0 mL/minuto. O *trans*-resveratrol foi quantificado em 307nm e o *cis*-resveratrol em 285nm e identificados pela comparação dos tempos de retenção com os seus respectivos padrões. Parte dos sucos foram analisados num aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, Tóquio, Japão) com detector de UV-Visível (CLAE-UV-Vis).

As amostras de extratos das uvas e bagaço (2,5 mL) foram evaporadas por nitrogênio líquido em um concentrador de amostras (Marca: Techne, Modelo: DB-3 DrY- BlocK) e reconstituídos em 2 mL de fase móvel constituída de MeCN: solução aquosa de ácido fórmico 0,1 % (25:75, v/v). A solução resultante foi posta em ultrassom por 15 minutos e filtradas em membrana Millipore 0,45µm(Sartorius Stendem- Alemanha).antes de serem injetadas no aparelho.

Os sucos de uva inteiros foram apenas homogeneizados e filtradas em membrana Millipore 0,45 µm antes de serem injetados no cromatógrafo. A determinação de resveratrol nas uvas e bagaço foi realizada em quintuplicata enquanto que os sucos de uva foram analisados em triplicata. As equações das retas das soluções padrões de resveratrol foram:  $y=24488x+2082,5$  ( $r^2=0,9984$ ) para *trans*-resveratrol e  $y=9390x - 3189,8$  ( $r^2=0,9951$ ) para o *cis*-resveratrol ao analisar os estratos das uvas e bagaço. Para análise dos sucos,  $y=203039x - 511414$  ( $r^2=0,9895$ ) e  $y=59520x + 19057$  ( $r^2=0,9848$ ) para *trans* e *cis*-resveratrol,

respectivamente (no CLAE/DAD) e  $y = 136502x - 13395$  ( $r^2=0,9911$ ) e  $y=32345x + 10556$  ( $r^2=0,9273$ ) (no CLAE/UV).

### 4.3 Análise dos componentes fenólicos

A determinação do teor de fenólicos foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Gulcin et al. 2004) com modificações, utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich, Cod. 27645) como composto fenólico padrão. Foram testados os extratos da uva e do bagaço e o suco de uva inteiro

Uma alíquota das amostras (20  $\mu$ L para os extratos das uvas, 50  $\mu$ l para o extrato do bagaço após 480 minutos no ultrassom, 50  $\mu$ L para os sucos de uva), foram transferidos para um balão volumétrico de 5 mL, adicionou-se 100  $\mu$ L do reagente de Folin-Ciocalteu (Fluka, Cod. 47641) e 3 mL de água destilada, agitando-se por 1 minuto. Em seguida, foi acrescentado à mistura 300  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15%) e agitado por 30 segundos. O volume foi então aferido para 5mL com água destilada. Após 2 horas a absorbância das amostras foi medida a 760 nm num espectrofotômetro (Marca: Vanckel, Modelo: 50 UV-Vis), utilizando-se cubetas de vidro. As análises foram realizadas em triplicata e o teor de Fenólicos Totais (FT) foi determinado pela equação de regressão linear a partir da curva de calibração construída com solução padrão de ácido gálico (0,5 a 50 $\mu$ g/mL) e expressos em miligramas de equivalente a ácido gálico por litro de suco (mg EAG/L) e miligrama de ácido gálico por g de casca de uva ou bagaço, desidratados, considerando-se Erro Padrão da Média (E.P.M). A equação da curva de calibração de ácido gálico foi:  $A = 0,1298 C + 0,114$  com o coeficiente de correlação de  $r^2 = 0,9968$  onde C é a concentração de ácido gálico e A é a absorbância a 760 nm.

### 4.4 Quantificação das Antocianinas monomérica

Para a quantificação das antocianinas monoméricas, utilizou-se os extratos de uva e bagaço e o suco inteiro. A determinação foi realizada pelo método de pH diferencial (CURRENT PROTOCOLS IN FOOD ANALYTICAL CHEMISTRY, 2006). A mudança de

pH da solução provoca transformações estruturais reversíveis nas antocianinas. Essas mudanças são evidenciadas através das diferenças nos valores de absorvância no espectrofotômetro. A forma do oxônio colorido predomina em pH 1.0 e o hemiacetal descolorido predomina em pH 4.5. Este método é baseado nesta reação e permite medidas rápidas e precisas das antocianinas totais.

Sabendo que a linearidade da maioria dos espectrofotômetros permite a leitura de 1,2 de absorvância, determinou-se o fator de diluição das amostras, através da diluição com tampão cloreto de potássio, pH 1, até a absorvâncias da amostra no comprimento de onda de 510 nm estar na faixa de linearidade do espectrofotômetro. Dividindo o volume final da amostra pelo volume inicial, se obtém o fator de diluição.

Para não exceder a capacidade do tampão a amostra não deveria ser mais que 20% do volume total.

O aparelho foi zerado com água destilada em todos os comprimentos de ondas utilizados (510 nm e 700 nm).

Foram preparadas, em triplicata, diluições das amostras, uma com o tampão de cloreto de potássio (Cloreto de potássio PA da Merck®, Alemanha) a 0,025M, pH 1, e a outra com o tampão acetato de sódio (Acetato de sódio PA da Merck®, Alemanha), 0,4M, pH 4,5, diluindo cada uma pelo fator de diluição previamente determinado. Os pH foram ajustados com ácido clorídrico concentrado (Dinâmica®, cod. R. 482100, Brasil), utilizando-se um phgmetro (Phgmetro, Metter Toledo®, Modelo: MP 230).

Deixou-se que as diluições equilibrassem por 15 minutos. A leitura das amostras foi realizada em cubeta de vidro a 510nm e 700 nm num espectrofotômetron (Marca: Vanckel®, Modelo: 50 UV-Vis).

As absorvâncias das diluições foram calculadas através da seguinte equação:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})$$

A concentração das antocianinas monoméricas na amostra original foi calculada através da seguinte formula:

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/L)} = (A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Onde PM é o peso molecular, FD é o fator de diluição e  $\epsilon$  é a absortividade molar da cianidina, 3 glicosido. (PM = 449g,  $\epsilon$  = 26 900).

#### 4.5 Análise da Atividade Antiradicalar.

Avaliação da Atividade Seqüestradora do Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH●) dos extratos da uva, do bagaço e do suco de uva.

A atividade seqüestradora de radical livre é medida usando radical DPPH●, em que a sua taxa de clareamento é monitorada por um comprimento de onda característico, na presença da amostra. Na forma de radical, o DPPH● absorve a 517nm, mas sobre redução pelo antioxidante ou espécies radicalares sua absorção diminui.

O teste foi realizado segundo a metodologia de Silva et al. (2006). Utilizou-se os extratos da uva e bagaço a 15,15 e 26,66 mg/mL, respectivamente, e uma solução aquosa de suco de uva liofilizado a 200mg/mL. Após triagem preliminar, quantidades apropriadas das soluções estoques foram transferidas para balões contendo 5mL de DPPH● ( 23,6µg/mL em etanol, Sigma, Cod. D9132-1G) fornecendo concentrações finais que variaram de 3,3 a 1600 µg/mL. Cada concentração foi testada em triplicata. Após 30 minutos de agitação em aparelho de ultra-som, a quantidade de radicais DPPH● foi medida em espectrofotômetro UV-Visível (Marca: Vanckel, Modelo: 50 UV-Vis) em comprimento de onda de 517 nm. A porcentagem da atividade seqüestradora (%AS) foi calculada pela equação:

$$(\%AS) = 100 \times (A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{branco}}$$

onde  $A_{\text{branco}}$  é a absorbância de uma solução que contém apenas o radical DPPH● e etanol e  $A_{\text{amostra}}$  é a absorbância do radical na presença das soluções estoques ou do padrão ácido ascórbico.

A eficiência anti-radicalar foi estabelecida utilizando a análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ) obtido pelo programa estatístico GraphPad Prism 5.0. Os resultados foram expressos através da  $CE_{50} \pm E.P.M.$ , que representa a concentração da amostra (µg/mL) necessária para seqüestrar 50% dos radicais DPPH. As soluções estoque são consideradas ativas quando apresentam  $CE_{50} < 500$  µg/mL (CAMPOS, et al. 2003). Como padrão de referência foi utilizado o ácido ascórbico.

#### **4.6 Flavonóides e ácidos fenólicos.**

Utilizando-se o método cromatográfico descrito acima, foi verificado o perfil das amostras em dois comprimentos de onda. Para ácido fenólicos em 290 nm e para flavonóides em 320nm. Foram analisadas apenas as amostras de uva, bagaço e sucos integrais do 6 ao 11, sucos reprocessados do 5 ao 8 e os néctares 8 e 9, pois apenas estas amostras foram submetidas a cromatografia com detector de arranjo de diodos.

#### **4.7 Tratamento estatístico**

A significância estatística entre médias foi realizada através de teste *t* de student não pareado. O nível de significância adotado foi de 95% ( $p < 0,05$ ). Os testes *t* foram realizados utilizando-se o software GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Inc.).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Determinação de resveratrol

#### 5.1.1 Uvas viníferas

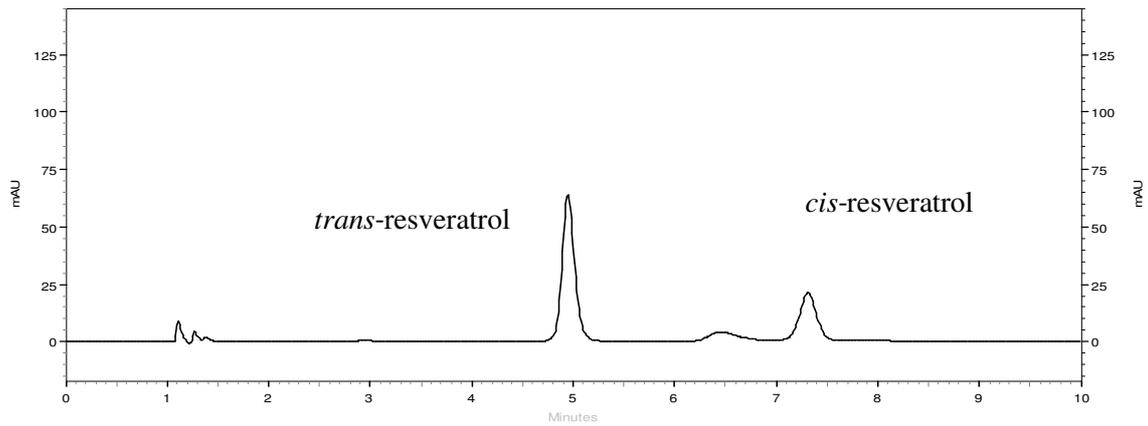
O teor de resveratrol encontrado nas uvas e no bagaço analisados estão listados na Tabela 2. As figuras 15 a 20 mostram os cromatogramas referente a detecção do resveratrol. A variedade *Syrah* foi a que apresentou maiores teores para *trans* e *cis*-resveratrol.

Os teores de *trans*-resveratrol das uvas analisadas obtiveram valores inferiores aos relatados na literatura para a mesma variedade. Sun et al. (2006) determinaram na casca da uva seca *Syrah*, de um vinhedo em Portugal, 65,67  $\mu\text{g/g}$  de *trans*-resveratrol. Iacopini et al. (2008) determinaram 255  $\mu\text{g/g}$  de *trans*-resveratrol na casca da uva *Cabernet Sauvignon* da Itália. A elevada radiação, característica da região do Vale de São Francisco pode ter levado ao baixos níveis de *trans* – resveratrol nas uvas analisadas , quando comparamos com a literatura.

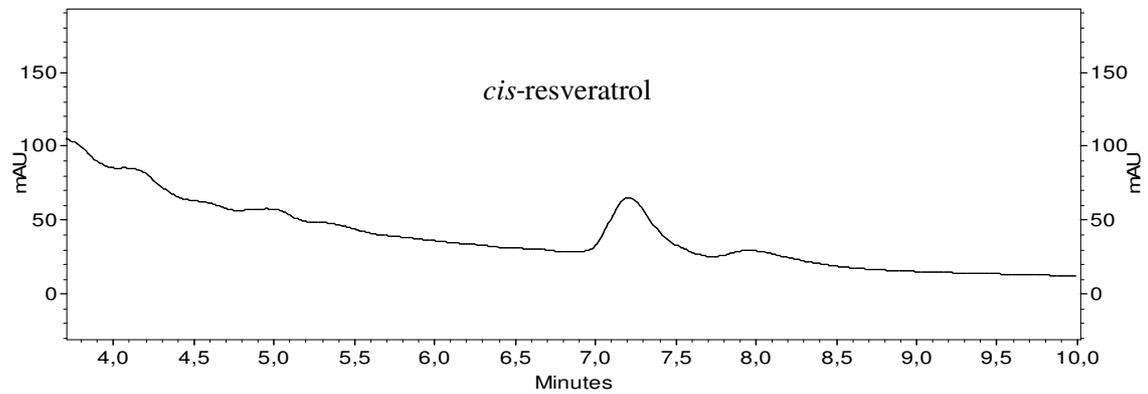
**Tabela 2.** Concentração de *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol na casca de uvas secas e no estrato do bagaço de uva seco. Safra 2010

Amostra	<i>trans</i> -resveratrol ( $\mu\text{g/g}$ ) *	<i>cis</i> -resveratrol ( $\mu\text{g/g}$ ) *
Casca da uva <i>Syrah</i> sol	nd	86,45 $\pm$ 24,29 <sup>a</sup>
Casca da uva <i>Syrah</i> sombra	25,37 $\pm$ 9,93 <sup>a</sup>	88,77 $\pm$ 13,90 <sup>a</sup>
Casca da uva <i>Cabernet Sauvignon</i>	14,51 $\pm$ 3,44 <sup>b</sup>	45,67 $\pm$ 5,25 <sup>b</sup>
Bagaço da uva <i>Syrah</i>	5,17 $\pm$ 1,40 <sup>c</sup>	24,80 $\pm$ 4,93 <sup>c</sup>

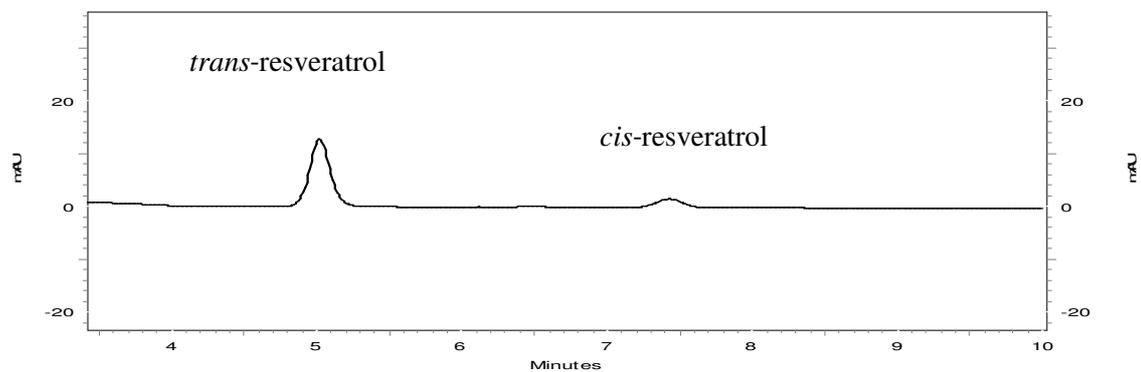
\*Média  $\pm$  Desvio padrão (n=5). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as amostras,  $p > 0,05$ . Nd=não detectado.



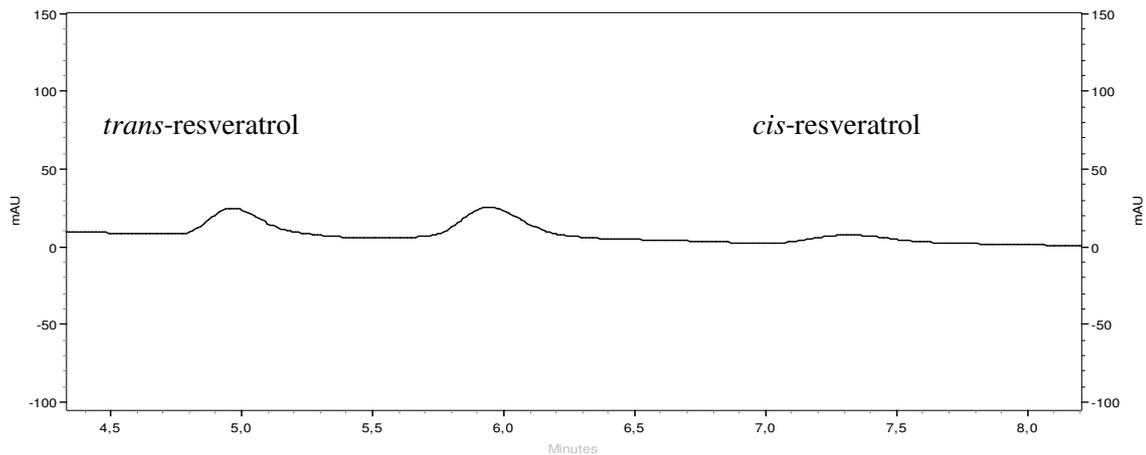
**FIGURA 15.** Cromatograma com padrão (4,0µg/mL). *trans-resveratrol* (5 min) e *cis-resveratrol* (7,5 min).



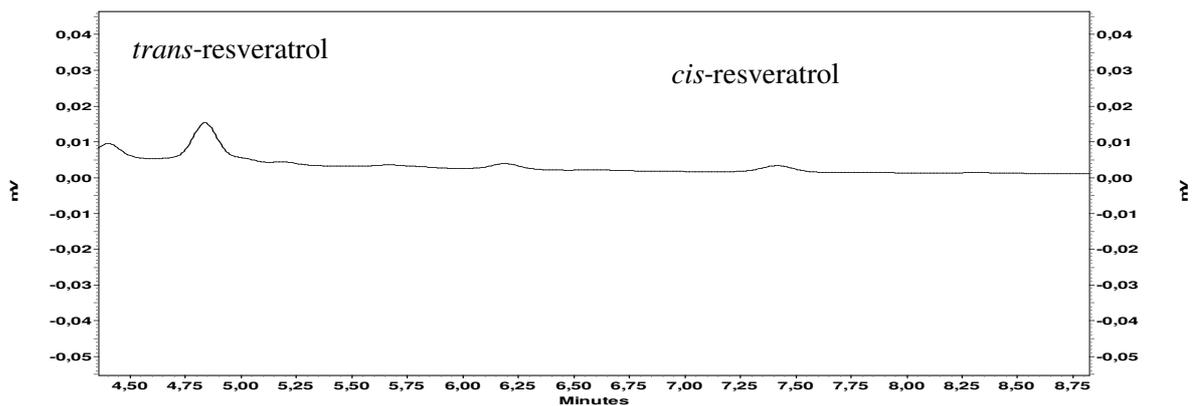
**FIGURA 16.** Cromatograma do Extrato de casca da uva *Syrah* sol, mostrando *cis-resveratrol* em 7,5 em 307nm.



**FIGURA 17.** Cromatograma do extrato de casca da uva *Syrah* sombreada, mostrando *trans-resveratrol* em 5,0min e *cis-resveratrol* em 7,5 em 307nm



**FIGURA 18.** Cromatograma do extrato da cascas de *Cabernet Sauvignon*, mostrando *trans-resveratrol* em 4,98 e *cis-resveratrol* em 7,4, isso a 307 nm.



**FIGURA 19.** Cromatograma do suco IN 9, mostrando *trans-resveratrol* em 5 min e *cis-resveratrol* em 7,5 min.

Apesar de inferiores a valores já relatados para esta variedade, os valores determinados para resveratrol na uva encontram-se dentro das concentrações relatadas para diferentes variedades. Cassazza et al. (2010) determinaram em diferentes processos de extração da pele da uva *Pinot Noir* do Norte da Itália teores que variaram de 22 a 118  $\mu\text{g/g}$  de *trans-resveratrol*. Vatai et al. (2009) determinaram o *trans-resveratrol* em três variedades de uvas viníferas nativas da Eslovênia e encontraram concentrações que variaram entre 19 e 210  $\mu\text{g/g}$  de casca seca.

As amostras analisadas mostram-se boas fontes de resveratrol quando comparada a diferentes variedades. Não foi encontrado estudos para a determinação do *cis*-resveratrol nas variedades de uvas analisadas.

A variedade e a origem geográfica são dois parâmetros que parecem influenciar no teor de resveratrol. Estudos que comparam diferentes processos de extração demonstram grandes variações dependentes do tempo de extração e do tipo de solvente utilizado. Desta forma, não podemos descartar a influência que o nosso processo de extração teve sobre estes teores, já que o objetivo do nosso estudo não foi o de otimizar as condições de extração.

Um dado que chama a atenção é a ausência do isômero *trans* na variedade *Syrah* exposta ao sol. Sautter et al. (2005), afirmam que o *trans*-resveratrol é convertido em *cis*-resveratrol na presença de luz visível. Desta forma podemos sugerir que a ausência de *trans*-resveratrol neste grupo pode ser devido à sua total fotoisomerização ao isômero *cis*. A forte exposição solar característica da região do Vale de São Francisco com certeza influencia o teor de resveratrol e seus isômeros nestas uvas.

Os resultados também mostram que nas uvas coletadas da sombra, detecta-se valores da ordem de 25 µg/mL de *trans*-resveratrol na variedade *Syrah*. Este resultado é compatível com o papel da exposição ao sol na fotoisomerização do *trans*-resveratrol a *cis*-resveratrol, embora os teores de *cis*-resveratrol para as uvas *Syrah* expostas ao sol e sombreadas não apresentaram diferença significativa no “teste t” Student a um nível de significância de 95% ( $p > 0,05$ ). Uma possível explicação para estes resultados aparentemente contraditórios é a de que apesar de coletadas em cachos com menor exposição ao sol por se situarem na parte interna do dossel vegetativo da videira, as uvas do grupo “sombra” também são expostas à radiação solar de forma indireta, embora em menor proporção do que aquelas que foram coletadas de cachos na parte externa do dossel. Desta forma, apenas parte do *trans*-resveratrol seria convertida a *cis*-resveratrol nestas uvas, o que explicaria o fato de termos encontrado o isômero *trans* apenas nas uvas do grupo “sombra”. Entretanto, não é possível explicar baseado apenas no fator de exposição solar, o fato dos teores de *cis*-resveratrol nos dois grupos não diferirem significativamente entre si. Desta forma devem existir outros fatores que interferem na formação dos isômeros do resveratrol que não foram considerados no procedimento experimental realizado, como por exemplo o nível de exposição à microorganismos e o nível de degradação relativo dos dois isômeros nos dois grupos de uvas.

Ao observamos trabalhos com irradiação artificial de uvas percebemos que ocorre um aumento de resveratrol após horas de armazenamento irradiado. Sautter (2003) ao promover armazenamento irradiado de uvas observou aumento no teor de resveratrol, especialmente do

*trans*-resveratrol. Cantos et al. (2000, 2001, 2002) também irradiaram uvas e obtiveram amostras com teores aumentados com valores comparáveis aos do vinho tinto, já largamente conhecido por seu conteúdo de resveratrol. Nestes estudos não foram determinados os isômeros separadamente.

Brent e Adrew (1996) ao testarem a estabilidade dos isômeros do resveratrol verificaram que o *trans*-resveratrol é estável por meses quando totalmente protegido da luz. As amostras analisadas neste trabalho foram igualmente acondicionadas e protegidas da luz. Portanto, não seria este um motivo para a ausência deste isômero na uva exposta ao sol. Pode ter ocorrido degradação do resveratrol nas uvas que sofreram maior estresse abiótico por radiação solar.

Wei Wang et al. (2010) ao submeter diferentes partes da videira *Cabernet Sauvignon* a radiação UVC, perceberam aumento no teor de resveratrol em até 16h de irradiação, mas após 24h houve diminuição do mesmo a níveis comparáveis ao controle.

As videiras *Syrah* utilizadas para a coleta de uva do presente trabalho foram plantadas de maneira a receber insolação solar durante todo o dia, pois o sistema espaldeira estava posicionado de um forma que colocava um de seus lados totalmente ao leste e o outro totalmente a oeste. Claro que este fato não colocava as uvas sob exposição a raios ultravioleta por um período de 24h como o trabalho de Wei Wang et al. (2010). Outros fatores, além da radiação solar, podem ter influenciado na degradação do resveratrol da uva *Syrah* sol analisada.

Porém, quando consideramos que o sombreamento pode levar ao aumento da possibilidade de infecções fúngicas por aumentarem a umidade no microclima gerado no interior do dossel vegetativo, podemos entender o teor aumentado de resveratrol na uva sombreada. Este aumento pode ter sido causado por maior contaminação fúngica.

A quantidade e a distribuição das folhas no espaço onde os cachos de uvas se encontram modificam o microclima no interior do dossel vegetativo. Videiras com muita sombra produzem uva com valores mais elevados de potássio, pH e ácido málico do mosto e teores mais baixos de açúcar, polifenóis totais, antocianinas e monoterpenos. Pode, também, afetar a incidência de patógenos no vinhedo. Nesse sentido, seu maior efeito provavelmente seja sobre a incidência de *Botrytis*, que está relacionada com a ventilação na zona do fruto. A remoção das folhas basais aumenta a circulação de ar de fora para dentro e de dentro para fora na zona do fruto, o que causa um aumento da evaporação e secamento das folhas, fatores esses que diminuem a incidência de doenças fúngicas (MIELE; MANDELLI, 2010).

Diante destes resultados concluímos que é preciso estudar mais a relação entre a radiação solar e biossíntese de resveratrol, especialmente no que diz respeito à atuação do resveratrol frente a este estresse abiótico e sobre a natureza (os isômeros) do incremento que é dado ao teor de resveratrol nas uvas submetidas à radiação.

As uvas viníferas, apesar de não serem produzidas para consumo *in natura*, podem futuramente ser comercializadas para este fim ou mesmo utilizada na produção de alimentos funcionais já que possuem riqueza em seu conteúdo de resveratrol. Há apenas 30 anos a designação de alimentos funcionais começou a ser utilizada no mundo (MORAES, 2006). Ainda há muito o que se estudar e o crescente interesse da população trará cada vez mais a indústria de alimentos para este setor. Um outro setor que poderia aproveitar seria o de desenvolvimento de nutracêuticos. Futuramente seria mais uma alternativa para o aproveitamento do potencial antioxidante.

### 5.1.2 Bagaço

No bagaço da uva *Syrah* as concentrações de *trans* e *cis*-resveratrol encontradas foram de  $5,17 \pm 1,40$  e  $24,80 \pm 4,93$   $\mu\text{g/g}$  ( $n=5$ ) de amostra seca, respectivamente. Este valor é inferior ao encontrado na literatura para a variedade *Palomino fino*. Casas et al. (2010) encontraram na uva *Palomino fino* valores de *trans*-resveratrol que variaram entre 9 e 88,2  $\mu\text{g/g}$  utilizando uma extração chamada por eles de convencional.

Porém ao compararmos com outra variedade vemos que o bagaço da uva *Syrah* tem valores significativamente maiores de resveratrol. Convertendo o resultado da Tabela 1 de  $\mu\text{g/g}$  para  $\mu\text{g/L}$  de extrato temos: 8,6  $\mu\text{g/L}$  de *trans*-resveratrol e 41,3  $\mu\text{g/L}$  de *cis*-resveratrol. Careri et al. (2004) determinou no extrato do bagaço de uva *Nero d'Avila* 0,56 a 0,85  $\mu\text{g/L}$  de *trans*-resveratrol e 2,4 a 1,15  $\mu\text{g/L}$  para *cis*-resveratrol. O bagaço avaliado mostra-se uma boa fonte de resveratrol, podendo assim ser aproveitada seus benefícios a saúde através de sua utilização como alimento.

O resveratrol concentra-se na casca das uvas. O bagaço é formado por uma mistura de casca, semente e engaço. Isto pode ter condicionado a determinação de valores tão inferiores de resveratrol no bagaço em relação a sua uva. O bagaço é um subproduto da vinificação e neste processo parte do resveratrol é extraído, sendo então encontrado no vinho.

A otimização das técnicas de vinificação poderão aumentar o teor de resveratrol dos vinhos, visto que, após todo o processo de vinificação, pode-se perceber que ainda resta quantidades significativas de resveratrol no bagaço.

O bagaço pode ser ainda reaproveitado pela indústria de alimentos. É um produto atualmente de baixo valor econômico, já que é desprezado. Já existem algumas experiências positivas nesta área. Ishimoto (2008) desenvolveu um picolé a base de farinha de bagaço que após análise sensorial concluiu que esta matéria-prima possui atributos sensoriais aceitáveis, podendo ser utilizada para produção de outros alimentos.

### 5.1.3 Sucos de uva e Néctares.

Os níveis de resveratrol também foram determinados em sucos de uvas comerciais e estão expressos nas Tabelas 3, 4 e 5.

Não foi detectado resveratrol em todos os sucos, apenas 60% deles apresentaram *trans* e/ou *cis*-resveratrol em concentrações que variaram de 0,29 a 4,17 µg/mL para *trans*-resveratrol e 0,02 a 1,76 µg/mL para o *cis*-resveratrol. Valores comparáveis ao estudo realizado por Sautter et al. (2005) em amostras de sucos de uva comerciais brasileiros (0,19 a 0,90 µg/mL e de 0,07 a 1,59 µg/mL de *trans* e *cis*-resveratrol, respectivamente).

Os sucos integrais (Tabela 3) que tiveram resveratrol detectado variaram suas concentrações entre 0,44 e 4,17 para a forma *trans* e, 0,11 a 1,76 µg/mL para o *cis*-resveratrol.

A amostra IN11 foi a que apresentou maiores valores para os dois isômeros quando comparamos às amostras do mesmo grupo e às amostras de sucos reprocessados e de néctares. Esta foi a única amostra que possuía em seu rótulo a variedade de uva utilizada, a *Bordô*.

Dani et al. (2010) determinaram na uva *Bordô* concentrações de *trans*-resveratrol que variaram de 6,2 a 71,4 µg/mL nos seus extratos. No suco IN11 preparado a partir desta uva foi detectado *trans*-resveratrol em uma concentração de 4,17 µg/mL de. Valor que se encontra próximo ao encontrado por Dani et al. (2010).

Careri et al. (2004) determinou o *cis*-resveratrol em grappas da variedade *Nero d'Avila*, comparando dois métodos de detecção para o CLAE: DAD-Arranjo de diodos e MS-Espectrometria de massa. Suas concentrações variaram entre 0,56 a 0,85 µg/L e 0,16 a 0,027 µg/L, respectivamente, representando valores bem inferiores aos encontrados no presente

trabalho para os sucos de uva brasileiros. Determinou também no bagaço as concentrações entre 9,2 e 1,01µg/L de *trans*-resveratrol e 1,5 a 2,4µg/L para *cis*-resveratrol.

**Tabela 3.** Concentração de *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol nos sucos integrais.

Amostra	<i>trans</i> -resveratrol (µg/mL) *	<i>cis</i> -resveratrol (µg/mL) *
IN1	nd	nd
IN2	nd	nd
IN3	nd	nd
IN4	nd	nd
IN5	1,16 ± 0,05	nd
IN6	nd	0,43±0,04
IN7	nd	1,11±0,007
IN8	nd	nd
IN9	0,44±0,0023	0,11±0,007
IN10	nd	nd
IN11	4,17±0,30	1,76 ± 0,04

\*Média ± Desvio padrão. ( n=3).

Os valores entre as amostras de suco integral diferiram significativamente,  $p < 0,05$ . A escolha das uvas para a produção do suco é inerente ao fabricante divergem entre eles. Isto pode ter levado a diferença significativa entre os teores de resveratrol,

Os sucos reprocessados apresentaram os menores teores para o resveratrol, tanto na forma *trans* como na forma *cis*, com exceção apenas da amostra de néctar NE4 (0,28 µg/mL de *trans*) (Tabela 4).

Sautter et al. (2005) determinaram em seu estudo que os sucos reprocessados tinham valores maiores de resveratrol do que os sucos integrais. Esta tendência não foi observada no presente trabalho.

Os sucos reprocessados que tiveram resveratrol detectado variaram suas concentrações entre 0,29 a 1,1 µg/mL e 0,02 a 0,61 µg/mL de *trans* e *cis*-resveratrol, respectivamente (Tabela 3). Estes valores são inferiores aos encontrados por Sautter et al. (2005) que

determinaram para os sucos reprocessado concentrações de resveratrol que variaram entre 0,60 a 0,90 µg/mL para *trans*-resveratrol e 1,22 a 1,59 µg/mL para *cis*-resveratrol.

**Tabela 4.** Concentração de *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol nos sucos reprocessados.

Amostra	<i>trans</i> -resveratrol (µg/mL) *	<i>cis</i> -resveratrol (µg/mL) *
SR1	nd	nd
SR2	0,29 ± 0,004	nd
SR3	0,29 ± 0,001	nd
SR4	nd	nd
SR5	0,61 ± 0,003	0,61±0,007
SR6	0,35 ± 0,001	0,17±0,004
SR7	nd	0,02±0,007
SR8	1,10±0,005	nd

\*Média ± Desvio padrão. (n=3) Nd=não detectado.

Foi detectado *trans*-resveratrol nos néctares de uva em concentrações que variaram entre 0,28 e 0,56 µg/mL (Tabela 5). Os mesmos não apresentaram *cis*-resveratrol, o que pode indicar a influência da embalagem no teores dos isômeros, pois apenas estes eram comercializados ao abrigo da luz (em embalagens cartonadas ou folhas de alumínio). A ausência de exposição a radiação luminosa pode ter evitado a conversão dos isômeros.

Os néctares, diferentemente dos sucos integrais que devem estar na concentração natural, podem ter no mínimo 20% de polpa da fruta. Esta diluição pode explicar os valores baixos para resveratrol quando comparados aos sucos de uva.

A variedade das uvas utilizadas e o processo de obtenção dos sucos e néctares de uva influenciam na composição química do produto final. Como não foi possível obter acesso a essas informações, não foi possível correlacionar os resultados obtidos com a variedade e processo de fabricação de cada amostra. Este dado também não é disponibilizado pelos fabricantes na rotulagem do produto.

Neste trabalho os sucos de uva brasileiros analisados têm teores de *trans*-resveratrol equivalentes a vinhos. Souto et al. (2001) ao avaliarem 36 diferentes vinhos brasileiros quanto

ao teor de *trans*-resveratrol detectou concentrações que variaram entre 0,82 e 5,75 mg/L ( $\mu\text{g/mL}$ ).

**Tabela 5.** Concentração de *Trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol nos néctares de uva.

Amostra	<i>trans</i> -resveratrol ( $\mu\text{g/mL}$ ) *	<i>cis</i> -resveratrol ( $\mu\text{g/mL}$ ) *
NE 1	0,45± 0,03	nd
NE2	0,48±0,041	nd
NE3	0,32 ± 0,003	nd
NE4	0,28±0,001	nd
NE5	nd	nd
NE6	nd	nd
NE7	0,41 ± 0,003	nd
NE8	0,56±0,002	nd
NE9	0,48 ± 0,003	nd
NE 10	0,48±0,01	nd
NE 11	nd	nd

\*Média ± Desvio padrão. (n=3). Nd=não detectado.

Vitrac et al. (2005) estudaram 12 amostras de vinhos brasileiros de diferentes variedades de uva e detectaram concentrações de *trans*-resveratrol entre 1,77 - 5,34 mg/L ( $\mu\text{g/mL}$ ) e *cis*-resveratrol entre 1,7 - 22,99 mg/L ( $\mu\text{g/mL}$ ). Bravo et al. (2008) ao revisarem a determinação de *trans*-resveratrol em publicações de 1999 a 2000 em vinhos de diferentes nacionalidades apontou concentrações que variaram entre 0,176 e 4,44 mg/L ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Buiarelli et al. (2006) ao estudar 52 amostras de vinhos italianos de diferentes variedades detectou o *trans*-resveratrol em concentrações que variaram entre 0,32 e 17,41 mg/L ( $\mu\text{g/mL}$ ). Feijóo et al. (2008) determinaram em vinhos de diferentes variedades o resveratrol. O *trans*-resveratrol variou entre 0,65 e 7,95 mg/L ( $\mu\text{g/L}$ ) e o *cis*-resveratrol, 0,04 e 0,19 mg/L ( $\mu\text{g/L}$ ).

É popularmente conhecida a indicação de uma taça de vinho diária para proteção de doenças cardíacas. Esse efeito tem sido relacionado ao teor de resveratrol. O presente estudo demonstra que os sucos de uva brasileiros possuem teores de resveratrol comparáveis aos

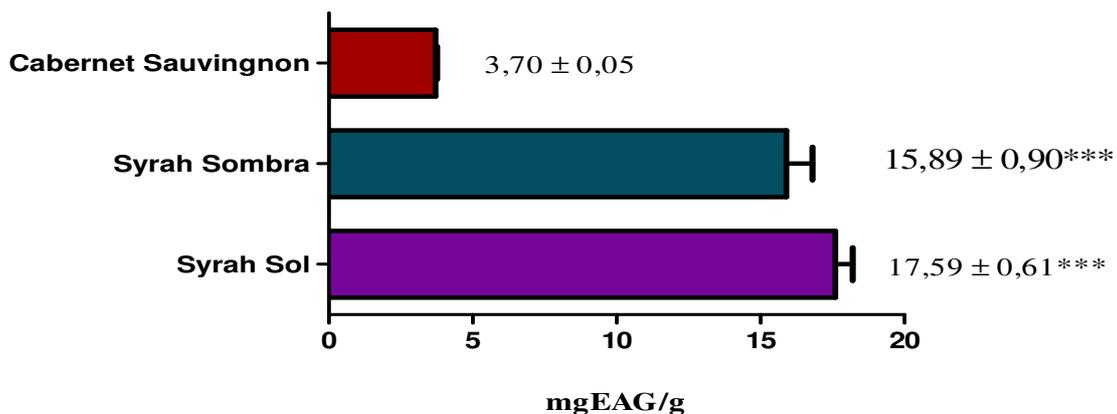
encontrados nos vinhos, embora o papel do álcool na biodisponibilidade dos constituintes fenólicos presentes no vinho não possa ser descartada (SERAFINI et al., 1997).

Apesar das amostras não terem apresentado homogeneidade na detecção do resveratrol podemos verificar, ao compararmos com amostras de vinhos, que os mesmos podem se tornar uma alternativa para o consumo de um produto rico em resveratrol. O processamento feito por diferentes fabricantes pode ter influenciado na detecção do resveratrol, talvez a otimização do método, com fins de concentrar o resveratrol na amostra, nos forneça um produto livre de álcool e rico em resveratrol.

## 5.2. Análise de componentes fenólicos

### 5.2.1 Uvas viníferas

Os fenólicos totais foram determinados para as uvas *Syrah* e *Cabernet Sauvignon* (Gráfico 1). O teor de fenólicos foi significativamente ( $p < 0,05$ ) inferior na uva *Cabernet Sauvignon* (3,7 mgEAG/g) comparado ao teor encontrado para as uvas *Syrah*. Para as uvas *Syrah* sol e sombra não houve diferença significativa entre seus teores quando os dados foram submetidos ao “teste t” Student para  $p < 0,05$ .



**GRÁFICO 1.** Fenólicos totais em mgEAG/g de casca seca ± E.P.M (n=3). \*\*\*  $p < 0,05$  em relação aos valores obtidos para a variedade *Cabernet Sauvignon*.

As videiras com muita sombra produzem uvas com teores mais baixos de açúcar, polifenóis totais, antocianinas e monoterpenos (MIELE; MANDELLI, 2010). Isto não ocorreu no presente trabalho talvez pelo fato de apenas os cachos de uvas estarem cobertos pelas folhagens. Não havia sombreamento de toda a videira.

Como as uvas *Cabernet Sauvignon* encontravam-se num sistema de manejo que as mantém parcialmente sombreadas durante todo o dia, isto pode explicar o teor inferior de fenólicos determinado para ela. Claro, que a variedade, com suas características genéticas influenciam também a produção destes compostos químicos.

Os valores encontrados no presente trabalho foram inferiores ao relatado na literatura para as mesmas variedades. Ortega-Regules et al. (2008) determinaram para uvas coletadas *Syrah*, 72,8 mgEAG/g e para *Cabernet Sauvignon*, 75,9 mgEAG/g. Talvez uma otimização no método de extração nos forneça uma melhor determinação de fenólicos.

Fragoso et al. (2010) prepararam extratos a partir das bagas de uvas de diferentes variedades (*Tempranillo*, *Merlot*, *Syrah*, *Garnacha*, *Carinena*, e *Cabernet Sauvignon*) constataram concentrações de fenólicos que variaram de 0,5-2,87 mgEAG/g. Neste estudo não foi especificado nos resultados de polifenólicos nas variedades em separado. Estes teores são próximos ao determinado em nosso estudo para as cascas da uva *Cabernet Sauvignon*. Este dado demonstra que as uvas analisadas possuem uma boa quantidade de fenólicos totais, um grupo de constituintes presente em alimentos, pode permitir a classificação de uma alimento como funcional (MORAES, 2006).

As condições climáticas no período de *Verasion*, onde ocorre a maior produção de fenólicos pode ter gerado uvas com baixos teores de fenólicos. Freitas (2006) ao estudar a influências as condições metereológicas no conteúdo de polifenóis em uva viníferas concluiu que essas condições são importantes na composição de compostos fenólicos. Neste estudo Freitas verificou que a safra 2004 continha mais polifenóis que a safra de 2003. Na safra de 2004 houve menor precipitação pluvial, maior insolação e menor umidade relativa do ar, condições favoráveis para a maturação fenólica das uvas.

### 5.2.2 Bagaço

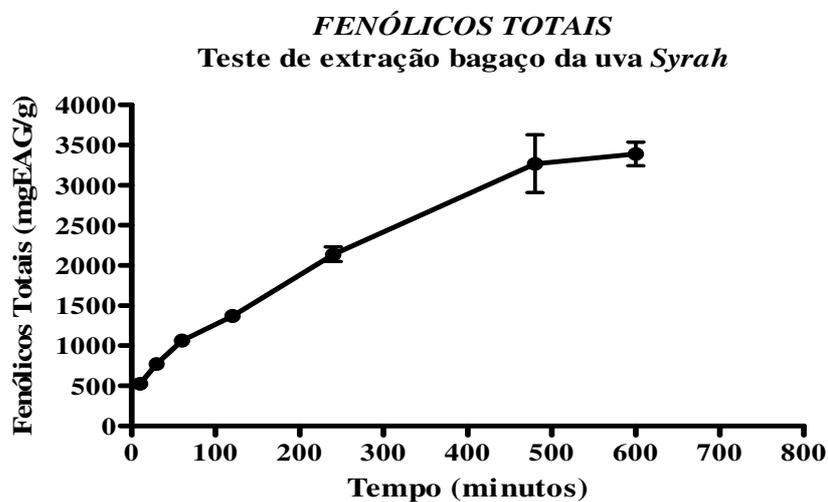
O efeito do tempo no processo de extração dos compostos fenólicos do bagaço de uva *Syrah* foi avaliado (Gráfico 2). Observamos que não houve diferença significativa com

$p < 0,05$  entre os tempos de extração de 480 min (8h) e 600 min (10h). A composição de compostos fenólicos no bagaço após 480 min de extração foi de  $3268 \pm 360,7$  mgEAG/g de bagaço seco.

As diferenças entre os teores de polifenóis no bagaço no tempo igual a 30min e no tempo igual a 480 min são enormes (771 e 3268 mg EAG/g, respectivamente). Isto nos mostra que o tempo de contato entre o solvente e amostra influencia positivamente na extração dos compostos polifenólicos e que o etanol utilizado como solvente é eficaz na extração.

O teor de polifenóis do bagaço foi de aproximadamente 95 vezes maior que o encontrado na casca da mesma uva. Os polifenólicos são compostos que podem ser encontrados em diferentes partes da videira, logo a composição do bagaço (casca, sementes, engaço) influenciou no teor de polifenóis.

Altas concentrações de polifenóis já foram determinadas na semente de uvas viníferas em concentrações que variaram entre 121,94 e 440,97 mgEAG/g para diferentes variedades e 282,22 mg EAG/g para a variedade *Syrah* (TOUNSI et al., 2009). Isto demonstra que o conteúdo de polifenóis das sementes incrementa o do bagaço.



**GRÁFICO 2** Teste de extração do bagaço da uva *Syrah*.  $P > 0,05$  entre 480 minutos e 600 min. Resultados são média  $\pm$  DP (n=3).

O elevado teor de polifenóis encontrados no bagaço analisado coloca-o como ótima fonte de tais compostos. Quando comparamos seus valores com os de outras variedades percebemos que ocorre grande variância entre os cultivares.

Campos et al. (2008) ao estudarem diferentes formas de extração de fenólicos do bagaço de uva *Carbernet Sauvignon* encontrou valores que variam entre 0,6-3,4 gEAG/mL de extrato equivalentes ao do bagaço *Syrah* estudado no presente trabalho, 0,55 gEAG/mL de extrato.

Catanei et al. (2008) determinaram compostos fenólicos totais, nos extratos do bagaço seco da uva *Couderc 13* entre 1,09 a 2,09 EAG mg/g, e entre 3,70 e 4,20mg EAG/g nos extratos do bagaço seco de uva *Pinot gris*. Estes valores são bem inferiores ao do bagaço da uva *Syrah* analisado. Ismael et al. (2008) também encontraram valores inferiores nos bagaços das uvas *Tannat* e *Ancelota*, 13,2-69 e 14,8-79,5 mgEAG/g, respectivamente.

O bagaço estudado apresenta-se como uma ótima fonte de compostos fenólicos. O seu reaproveitamento na indústria de alimentos e na produção de nutracêuticos parece ser vantajosa, já que o mesmo tem atualmente baixo valor econômico, mas elevado potencial antioxidante quanto ao teor de fenólicos. Nutracêutico é um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento da doença. Tais produtos podem abranger desde os nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e dietas até os produtos benéficamente projetados, produtos herbais e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (KWAK & JUKES, 2001 apud MORAES, 2006).

### 5.2.3 Sucos de uva e Néctares

Os resultados para polifenóis totais nos sucos analisados estão expressos na Tabela 6. As concentrações variaram entre 439,5 e 1935,0 mg EAG/L de suco. Novamente, a amostra IN11 foi a que apresentou o maior teor. A uva *Bordô* mostra-se rica na composição de polifenóis totais.

Em média os sucos analisados tiveram concentrações de 1135,0±337,6 mgEAG/L, 1030,0±90,43 mgEAG/L, e 604,4±133,3 mgEAG/L dos sucos integrais, sucos reprocessados e néctares de uva, respectivamente. Estes são valores que se equivalem a publicações existentes para sucos brasileiros. Malacrida e Motta (2005) ao estudaram 12 marcas de sucos de uva simples comerciais brasileiros encontrou concentrações de fenólicos totais que variaram entre 210 e 2390 mg/L.

**Tabela 6.** Fenólicos totais dos sucos de uva.

	Sucos Integrais (mgEAG/L) *	Sucos reprocessados (mgEAG/L) * <sup>1</sup>	Néctares de uva (mgEAG/L) *
Amostra 1	1100,0± 4,11	909,9 ± 42,25	533,0 ± 17,62
Amostra 2	1079,0±13,74	923,7 ± 27,81	851,5 ± 27,00
Amostra 3	1028,0 ± 5,82	1175,0± 75,33	783,7 ± 15,71
Amostra 4	1540,0± 9,84	1092,0± 37,87	684,0 ± 35,99
Amostra 5	706,4 ± 26,69	982,1 ± 12,30	623,0 ± 5,69
Amostra 6	986,2 ± 31,64	1024,0± 32,97	547,7 ± 14,26
Amostra 7	997,6 ± 14,50	1040,0± 16,50	439,5 ± 4,134
Amostra 8	851,4 ± 39,27	1095,0± 25,18	569,0 ± 14,22
Amostra 9	1218,0±34,18	-	659,9 ± 3,86
Amostra10	1047,0±65,66	-	483,0 ± 11,00
Amostra11	1935,0±15,06	-	451,7 ± 4,68

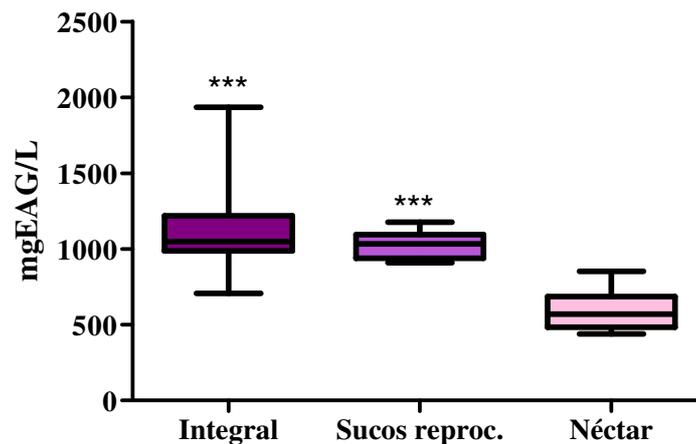
\*mgEAG/L ± E.P.M. 1. Apenas 8 amostras de sucos reprocessados foram analisadas.

O “teste-t” de Student indicou que não houve diferença significativa entre os sucos integrais e sucos reprocessados,  $p > 0,05$ . Poderia ser esperado um valor inferior para os reprocessados, pois sucos reprocessados são produzidos a partir da diluição do suco concentrado.

Os néctares de uva foram os que apresentaram os menores teores, diferindo estatisticamente das amostras de sucos integrais e reprocessados. Os néctares são produzidos a partir da diluição da polpa de suco natural. Esta diluição influenciou no conteúdo de polifenólicos.

O gráfico 3 mostra a dispersão do conjunto de dados para os polifenólicos dos sucos analisados. Os coeficientes de variação demonstraram diferenças que podem ser inerentes ao processamento e variedade de uvas utilizadas na produção dos diferentes sucos.

O coeficiente de variação foi de 29,73% para os sucos integrais, 8,78% para os sucos reprocessados e 22,13% para os néctares de uva. Os sucos reprocessados apresentação baixa variação em relação às outras amostras analisados. As diferenças nas médias demonstram os diferentes processamentos empregados entre as indústrias produtoras e diferentes variedades de uva.



**GRÁFICO 3.** Box Plot dos Fenólicos totais dos sucos analisados. \*\*\* Houve diferença significativa entre os SR X NE e IN X NE,  $p < 0,05$ .

Sautter (2003) ao estudar o perfil de polifenóis de sucos brasileiros, encontrou coeficiente de variação de 11%; 1,4% e 0,4% para os sucos integrais, reprocessados e néctares, respectivamente. Os teores de polifenóis no trabalho citado determinou em média 1915 mg EAG/L nos sucos integrais, 1583 mgEAG/L nos sucos reprocessados e 1006,8 nos néctares de uva. Estes valores encontram-se superiores ao encontrados nos sucos analisados. Diferenças no processamento (tipo e tempo de extração, tratamento térmico, tratamento enzimático, etc) da amostra, variedade e safra das uvas utilizadas na fabricação dos sucos podem explicar as diferenças encontradas.

Os sucos analisados no presente trabalho mostraram teores de polifenólicos superiores em outros estudos encontrados na literatura. Kovacevic et al. (2006) produziram sucos de uva que apresentaram 230-301 mgEAG/L de polifenólicos totais.

Gollucke et al. (2009) ao estudarem sucos de uva concentrados das variedades *Concord* e *Isabel* (mais utilizadas para fabricação de sucos no Brasil) detectou fenólicos totais nas concentrações de 2872,9-2587,6 mgEAG/L para a variedade *Concord* e 1756,8 a 1428,9 para a variedade *Isabel*. Estes valores comparáveis aos dos sucos integrais analisados que devem conter a concentração natural.

Comparando os valores de fenólicos totais dos sucos e néctares a vinhos, verificou-se que os mesmos não alcançaram os valores já determinados para diferentes vinhos brasileiros. Lucena (2008) ao estudar o perfil de polifenólicos de vinhos brasileiros da região do Vale de São Francisco determinou concentrações que variaram entre 3211 e 5889 mg EAG/L de

vinho. Já para vinhos da região Sul do Brasil apresentaram valores entre 1702,27 e 3410,5 mgEAG/L de fenóis totais (MACIEL, 2009), mostrando que há sucos de uva (1935 mgEAG/L) com teores de fenólicos superiores a vinhos (1702,27 mgEAG/L).

Lee e Rennaker (2007) ao estudarem 42 tipos de vinhos de diferentes variedades (12 *Cabernet Sauvignon*, 9 *Merlot*, 7 *Riesling*, and 14 *Chardonnay*) determinaram teores entre 130 a 2490 mgEAG/L.

Mais uma vez estes resultados indicam a possibilidade de substituir o vinho por sucos de uvas e proporcionar aos abstêmios os benefícios provenientes dos compostos fenólicos na saúde humana após ingestão de subprodutos da uva. O elevado teor encontrado também demonstra o potencial antioxidante das amostras, já que este potencial tem sido relacionado aos fenólicos.

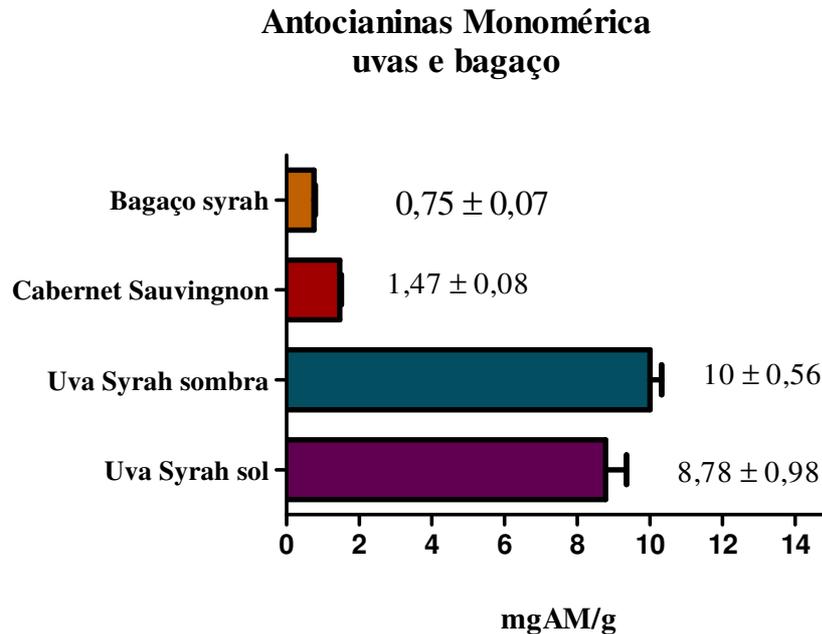
As indústrias poderiam ainda otimizar o processo de fabricação dos sucos afim de obterem um produto rico em resveratrol e outros compostos fenólicos, já que a sociedade busca cada dia mais uma alimentação rica em alimentos ditos funcionais. Claro que para ser declarado funcional, um alimento precisa submeter-se a testes preconizados na legislação, pois não basta ter compostos fenólicos. Este dado nos leva a necessidade de se realizar trabalhos científicos que comprovem os benefícios a saúde provocada pelos compostos fenólica presentes nos sucos.

### 5.3. Quantificação de antocianinas monoméricas

#### 5.3.1 Uvas viníferas

As antocianinas monoméricas determinadas nas uvas e no bagaço estão expressas no gráfico 4. Para as uvas as concentrações variam de  $1,47 \pm 0,08$  a  $10 \pm 0,56$  mgAM/g ( $n=3$ ) de peso seco. Os valores encontrados são superiores ao estudo realizado por Vatai et al. (2009) que detectaram concentrações que variaram de  $<0,01$  e  $1,16$  mgAM/g de peso seco nas variedades *Refošk*, *Merlot* e *Cabernet*.

Os dados para a uva *Syrah* equivalem-se a variedades estudadas por Iacopini et al. (2008) que variaram entre 15,94 e 39,29 mgAM/g de casca seca para *Canaiolo* e *Colorino del V.*



**GRÁFICO 4.** Antocianinas monoméricas em mg/g de casca seca ou bagaço seco ± Desvio padrão (N=3).

A variedade *Cabernet Sauvignon* foi a que apresentou o menor resultado, sendo inferior ao estudo de Iacopini et al. (2008) que detectou na casca de variedade *Cabernet Sauvignon*, 28,52 mgAM/g de casca seca. Um fator importante no teor de antocianinas nas uvas é o período de coleta. Nossas uvas foram coletadas na semana anterior a coleta programada pela fazenda produtora, isto com certeza influenciou no teor inferior de antocianinas na amostra.

Os dados apresentados para as uvas analisadas encontram-se dentro dos valores determinados em diferentes estudos com extratos de uva preparados a partir da amostra sem sementes, ao convertemos nossos resultados para peso seco temos concentrações entre 0,21 a 1,5 mgAM/g. Katalinic et al. (2010) determinaram em uvas de variedades distintas 0,15 a 18,48 mgAM/g de peso fresco. Fragoso et al. (2010) determinaram antocianinas em diferentes variedades de uva (0,15 a 13,10 mgAM/g) e apresentaram valores comparáveis aos determinados no presente trabalho. Eles realizaram suas determinações no extrato de uvas inteiras.

Estes dados demonstram que as uvas analisadas neste trabalho contém um bom teor de antocianinas. As antocianinas apresentam propriedades farmacológicas, comprovadas:

anticarcinogênico (HAGIWARA et al., 2001), antioxidante (WANG et al., 2000;) e antiviral (KAPADIA et al., 1997). O conteúdo de antocianinas determinado pode contribuir positivamente para a atividade antioxidante das amostras de uva e seus subprodutos, embora os resultados do nosso trabalho mostraram não haver correlação significativa entre os teor de antocianinas monoméricas determinado e a atividade antiradicalar frente ao radical DPPH (ver seção 5.4.3).

Como era esperado o teor de antocianinas na *Syrah* sol foi inferior ao da uva sombreada, já que as mesmas são sensíveis ao calor, porém não houve diferença significativa entre as amostras com  $p > 0,05$  no “teste t” Student. Demonstrando, que o sombreamento provocado pelas folhas no dossel vegetativo não foi suficiente para impedir degradação da mesma.

É conhecido que as antocianinas monoméricas são degradadas por ação do calor. O mecanismo de degradação das antocianinas ocorre provavelmente devido à abertura do anel do cátion flavilium e sua conversão à forma chalcona, que é incolor. Essa degradação é irreversível e confere a formação de produtos de coloração marrom (BROUILLARD; DUBOIS, 1977).

### 5.3.2 Bagaço

O bagaço apresentou  $0,75 \pm 0,07$  mg/g ( $n=3$ ) de Antocianinas monoméricas (Gráfico 4). Valor inferior ao encontrado na literatura para uva Isabel. Mas, superior ao bagaço de uva *Tannat*.

Rochenbach et al. (2008b) determinaram para os bagaço de uvas *Tannat* antocianinas totais em torno de 0,04-0,77 g/100g de peso seco. Valduga et al. (2008) ao verificarem diferentes concentrações, temperaturas e tempo de extração de antocianinas no bagaço (sem fermentação) de uva Isabel encontrou valores entre 0,44 e 2,74 mgAM/g de peso seco.

Ruberto et al. (2007) encontraram valores superiores aos de presente trabalho. Sua determinação para as uvas *Nero d Avola*; *Nerello Mascalese*; *Nerello Cappuccio*; *Frappato*; *Cabernet Sauvignon* foi de 3,75 a 28,7 mg/g de peso seco.

Apesar de ser muito variável o conteúdo de antocianinas entre as diferentes variedades de uva podemos destacar que o bagaço *Syrah* possui um teor considerável.

As antocianinas são responsáveis pela cor azul e violeta da casca das uvas tintas. O bagaço, constituído de diferentes partes da uva, apresentou teor inferior ao determinado na uva da mesma variedade. Dois fatores podem ter influenciado isto: a) o processo de vinificação extraiu quase toda antocianina presente nas uvas e b) a secagem ao natural efetuada pela vinícola que o forneceu e aquela realizada no laboratório em estufa, promoveram a degradação das antocianinas, já que as mesmas são sensíveis ao calor.

### 5.3.3. Sucos de uva e Néctares.

As antocianinas monoméricas foram determinadas nos sucos de uva integral, reprocessado e néctares de uva e expressos na Tabela 7. As concentrações variaram de 6,79 a 292,4 mg/L. A média para sucos integrais foi de  $86,93 \pm 27,34$  mgAM/L, para os sucos reprocessado foi de  $89,42 \pm 24,90$  mgAM/L e  $23,83 \pm 5,55$  mgAm/L para os néctares de uva.

**Tabela 7.** Antocianinas monoméricas dos sucos de uva.

	Sucos Integrais (mg/L) *	Sucos reprocessados (mg/L) * <sup>1</sup>	Néctares de uva (mg/L) *
Amostra1	21,40 ± 0,95	26,68 ± 2,40	6,884 ± 0,72
Amostra2	83,07 ± 1,07	20,39 ± 2,29	52,94 ± 3,22
Amostra3	39,11 ± 5,14	50,24 ± 0,52	24,58 ± 1,39
Amostra4	33,59 ± 2,96	73,71 ± 1,08	27,31 ± 6,15
Amostra5	9,25 ± 0,70	41,83 ± 0,020	3,650 ± 0,64
Amostra6	122,9 ± 5,03	126,9 ± 1,71	38,91 ± 0,70
Amostra7	74,61 ± 0,60	163,3 ± 3,20	30,96 ± 2,27
Amostra8	6,79 ± 0,63	212,3 ± 15	20,38 ± 2,51
Amostra9	213,2 ± 8,98	-	8,370 ± 0,90
Amostra10	59,95 ± 5,26	-	14,24 ± 2,04
Amostra11	292,4 ± 27,75	-	33,90 ± 4,18

\*mg/L ± E.P.M (n=3). 1. Apenas 8 amostras de sucos reprocessados foram analisadas.

Sautter (2003) determinou 46,35 mg/L de antocianinas totais em sucos integrais. Valor que encontra-se dentro da média determinada para os sucos integrais do presente trabalho.

Malacrida e Motta (2005) determinaram em 12 marcas de sucos de uva simples  $210 \pm 22$  a  $239 \pm 10$  mg/L (  $\pm$ desvio padrão) de antocianinas monoméricas. Valores que equivalem-se apenas as amostra IN8 E IN11 do presente estudo.

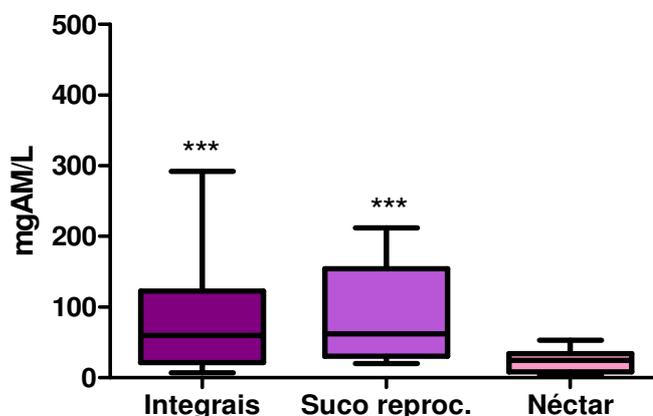
As amostras de suco enquadram-se, quanto ao teor de antocianinas monoméricas, com a literatura, demonstrando que os mesmos podem equivaler-se as outras amostras comerciais e permite assegurar que, ao consumirmos amostras de sucos brasileiros, estaremos ingerindo considerável quantidade de um composto fenólico, as antocianinas monoméricas.

O gráfico 5 mostra a dispersão do conjunto de dados para antocianinas dos sucos analisados. Houve diferença significativa apenas entre os sucos entre néctares e os sucos integrais e reprocessados ( $p=0,0058$ ).

Os coeficientes de variação para as amostras foram de 86,96% entre os sucos integrais; 89,42% entre os reprocessados e 23,83% entre os néctares. Estes coeficientes demonstram alta variação entre as formas de preparo dos sucos nos diferentes fabricantes, produzindo sucos com teores de antocianinas tão distintos.

Diferenças no processamento dos sucos como temperatura de extração, tempo de contato com o mosto, temperatura de armazenamento influencia no teor de antocianinas do produto final.

A extração a quente (altas temperaturas) do suco de uva pode diminuir em até 50% o teor de antocianinas. Mazza et al. (1995 apud MALACRIDA; MOTTA, 2006) verificaram que o total de antocianinas que é de aproximadamente 460 mg/100 g de suco extraído a frio diminui para 200 mg/100 g de suco quando a extração ocorre a quente.



**GRÁFICO 5** . Box Plot das Antocianinas dos sucos de uva analisados. \*\*\*Diferença significativa em relação aos néctares,  $p < 0,05$ .

Além disso, tempos longos de contato entre as partes sólidas da uva e o suco podem provocar alterações nos conteúdos de antocianinas devido à adsorção e/ou desorção dessas moléculas pelo bagaço da uva (MAZZA, 1995 apud MALACRITA; MOTTA, 2006).

A estocagem em baixa temperatura também provoca alteração na cor do suco de uva em razão de mudanças no pH e precipitação de antocianinas complexadas (MAZZA, 1995 apud MALACRIDA; MOTTA, 2006). Em uma das etapas do processamento dos sucos, é feito o resfriamento do mesmo para que ocorra a decantação e filtração do bitartarato de potássio.

O bitartarato de potássio é um composto formado durante o processamento do suco e do vinho. É um sal que se forma pela reação do ácido tartárico e do potássio presentes na uva. Esse sal é insolúvel à baixa temperatura, o que provoca a formação de cristais. Isso ocorre, por exemplo, quando se coloca o vinho no refrigerador, e também podem ser observados em sucos de uva muito concentrados (VARMAN, 1997).

## 5.4. Análise da Atividade Antiradicalar

### 5.4.1 Uvas viníferas

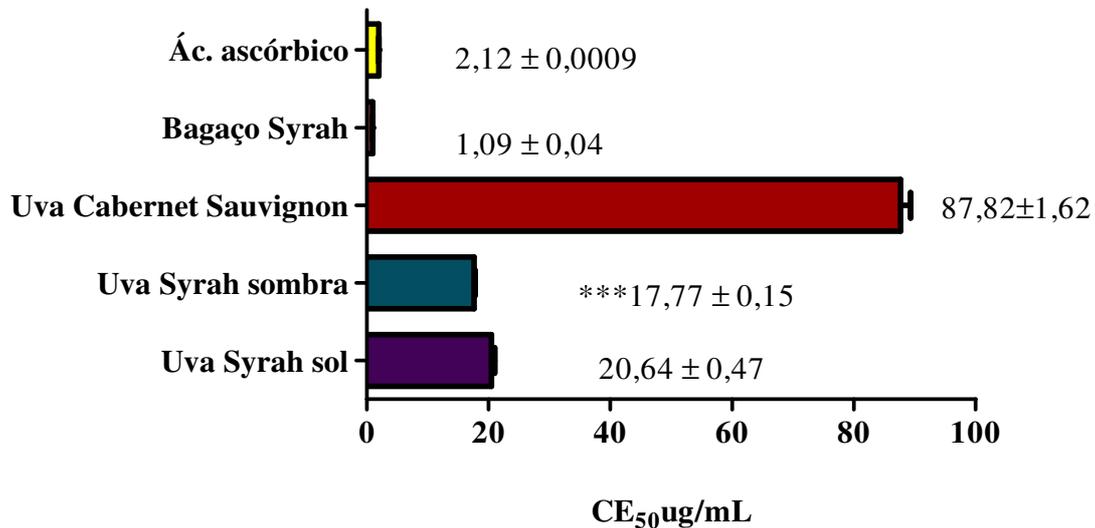
Os extratos das uvas analisadas apresentaram capacidade de seqüestrar o radical DPPH●. Esta capacidade foi expressa em CE<sub>50</sub> µg/mL de extrato, quantidade suficiente para seqüestrar 50% do radical. Quanto maior for este valor, menor é a atividade antioxidante do mesmo (Gráfico 6).

A variedade *Cabernet Sauvignon* foi a que apresentou maior CE<sub>50</sub> (87,22 ± 1,62µg/mL). Demonstrando menor atividade antioxidante quando comparada a variedade *Syrah*.

Os compostos fenólicos são responsáveis por parte da atividade antioxidante de diversos alimentos. A variedade *Cabernet Sauvignon* apresentou também os menores valores para fenólicos totais, resveratrol e antocianinas.

Ao compararmos as atividades antioxidantes entre a uva *Syrah* “sol” e *Syrah* “sombra”, percebemos uma diferença significativa frente ao “teste t” Student, com p<0,05.

Estas amostras não apresentaram diferenças significativas para os teores de *cis*-resveratrol, fenólicos totais e antocianinas monoméricas.



**GRÁFICO 6.** Atividade antiradicalar das uvas e bagaço de uva CE<sub>50</sub> µg/mL ± EPM (n=3).\*\*\* diferença significativa entre uva *Syrah* sombra e *Syrah* sol, p < 0,05.

A uva *Syrah* sombra apresentou melhor atividade com CE<sub>50</sub> de 17,77 ± 0,15 µg/mL. O extrato desta uva apresentou valor total para resveratrol maior que a variedade do sol e apresentou a forma isômerica *trans*, ausente na uva do sol. Desta forma podemos concluir que o teor de resveratrol e a forma isomérica encontrada no extrato influem positivamente na atividade antioxidante. Estudos tem demonstrado que a forma *cis* do resveratrol também apresenta potencial antioxidante (MIKULISKI et al., 2010). Iacopini et al. (2008) determinaram a atividade antioxidante para o resveratrol puro, pela capacidade de seqüestrar o radical DPPH•, e deteminou CE<sub>50</sub>=57,8±0,1 µM). Basly et al. (2000) ao determinara a capacidade seqüestradora sobre o radical DPPH, verificaram que o a forma *Cis* é mais ativa que a *trans* (CE<sub>50</sub>=1,12 µM e CE<sub>50</sub>=1,78 µM, respectivamente. Já Stivala (2001) determinou em seus experimentos que o *trans* é mais ativo (70%) do que o *cis* (45%) ao reagir uma solução a 60 µM dos isômeros com o DPPH.

Os vinhos tintos analisado por Lucena (2008) de diferentes variedades originadas do Vale de São Francisco, incluindo a *Syrah* e *Cabernet Sauvignon*, variaram entre de 1,4 e 122,6 µg/mL (CE<sub>50</sub>). As uvas analisadas neste trabalho encontram-se dentro desta faixa de atividade, mostrando que a atividade antioxidante da uva *in natura* equivale-se a de vinhos.

Este dado pode ser uma ótima influência para a produção de uvas viníferas da variedade *Syrah* e *Cabernet Sauvignon* para consumo in natura, comercializando-as como alimentos funcionais já que é crescente o interesse da população por uma dieta saudável.

As diferentes formas de expressar os resultados para a atividade seqüestradora do radical DPPH• dificultam a comparação. Seria necessário uniformizar estes dados. Huang e Prior (2005) ao discutirem os diferentes testes de atividade antioxidante sugerem que os resultados sejam expressos como CE<sub>50</sub>.

#### 5.4.2 Bagaço

O bagaço de uva *Syrah* demonstrou atividade antioxidante ao reduzir o radical DPPH na ordem de  $1,09 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$  de extrato (Gráfico 6).

São conhecidos os inúmeros benefícios da ingestão de alimentos com atividade antioxidante na prevenção de diversas patologias como o câncer, e doenças do coração. É necessário o desenvolvimento de produtos enriquecidos com o bagaço, para que o mesmo, possa ser melhor aproveitado.

O elevado potencial antioxidante apresentado pelo bagaço analisado demonstra que o produto pode ser reaproveitado seja na indústria de alimentos como na indústria farmacêutica no desenvolvimento de nutracêuticos. É um subproduto da vinificação que em parte é desprezado, mas que poderia fazer parte do dia-a-dia da população, diminuindo risco de doenças ou até mesmo tratando doenças.

O valor de CE<sub>50</sub> encontrado equivale-se aos da literatura em diferentes variedades. Ruberto et al. (2007) estudaram a atividade antioxidante de cinco bagaços de uvas tintas sicilianas (*Nero d'Avola; Nerello Mascalese; Nerello Cappuccio; Frappato e Cabernet Sauvignon.*) frente ao radical livre DPPH• e obtiveram valores de CE<sub>50</sub> que variavam de 14–39 $\mu\text{g/mL}$ . En Qin Xia et al., (2010) determinaram CE<sub>50</sub> 0,2 g/L de extrato do bagaço de uva.

Campos et al. (2008) ao estudarem a atividade antioxidante de diferentes extratos do bagaço da uva *Cabernet Sauvignon* constataram atividade inferior ao do bagaço analisado neste trabalho. O seu CE<sub>50</sub> foi  $> 250 \mu\text{g/mL}$  para alguns extratos e variou entre  $13 \pm 1$  e  $108 \pm 9 \mu\text{g/mL}$  para outros.

### 5.4.3 Sucos de uva e Néctares

Os sucos e néctares avaliados não apresentaram uma boa atividade antiradicalar (Tabela 8). Segundo Campos et al. (2003), os extratos são considerados ativos quando apresentam  $CE_{50} < \text{que } 500\mu\text{g/mL}$ . Amostras de sucos integrais e reprocessados obtiveram  $CE_{50} < \text{que } 500\mu\text{g/mL}$  com exceção das amostras: IN5 ( $623,59 \pm 4,92 \mu\text{g/mL}$ ), IN7 ( $537,82 \pm 11,33 \mu\text{g/mL}$ ), IN 8 ( $597,78 \pm 0,7562 \mu\text{g/mL}$ ), IN10 ( $579,02 \pm 3,38$ ) e SR8 ( $564,89 \pm 3,38 \mu\text{g/mL}$ ). A variedade de uva utilizada e o processo de fabricação destas amostras podem ter influenciado na  $CE_{50}$ .

**Tabela 8.** Capacidade sequestradora de radicais DPPH• dos sucos de uva e néctares.

	Sucos Integrais ( $CE_{50} \mu\text{g/mL}$ ) *	Sucos reprocessados ( $CE_{50} \mu\text{g/mL}$ )* <sup>1</sup>	Néctares de uva ( $CE_{50} \mu\text{g/mL}$ ) *
Amostra 1	440,31 ± 3,23	403,96 ± 16,04	1095,41 ± 3,55
Amostra 2	391,72 ± 7,77	494,36 ± 11,04	864,95 ± 7,75
Amostra 3	497, 17 ± 16,84	379,15 ± 15,89	936,97 ± 1,43
Amostra 4	278,48 ± 3,76	376,99 ± 6,960	821,55 ± 2,71
Amostra 5	623,59 ± 4,92	468,95 ± 4,07	825,63 ± 8,95
Amostra 6	471, 76 ± 4,07	474,52 ± 11,32	1342,16 ± 8,04
Amostra 7	537,82 ± 11,33	434,27 ± 0,75	1387,97 ± 4,66
Amostra 8	597,78 ± 0,75	564,89 ± 3,38	1143,35 ± 48,85
Amostra 9	424,78 ± 3,38		1175,38 ± 33,49
Amostra 10	579,02 ± 3,38		1480,21 ± 11,32
Amostra 11	238,96 ± 3,55		611,40 ± 1,21

\*  $\mu\text{g/mL} \pm \text{E.P.M}$  (n=3). 1. Apenas 8 amostras de sucos reprocessados foram analisadas.

Apesar de alguns sucos integrais e reprocessados não apresentarem atividade antiradicalar significativa ( $CE_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ ), podemos destacar que muitas amostras apresentaram moderado potencial antioxidante.

Os néctares foram as amostras com menor capacidade de reduzir o DPPH com  $CE_{50}$  variando entre  $611,40 \pm 1,21 \mu\text{g/mL}$  e  $1387,97 \pm 4,66 \mu\text{g/mL}$ . A amostra que apresentou melhor resultado foi a IN11 ( $238,96 \pm 3,552 \mu\text{g/mL}$ ). A uva *Bordô* mostra-se rica na composição de polifenóis totais e uma boa atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

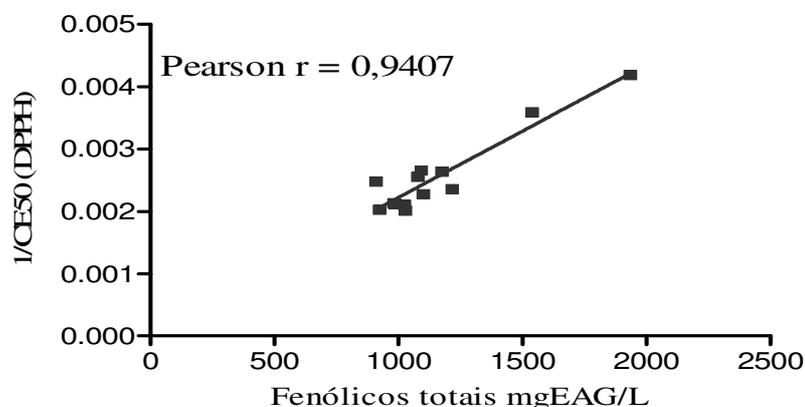
Não foram encontrados estudos com  $CE_{50}$  para sucos de uva, mas já é conhecido que os mesmos possuem capacidade de seqüestrar o radical DPPH. Seeram et al. (2008) determinaram nos sucos de uva da variedade *Concord* a capacidade de reduzir o radical DPPH. As percentagens variaram entre 50,1 a 63,9%, valores superiores aos dos sucos de maçã e laranja, determinados no mesmo estudo.

As análises neste trabalho foram feitas a partir de soluções estoque a base de água, produzidos com suco liofilizado inteiro. Talvez a aplicação de um processo de extração permita a extração dos compostos responsável pela atividade antioxidante. Todavia, nas mesmas condições foram determinando os fenólicos totais, os quais apresentaram valores comparáveis aos de vinhos estrangeiros.

A fim de avaliar a relação existente entre o teor de fenólicos totais e atividade anti-radicalar, foi realizada uma análise de correlação linear mostrada no gráfico abaixo (Gráfico 7).

Observa-se no gráfico que existe uma correlação linear entre a atividade anti-radicalar frente ao radical DPPH e a concentração de Fenólicos Totais, visto que o coeficiente de correlação linear (Pearson  $r$ ) encontrado foi de 0,9407, o que sugere que 94,07% da atividade anti-radicalar das amostras deve-se a contribuição dos Fenólicos Totais. Desta forma podemos concluir que existem substâncias não fenólicas presentes nas amostras com significativa atividade antioxidante.

Além de existirem nos sucos substâncias não fenólicas com significativa atividade antioxidante, parece existir nestas amostras um perfil de compostos fenólicos que não apresentam boa atividade antioxidante. Isto explicaria o alto teor de compostos fenólicos e as baixas atividades antioxidantes.

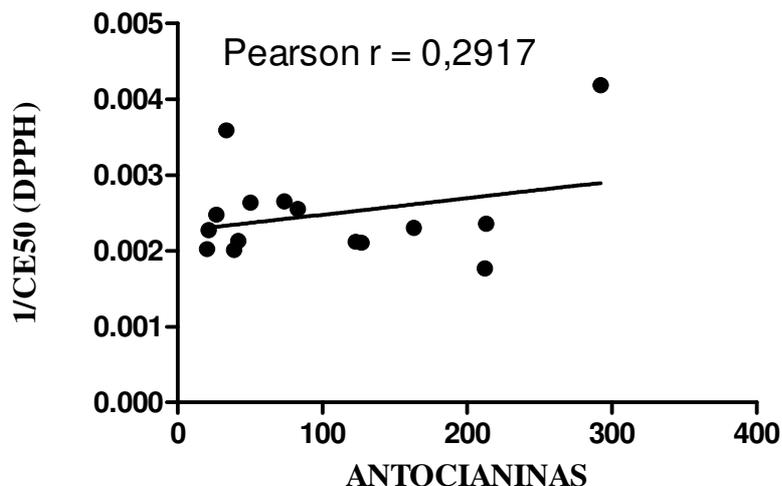


**GRÁFICO 7.** Correlação linear entre o teor de fenólicos totais e atividade seqüestradora do radical DPPH.

Foi realizada também a correlação linear entre as antocianinas monoméricas e atividade seqüestradora de radical DPPH●, o Pearson r foi de 0,2917, demonstrando baixa correlação linear entre a atividade antioxidante e teor de antocianinas (Gráfico 8).

Kallithraka et al. (2005) não encontraram correlação estatisticamente significativa avaliando antocianinas totais e capacidade antioxidante em cultivares de *Vitis vinifera*, confirmando a influência de outros constituintes da fruta. Apesar das antocianinas e do resveratrol representarem os constituintes potenciais outros compostos podem estar agindo sinergicamente, contribuindo para os efeitos benéficos associados ao consumo de uvas e seus derivados.

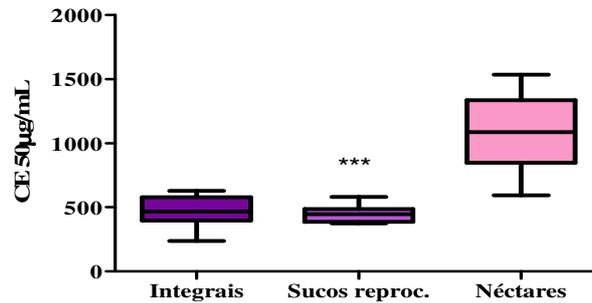
Outros estudos já relatam o contrário. Abe et al. (2007) encontraram alta correlação entre as antocianinas totais e a capacidade antioxidante ao estudarem uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. Munõs-Espada et al. (2004) avaliaram as cultivares de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*, e observaram uma associação positiva entre o conteúdo de antocianinas e a capacidade antioxidante pelo método de seqüestro de radicais livres do DPPH.



**GRÁFICO 8.** Correlação linear entre o teor de Antocianinas Monoméricas e atividade seqüestradora do radical DPPH.

Fica então evidente a necessidade de estudar a atividade antioxidante das frutas correlacionando-se com o perfil de polifenólicos e outros compostos químicos que possam influenciar nesta atividade.

O gráfico 9 mostra a dispersão do conjunto de dados para atividade anti-radicalar frente ao DPPH dos sucos analisados. Os néctares divergiram significativamente das amostras de sucos reprocessado e integrais ( $p < 0,0001$ ).



**GRÁFICO 9** Box Plot da Atividade sequestradora do radical DPPH● dos sucos analisados. \*\*\* Houve diferença significativa entre IN X NE e SR X NE ( $p < 0,0001$ ).

### 5.5 Flavonóides e ácidos fenólicos

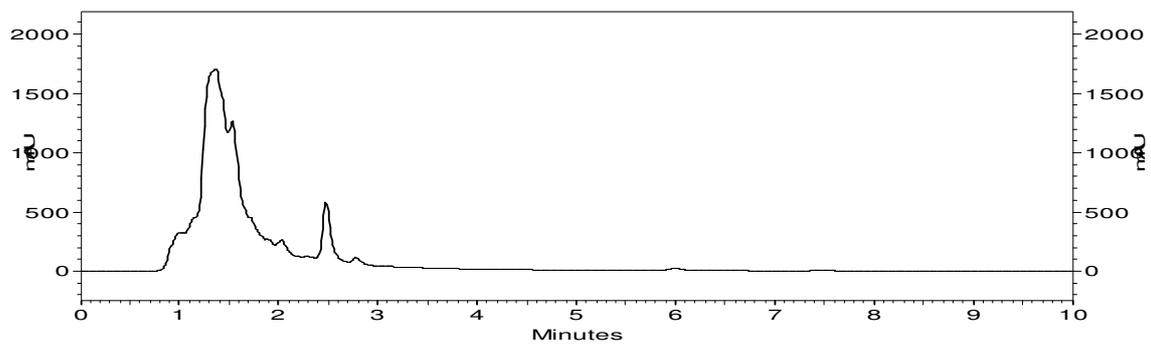
Abaixo são apresentados os cromatogramas das amostras analisadas nos comprimentos de onda característicos para ácidos fenólicos (290nm) e flavonóides (320nm). A tabela 8 relaciona as amostras que apresentaram sinais característicos nos comprimentos de onda analisados. As amostras SR5, SR6, SR7, SR8 apresentaram sinais que sugerem a existência de ácidos fenólicos. As amostras IN7, IN11, SR6, SR7, SR8 e NE8 e uva *Cabernet Sauvignon* apresentaram sinais que sugerem a existência de flavonóides.

As amostras IN7 (Figura 23), SR6 (Figura 35) e SR8 (Figura 39) apresentaram sinais (Tabela 7) em tempo de retenção similar ao da quercetina. Um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa ao utilizar os mesmos parâmetros na nossa corrida cromatográfica deerminou a quercetina em amostras de vinho e as mesmas apresentaram tempo de retenção entre o do *trans-resveratrol* (5min) e o *cis-resveratrol* (7,5min) de 6 min. O espectro de UV confirmou ser a quercetina como o demonstrado pelo espectro de ultravioleta na Figura 23.

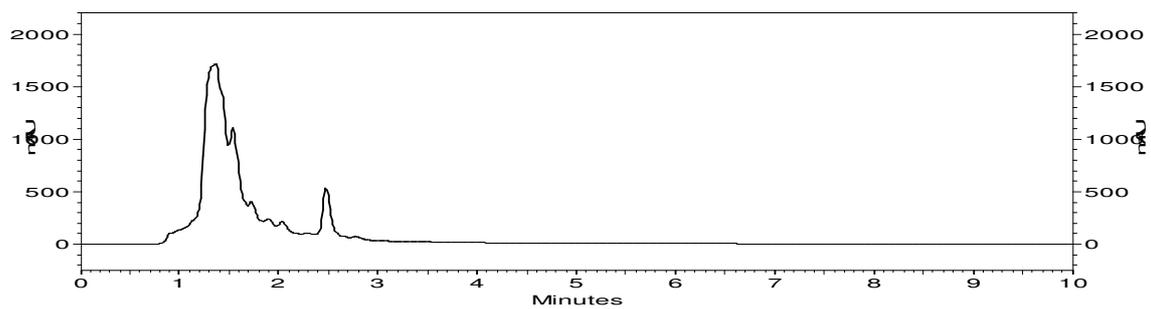
Observamos em todas as amostras uma coeluição de sinais entre 1 e 2 min para os sucos e 1 e 3 min para as uvas e bagaço que podem ser as antocianinas, freqüentemente, encontradas na forma glicosilada nas uvas. Uma corrida com gradiente a partir de 0% de fase orgânica a 100% poderia separar esses sinais e melhorar a resolução dos mesmos.

**Tabela 9.** Amostras que apresentaram sinais característicos nos comprimentos de onda para ácidos fenólicos (290nm) e flavonóides ( 320nm). CS-*Cabernet Sauvignon*

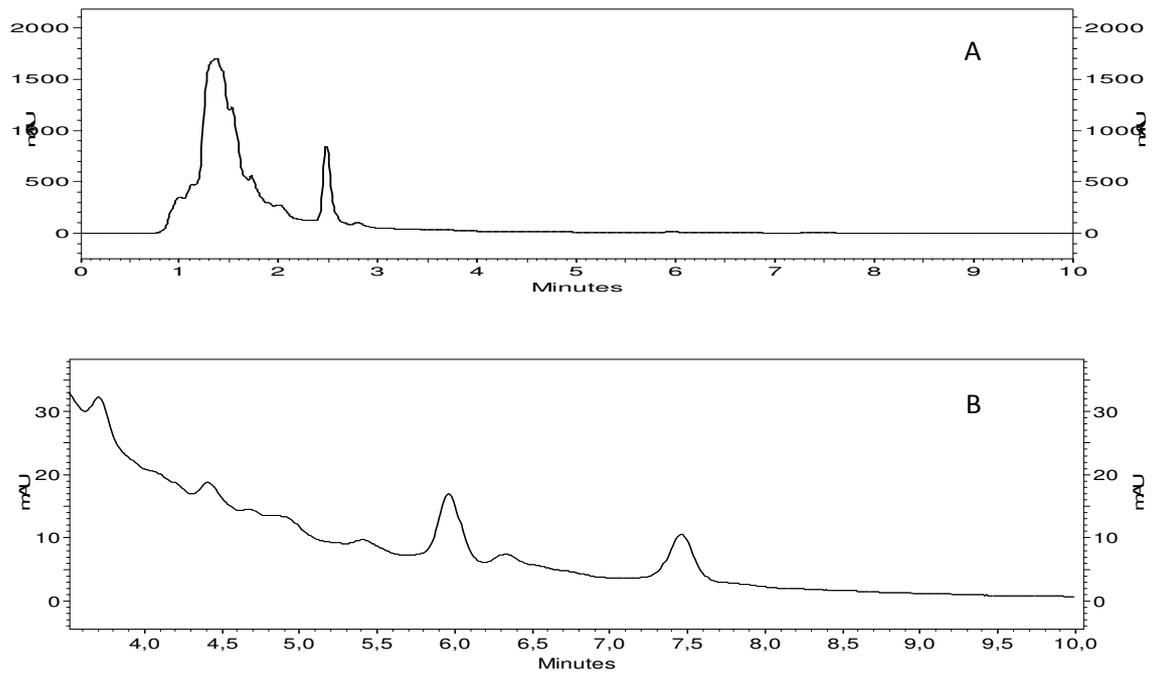
AMOSTRA	Sinal 290nm (min)	Sinal em 320 nm (min)
IN7	-	6,4
IN11	-	5,8
SR5	3,5	
SR6	3,7	6,2
SR7	3,7	5,8
SR8	3,7	6,3
NE8	-	8,5



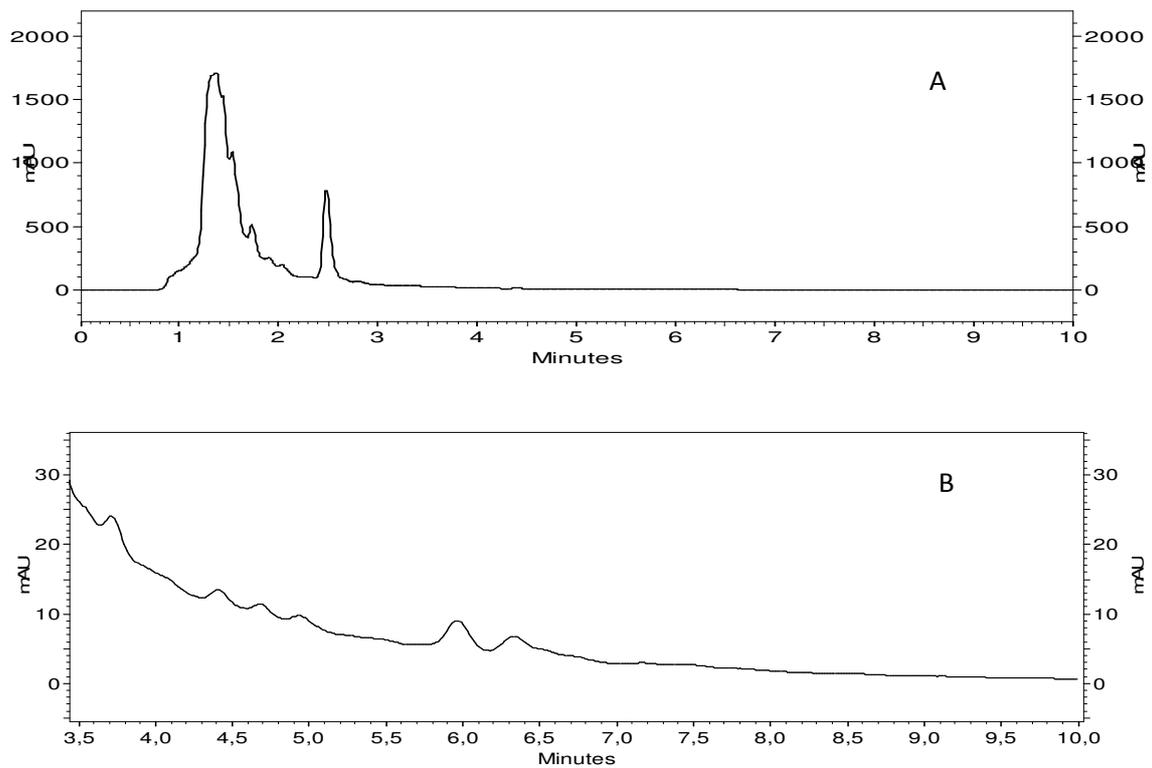
**FIGURA 20.** -Comatograma em 290nm da amostra IN6.

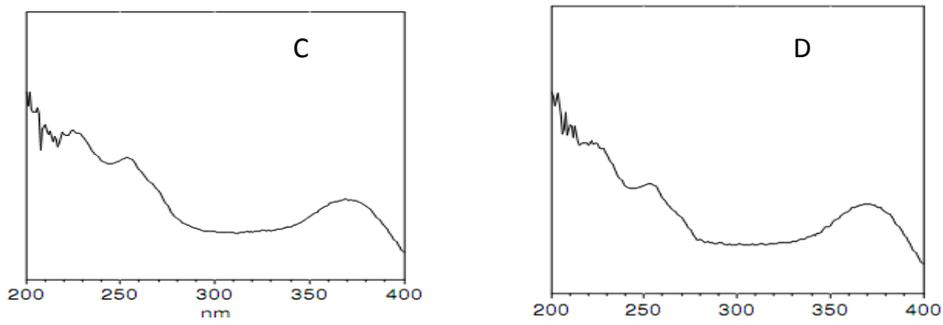


**FIGURA 21.** Comatograma em 320nm da amostra IN6.

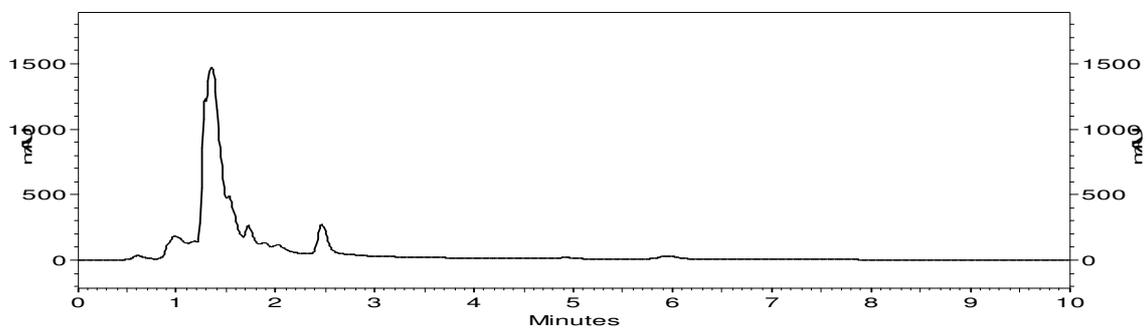


**FIGURA 22** A-Comatograma em 290 nm da amostra IN7 e B ampliação do mesmo

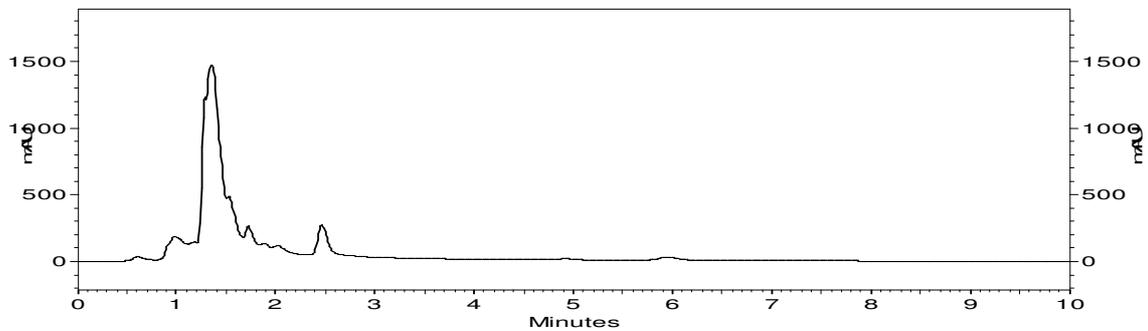




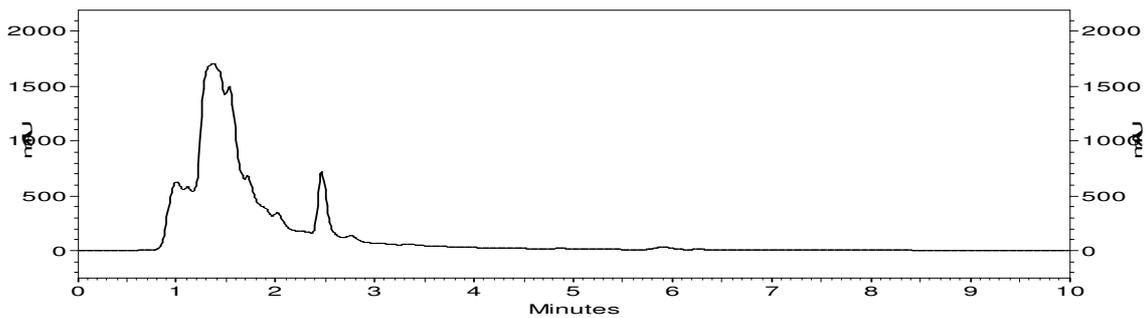
**FIGURA 23 .** A-Comatograma em 320nm da amostra IN7 e B ampliação do mesmo, C- UV da padrão de quercetina e D UV do sinal em 6,2 min (Lambda Max de 204nm).



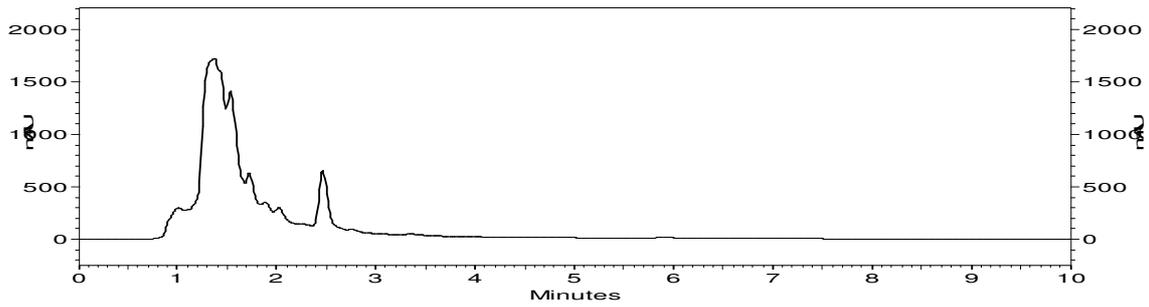
**FIGURA 24.** Cromatograma em 290nm da amostra IN8.



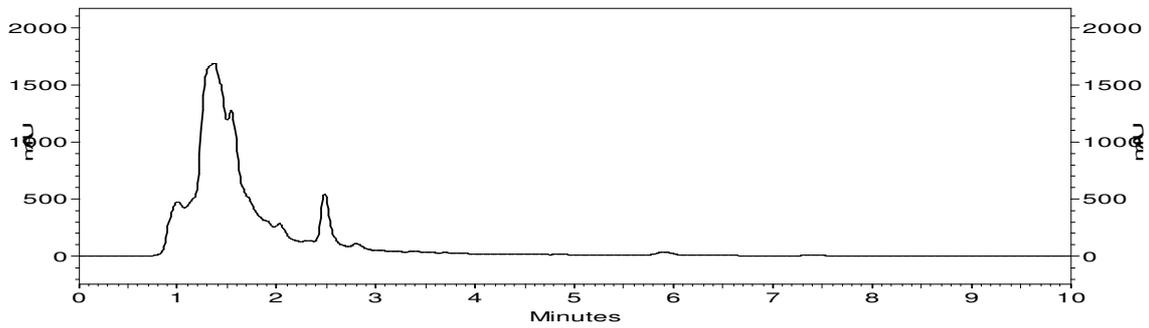
**FIGURA 25.** Comatograma em 320nm da amostra IN8.



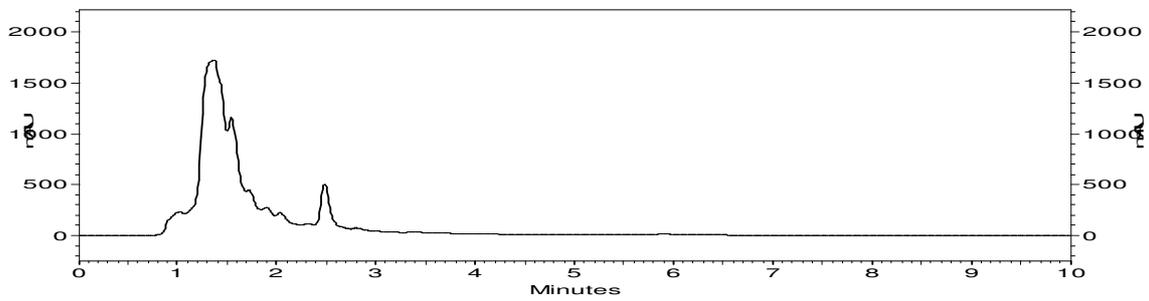
**FIGURA 26.**Comatograma em 290 nm da amostra IN9.



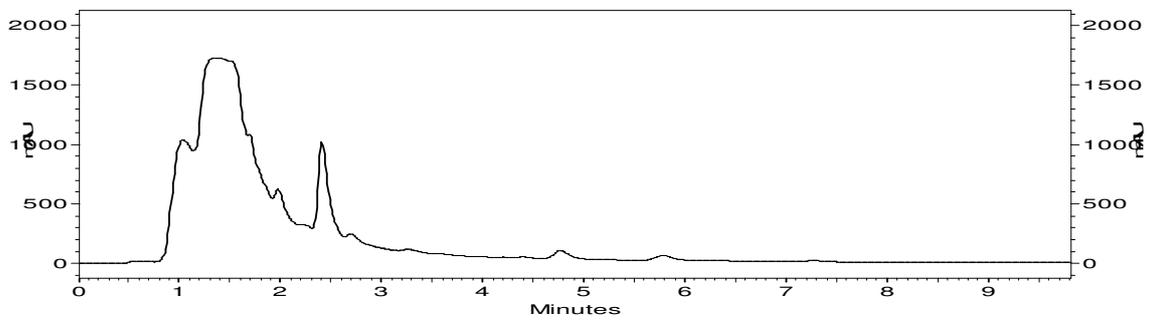
**FIGURA 27.** Comatograma em 320 nm da amostra IN9.



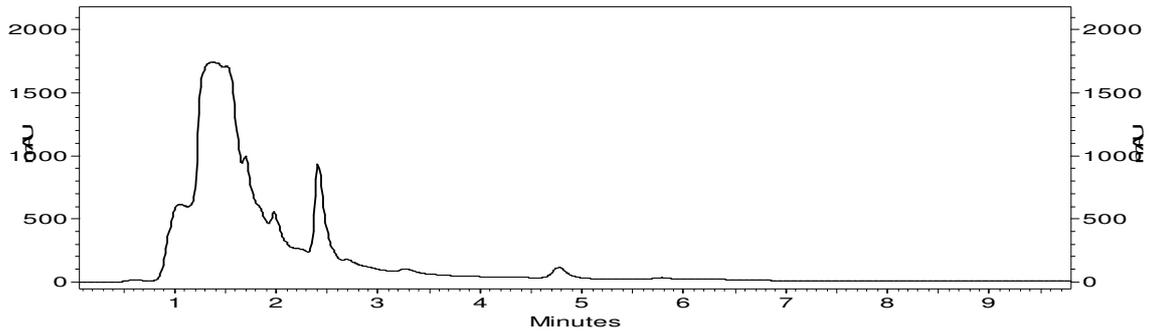
**FIGURA 28.** Comatograma em 290 nm da amostra IN10.



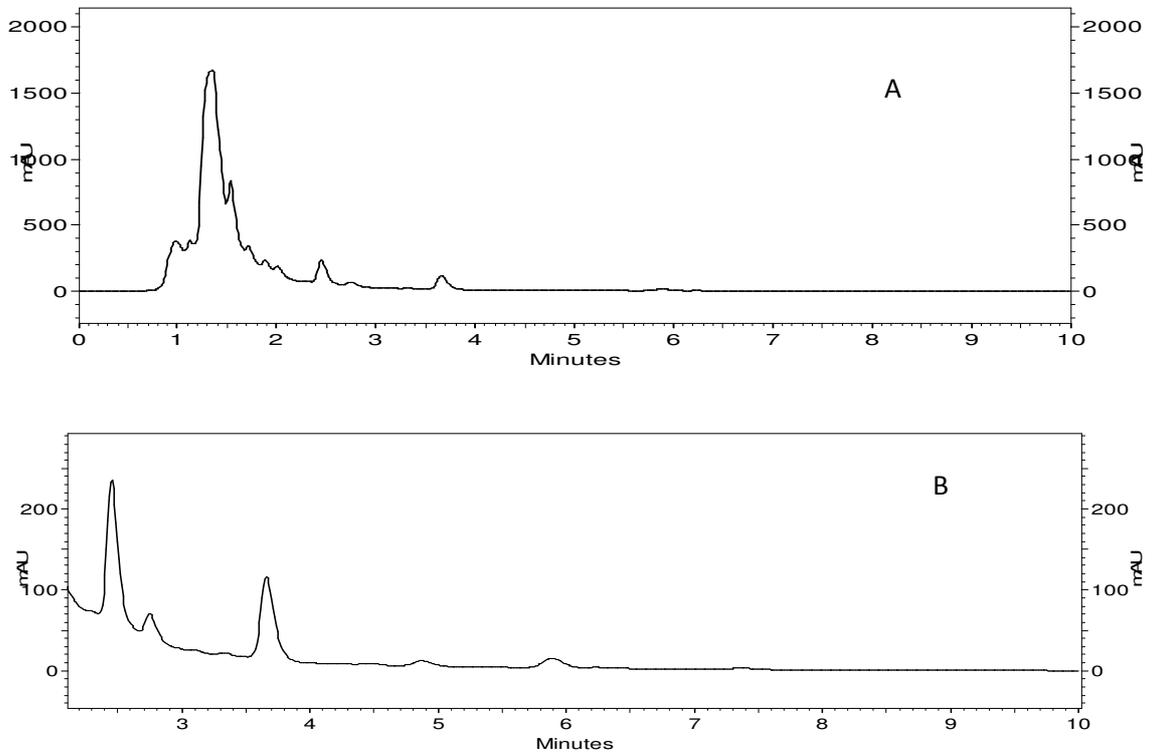
**FIGURA 29 .** Comatograma em 320 nm da amostra IN10.



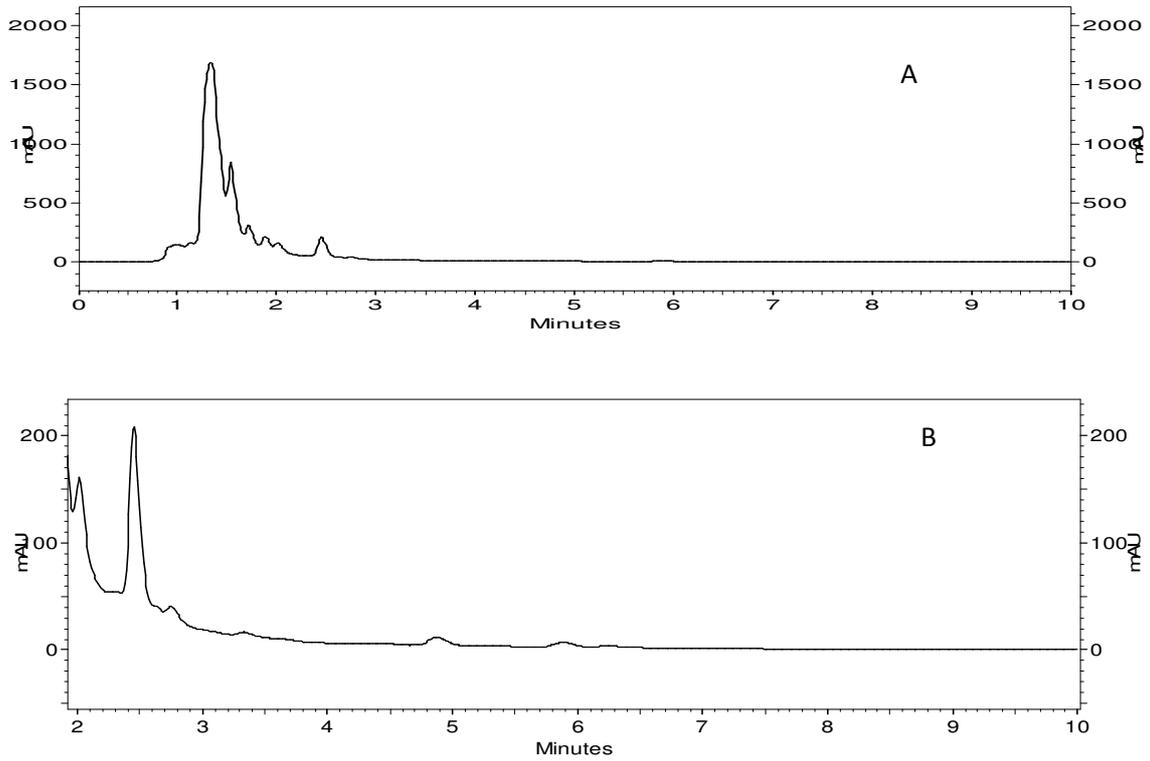
**FIGURA 30.** Cromatograma em 290 nm da amostra IN11.



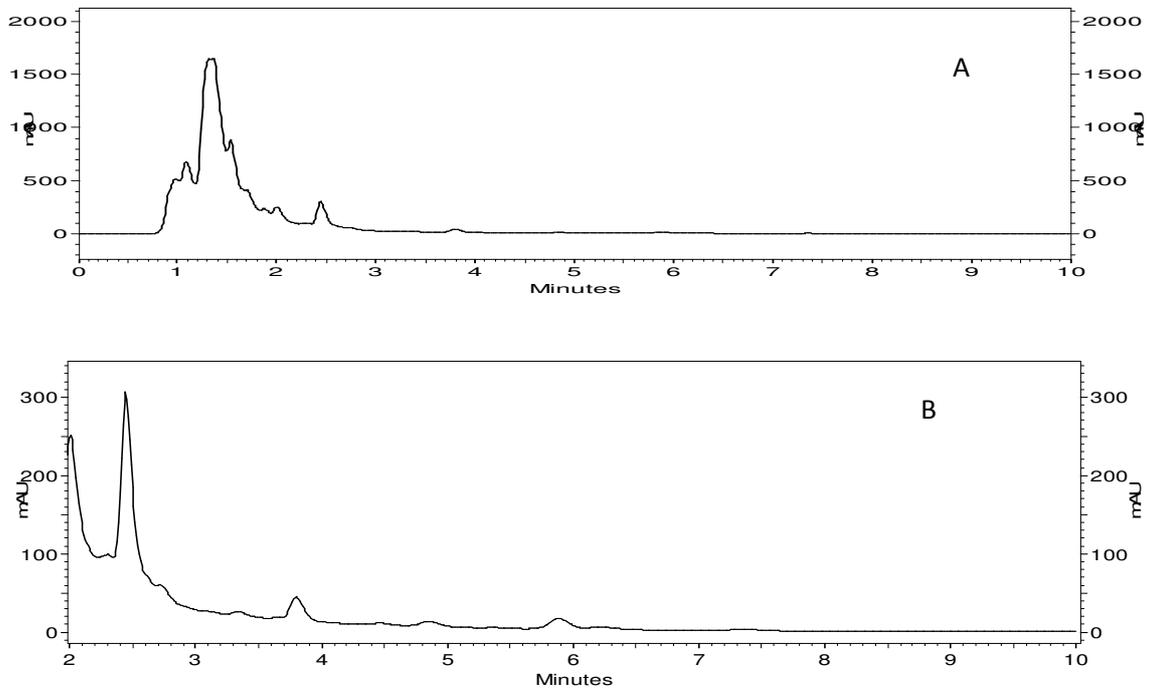
**FIGURA 31.** Cromatograma em 320 nm da amostra IN11.



**FIGURA 32.** A-Comatograma em 290 nm da amostra SR5e B ampliação do mesmo.



**FIGURA 33.** A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR5e B ampliação do mesmo.



**FIGURA 34.** A-Cromatograma em 290 nm da amostra SR6e B ampliação do mesmo

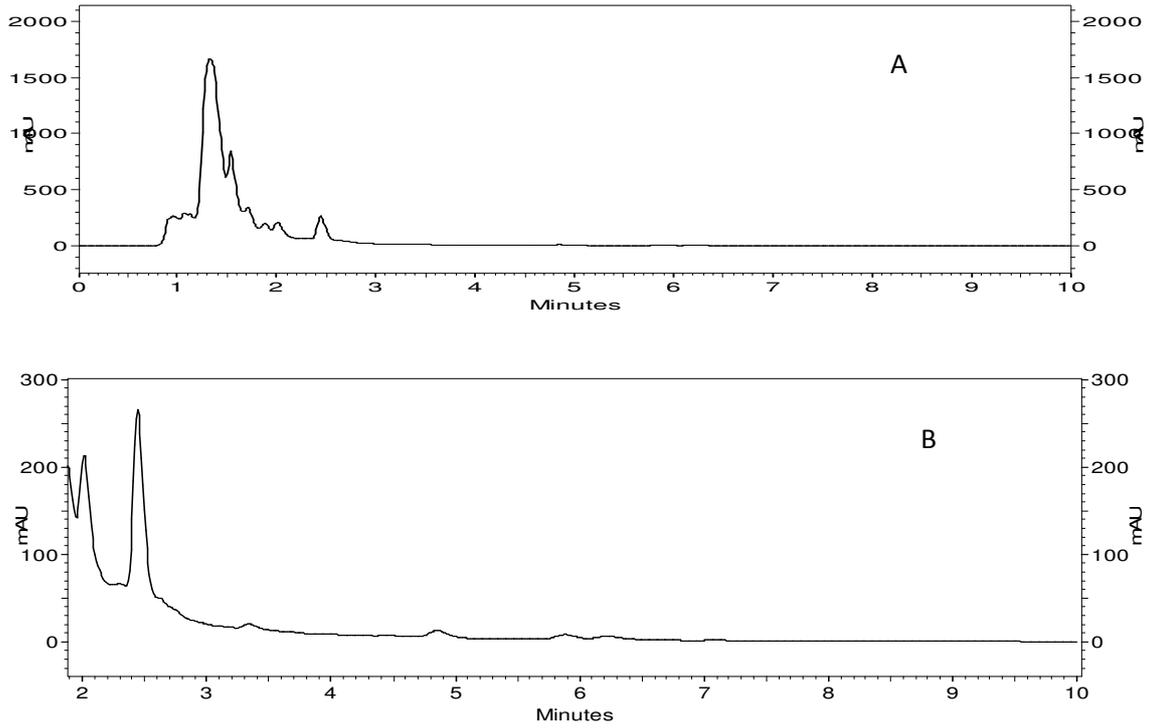


FIGURA 35 . A-Cromatograma em 320 nm da amostra SR6e B ampliação do mesmo.

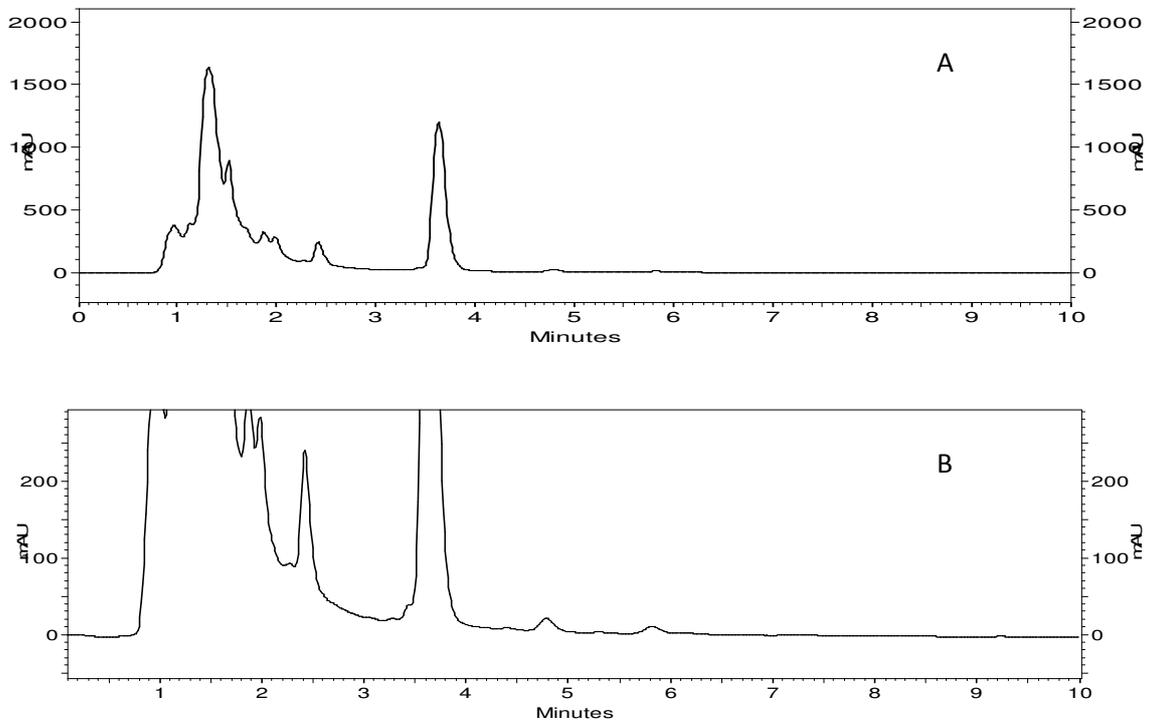
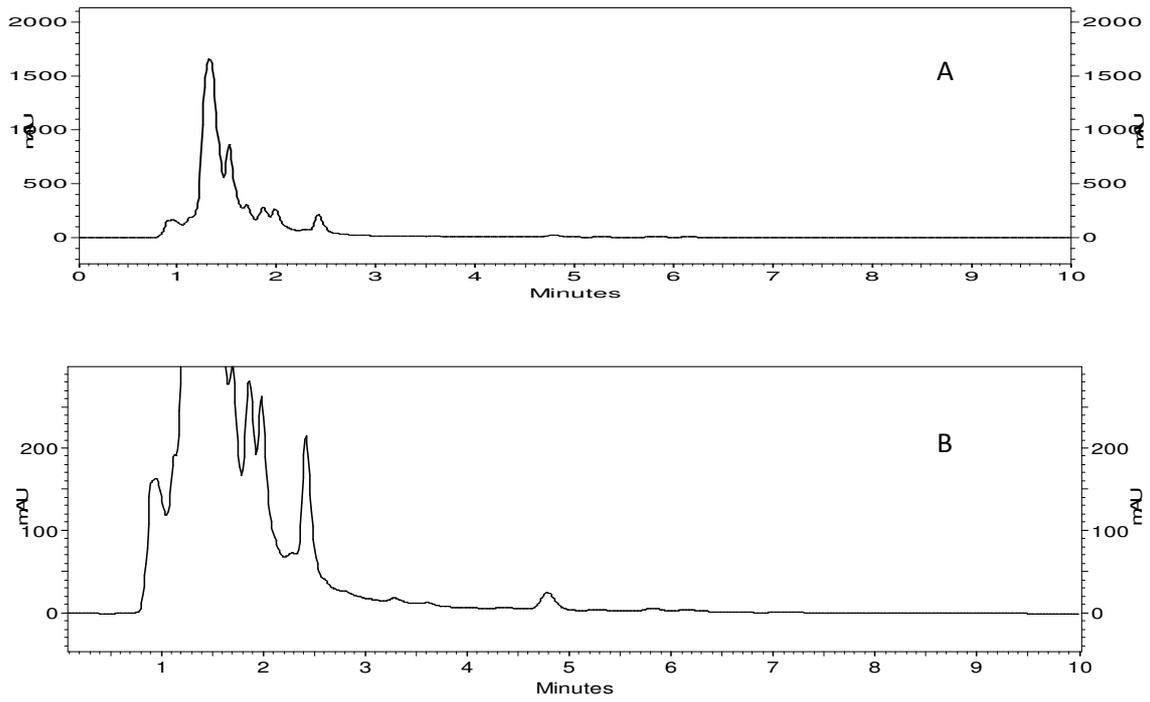
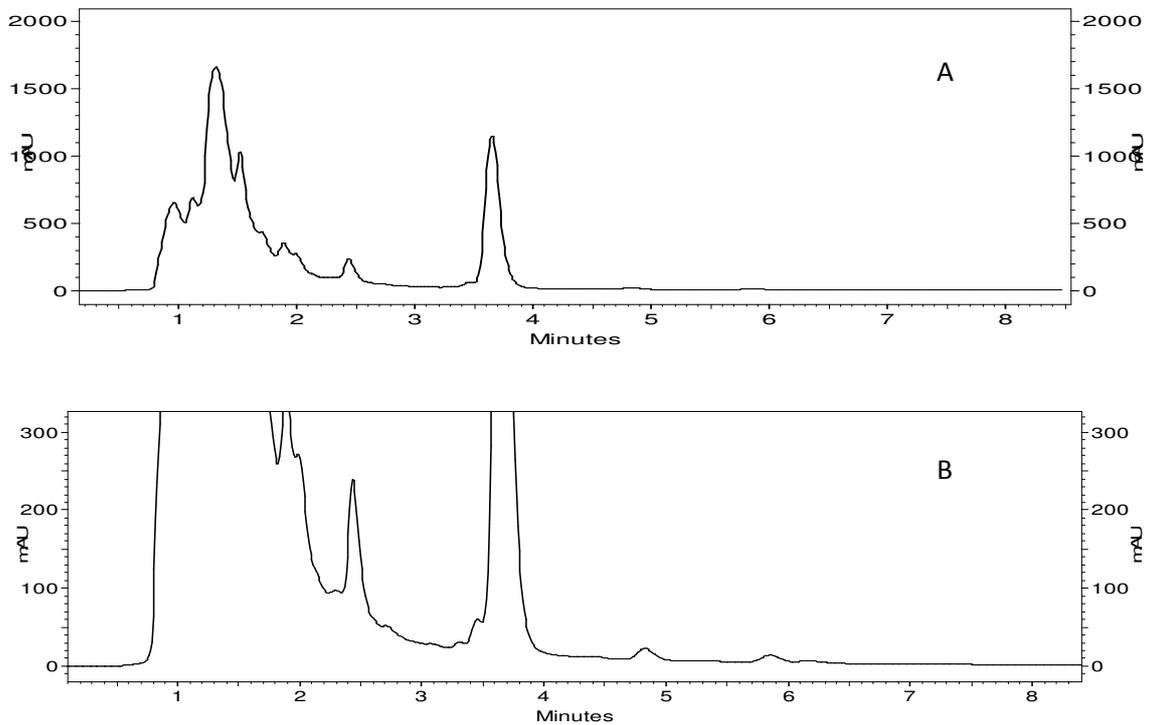


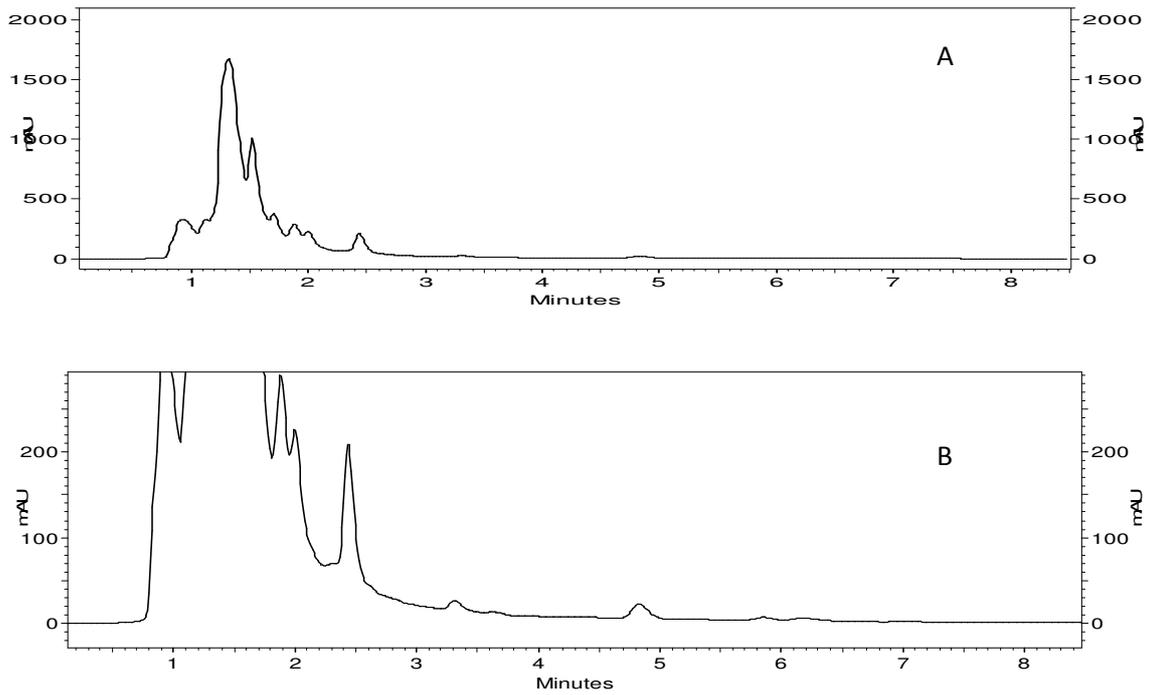
FIGURA 36. A-Comatograma em 290 nm da amostra SR7e B ampliação do mesmo.



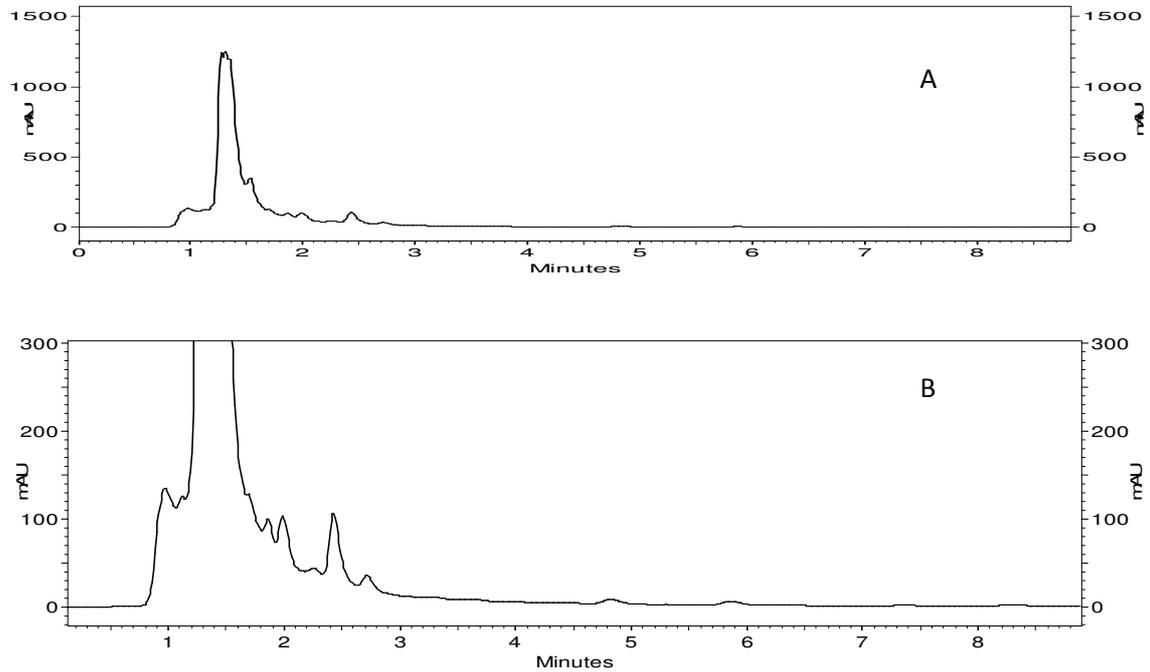
**FIGURA 37.** A-Comatograma em 320 nm da amostra SR7e B ampliação do mesmo.



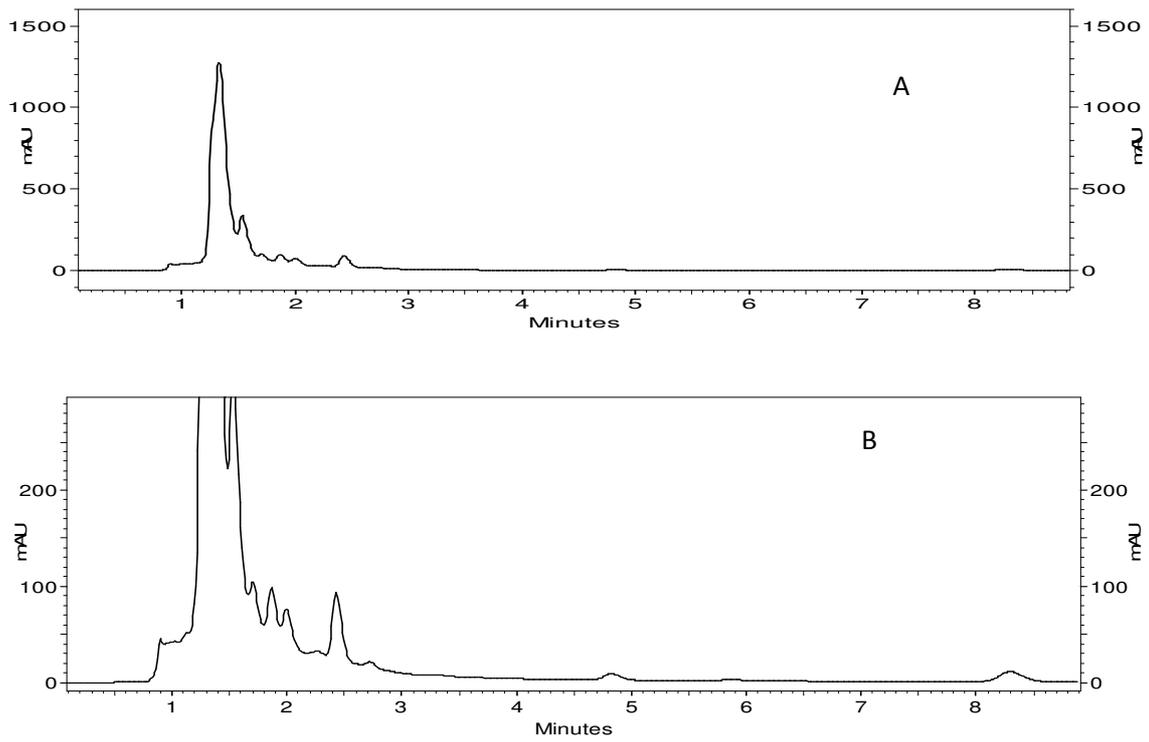
**FIGURA 38.** A-Comatograma em 290 nm da amostra SR8e B ampliação do mesmo.



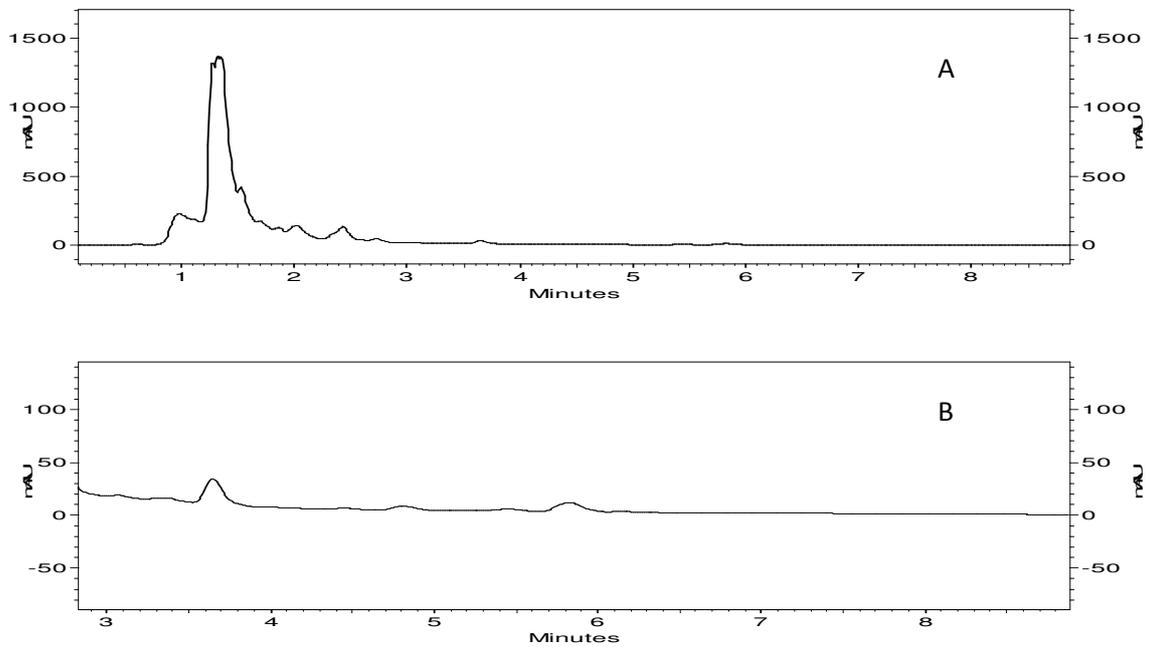
**FIGURA 39.** A-Comatograma em 320 nm da amostra SR8e B ampliação do mesmo.



**FIGURA 40** A-Comatograma em 290 nm da amostra NE8e B ampliação do mesmo.



**FIGURA 41.** A-Cromatograma em 320 nm da amostra NE8e B ampliação do mesmo.



**FIGURA 42.** A-Cromatograma em 290 nm da amostra NE9e B ampliação do mesmo.

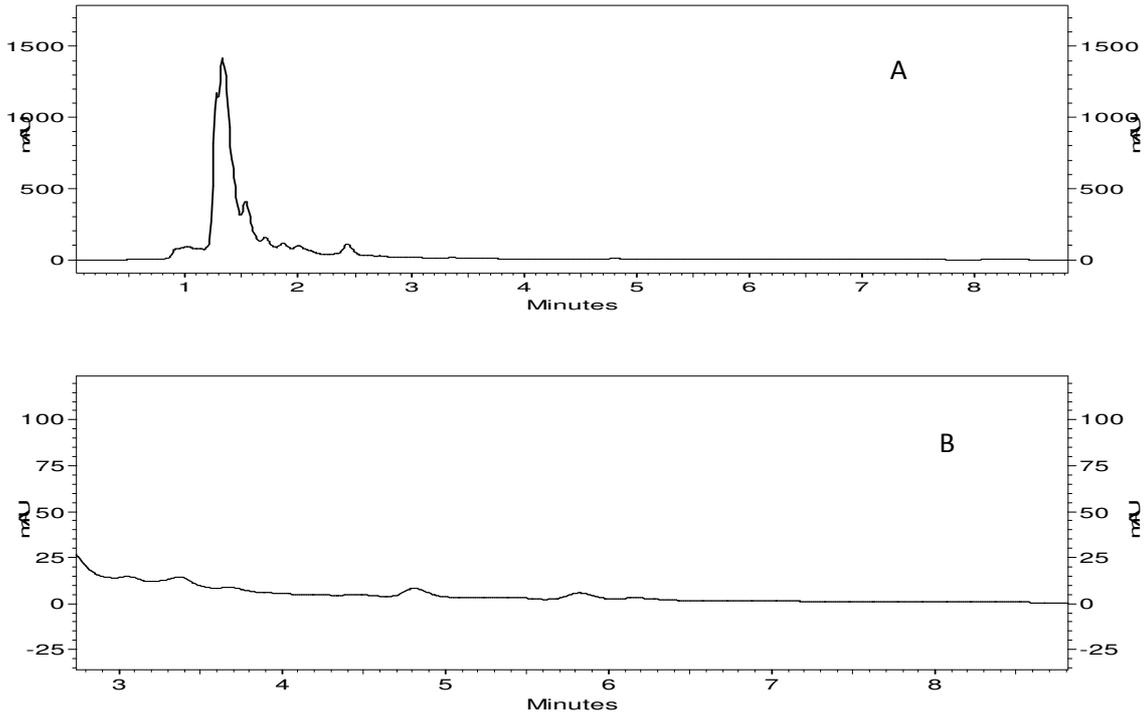


FIGURA 43. A-Comatograma em 320 nm da amostra NE9e B ampliação do mesmo.

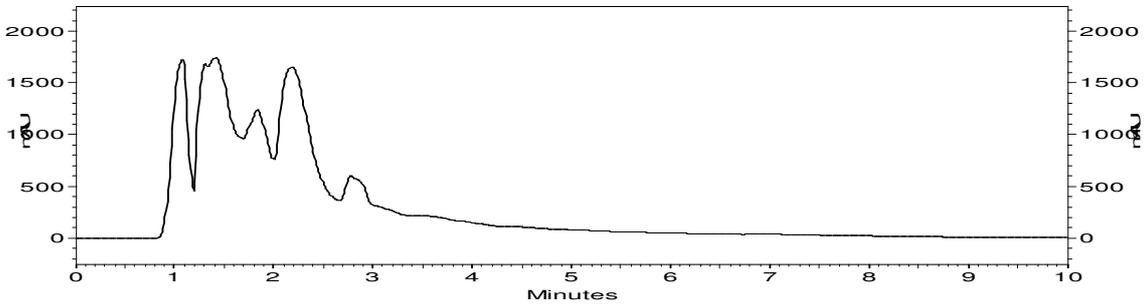


FIGURA 44 Cromatograma da uva *Syrah* exposta ao sol a 290nm.

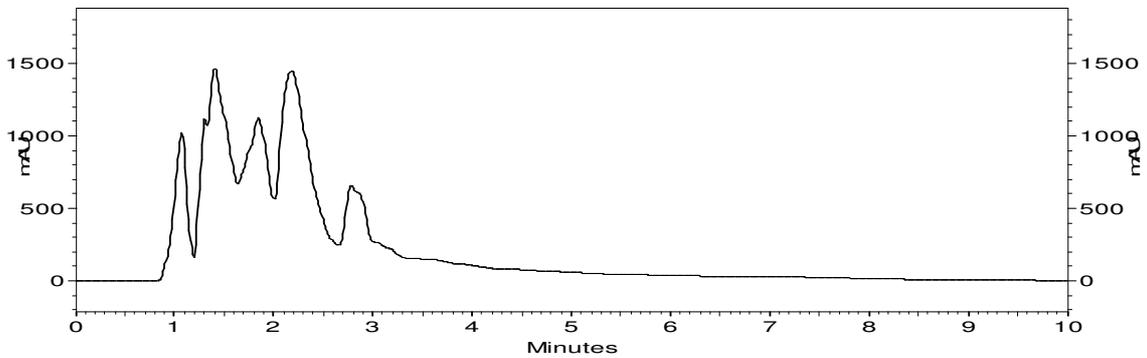
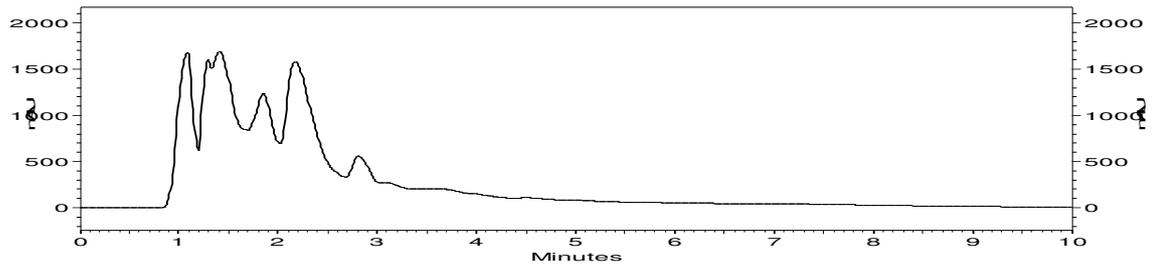
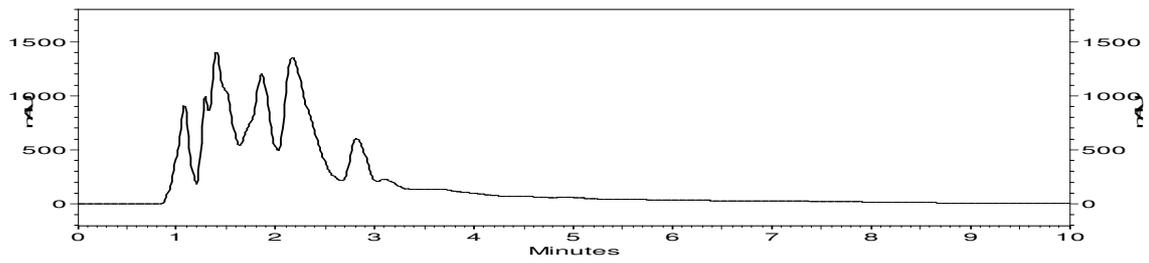


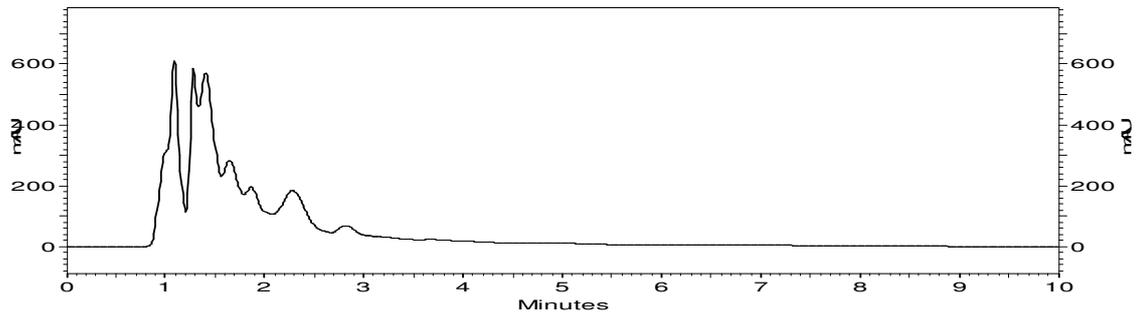
FIGURA 45 Cromatograma da uva *Syrah* exposta ao sol a 320 nm.



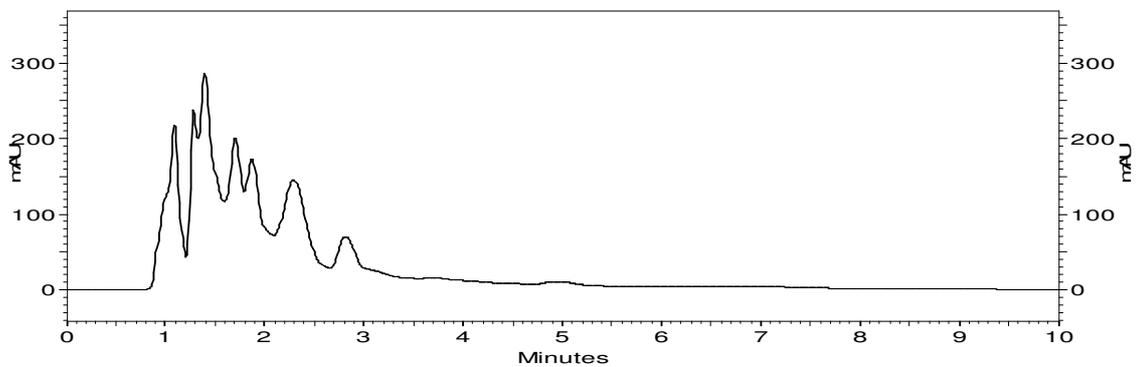
**FIGURA 46** Cromatograma da uva *Syrah* sombreada 290 nm.



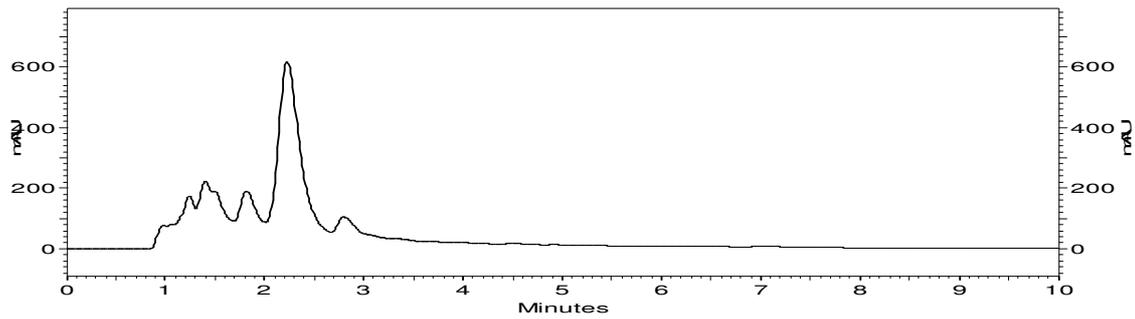
**FIGURA 47** Cromatograma da uva *Syrah* sombreada 290 nm.



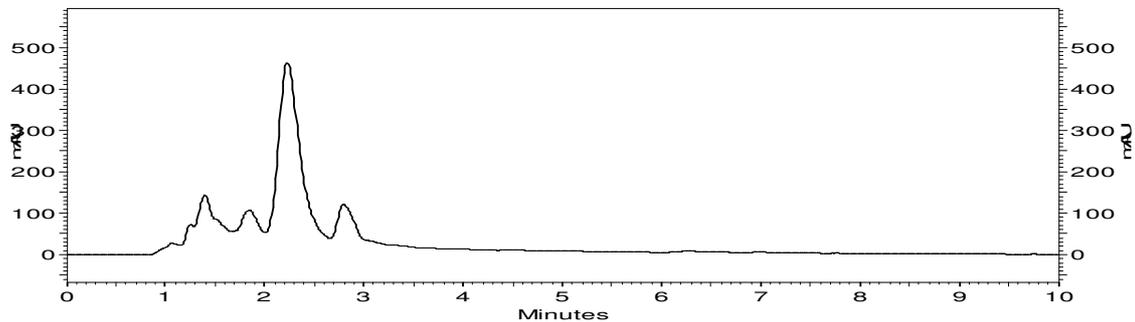
**FIGURA 48** Cromatograma da uva *Cabernet Sauvignon* 290nm.



**FIGURA 49** Cromatograma da uva *Cabernet Sauvignon* 320nm.



**FIGURA 50** Cromatograma da uva bagaço da uva *Syrah* 320nm.



**FIGURA 51** Cromatograma da uva bagaço da uva *Syrah* 320nm.

## 5.6 Resumo dos resultados quantitativos

A tabela abaixo mostra os resultados dos dados quantitativos de todas as amostras analisadas (Tabela 10).

Destacamos nos resultados de resveratrol a ausência do isômero *trans* na uva *Syrah* sol e a ausência do isômero *cis* nos néctares de uva o que é compatível com a idéia de fotoisomerização do resveratrol diante de radiação ultravioleta. Outro dado que observamos ter sido influenciado pela radiação ultravioleta foram a atividade antiradicalar das amostras de uva *Syrah* sol e sombra que divergiram significativamente, com  $p < 0,05$ .

O teor de *cis*-resveratrol foi maior que o isômero *trans* nas uvas viníferas o que é compatível com outros estudos que determinaram o mesmo resultado em vinhos brasileiros (VITRAC et al. 2005; LUCENA, 2008; MACIEL, 2009). O mesmo não aconteceu com as amostras de sucos, os quais são preparados com uva de mesa como a uva *Isabel* e a *Concord*.

Quanto ao bagaço observamos que, mesmo após sofrer todo processo de extração durante a vinificação, ele ainda retém significativos teores de resveratrol, fenólicos totais e uma excelente atividade antiradicalar.

Os sucos de uva apresentaram um teor considerável de fenólicos totais podendo ser comparável a de vinhos, como discutido na seção 5.2.3, porém os néctares tiveram os menores valores de fenólicos como também antocianinas, resveratrol.

A atividade antiradicalar foi expressiva para as amostras de uva e bagaço, já para os sucos integrais e reprocessados mostrou-se próxima ao limite considerado ativo (<500µg/mL).

**Tabela 10.** Valores médios para resveratrol, fenólicos totais, antocianinas e atividade sequestradora do radical DPPH de todas as amostras analisadas.

Amostras	Resveratrol (µg/mL)		Fenólicos totais (mgEAG/g)	Antocianinas (mgAM/g)	DPPH (CE <sub>50</sub> µg/mL)
	<i>trans</i>	<i>cis</i>			
Casca <i>Syrah</i> sol	nd	86,45 ±24,29	15,89± 0,9	8,78±0,98	2,12±0,00
Casca <i>Syrah</i> sombra	25,37±9,9	88,77± 13,90	17,89 ±0,61	10,0±0,56	1,09±0,04
Casca da <i>Cabernet Sauvignon</i>	14,51±3,4	45,67 ± 5,25	3,70±0,05	1,47±0,08	87,82±1,6
Bagaço <i>Syrah</i>	5,17±1,4	24,80 ± 4,93	3268 ± 360,7	0,75±0,07	17,77±0,1
Amostras*	<i>trans</i>	<i>cis</i>	Fenólicos totais (mgEAG/L)	Antocianinas (mgAM/L)	DPPH (CE <sub>50</sub> µg/mL)
Sucos Integrais	1,93±1,97	0,85±0,73	1135±337,6	86,93±90,68	461,9±121,2
Sucos Reprocessados	0,52±0,34	0,26±0,30	1030±90,43	89,42±70,42	449,6±617,0
Néctares de uva	0,43±0,09	nd	602,4±133,3	23,83±15,09	>>500

Nd- não detectado, \*Médias referentes as amostras com compostos detectados.

## 6. CONCLUSÕES

A metodologia desenvolvida para a produção de extratos permitiu a determinação de polifenólicos totais e resveratrol nas uvas e no bagaço. O tempo ideal de contato do solvente com o bagaço foi de 480min quanto a determinação de fenólicos totais.

A variedade *Cabernet Sauvignon* apresentou potencial antioxidante menor em relação a uva *Syrah* analisada.

A posição das uvas na videira, se sombreadas ou totalmente expostas ao sol, influenciou no teor dos isômeros do resveratrol e no potencial antioxidante ao avaliar a capacidade de seqüestrar o radical DPPH. A uva *Syrah* sombreada foi a que apresentou melhor atividade antiradicalar.

O bagaço de uva *Syrah* apresenta ótimo potencial antioxidante com alto teor de fenólicos totais e elevada atividade antiradicalar.

O conteúdo de fenólicos apresentados nas amostras de suco de uva tornam-nos, quanto a este aspecto, uma alternativa aos abstinências para o consumo de vinho.

A embalagem utilizada para o acondicionamento dos néctares pode ter influenciado na não detecção da forma *cis* do resveratrol.

Todas as amostras estudadas demonstraram através do seu teor de fenólicos que possuem um bom potencial antioxidante, podendo ser sugerida sua introdução na alimentação humana com a designação de alimento funcional.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V. da; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciências Tecnologia de Alimentos**, v.27, n .2, p. 394-400, abr.-jun. 2007.
- ADRIAN, M.; Jeandet, P.; BREUIL, A. C.; LEVITE, D.; DEBORD. S.; Bessis, R. Assay of Resveratrol and Derivative Stilbenes in Wines by Direct Injection High Performance Liquid Chromatography. **Journal Enology and Viticulture**, v.51, n.1, p.37-41, 2000.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz** , v. 66, n.1,p. 232-240, 2007.
- BASLY, J.P., MARRE-FOURNIER, F., LE BAIL, J.C., HABRIOUX, G. e CHULIA, A.J. Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-resveratrol. **Life Sciences**, v.66, n.9, p.769-777, 2000.
- BAUR, J. A. E SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. **Nature Review: Drug Discovery**, v.5, Jun,p.493-506,2006.
- BEHLING E. B. ; SENDÃO M. C.; FRANCESCATO, H .D.C; ANTUNES, L. M. G; BIANCHI, M. de L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004
- BRASIL. Decreto 99.066 de 08 de março de 1990. Regulamenta a Lei n.º 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados do vinho e da uva. Legislação Federal.
- BRASIL. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999 . Aprova as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 12 de 04 de setembro de 2003. Regulamenta o suco de fruta tropical. Gabinete do Ministro Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- BRAVO, M.N; FELICIANO, R; SILVA, S.; COELHO, A.V.; VILAS BOAS, L. BRONZE, M.R. Analysis of trans-resveratrol: Comparison of methods and contents in Muscatel fortified wines from Setubal region in Portugal. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p. 634– 643, 2008.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. **Nutrition Review**, v.56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRENT C. Trela, e ANDREW, L. Waterhouse .Resveratrol: Isomeric Molar Absorptivities and Stability. **Journal Agricultural Food Chemistry**,v. 44, n.5, p. 1253-1257, 1996.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anhtocyanins in acidic media. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 99, n. 5, p. 1359-1364. 1977.

BRUNELLO, T.; CAMPOS, T.; CHINO, M.; DAMMOUS, R.; MORETTI,.; NERI, L.; PRATES, A.; ARAÚJO, T. Uvas e vinhos como alimentos funcionais. São Paulo, (2001). NutriMais. Disponível em [http:// <www.ccs.uel.br/espacoparasaude/v3n2/doc/nutricao.doc>](http://www.ccs.uel.br/espacoparasaude/v3n2/doc/nutricao.doc) Acesso em 20/04/2010.

BUIARELLI, F; COCCIOLI, F.; JASIONOWSKA, R.; MEROLLE, M.; TERRACCIANO, A. Chromatographic Analysis of Trans Resveratrol in Italian Wines: Comparisons between FL, UV and MS Detection. **Chromatographia**, v.64, n.7/8, 2006.

CABRITA, M. J e SILVA, R., J. LAUREANO, O. (2003) – Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA, I, 2003, México. 24 e 25 de Setembro, Ensenada, México. Disponível em:<[www.isa.utl.pt/riav/Memoria](http://www.isa.utl.pt/riav/Memoria)>. Acesso em 10/07/2010.

CAMPOS, M.G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R.; CUNHA, A da. O. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n.3, p. 742-745, 2003.

CAMPOS L. M.A.S .Obtenção de extratos de bagaço de uva *Cabernet Sauvignon* (*Vitis vinifera*):Parâmetros de processo e modelagem matemática. Dissertação (Mestrado Engenharia de alimentos), Santa Catarina: p. 141, 2005.

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

CANTOS, E.; GARCIA-VIGUERA, C.; PASCUAL-TERESA, S. de; TOMÁS-BARBERÁN A. F. Effect of postshrest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv, Napoleon table grapes. **Journal of Agricultural Food Chemtry**, v.48, p. 4606-4612, 2000.

CANTOS, E.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; MARTÍNEZ, A.; ESPÍN. Postharvest Induction Modeling Method Using UV Irradiation Pulses for Obtaining Resveratrol-Enriched Table Grapes: A New “Functional” Fruit? **J. Agric. Food Chem.** v.49, p. 5052–5058, 2001.

CANTOS, E.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; MARTÍNEZ, A.; ESPÍN, J. C Postharvest Stilbene-Enrichment of Red and White Table Grape Varieties Using UV-C Irradiation Pulses. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p.6322–6329, 2002.

CANTOS, E.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; MARTÍNEZ, A.; ESPÍN, J. C Differential stilbene induction susceptibility of seven red wine grapevarieties upon post-harvest UV-C irradiation. **European Food Research Technology**, v.217, p.253–258, 2003.

CARERI, Maria;CORRADINI, Claudio; ELVIRI, Lisa; NICOLLETI, Isabella; ZAGNONI, Ingrid. Direct HPLC Analysis of Quercetin and trans-Resveratrol in Red Wine, Grape, and Winemaking Byproducts. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 51, n.18, p. 5226–5231, 2003.

CASAS, L; C. MANTELL C.; RODRÍGUEZ, M.; MARTÍNEZ DE LA OSSA M.S, ROLDÁN A, DE ORY, I.; BLANDINO, A.C.Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 96 p.304–308, 2010.

CASAZZA A. A.; ALIAKBARIAN B.; MANTEGNA S.; CRAVOTTO G.; PEREGO, P. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. **Journal of Food Engineering**, v.100,p.50–55, 2010.

CATANEO, C.B.; CALIARI V.;GONZAGA L. V.; KUSKOSKI E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. SEMINARIO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, jan./mar. 2008.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. de; AUGUSTO O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.441-449, 2007.

CODEVASF. <http://www.codevasf.gov.br/>. Data de Acesso: 08/07/2010. 2010

COPELLI, E. V. Avaliação de t-resveratrol em vinhos *Cabernet Sauvignon* tratados por Fitopos K Plus.p.40. (2005) Dissertação (Mestrado),universidade,Bento Gonçalves-RS 2005.

CURRENT PROTOCOLS IN FOOD ANALYTICAL CHEMISTRY. Editora: John Wiley and Sons, Inc., Ronaldo E. Wrostad ( Editor in Chief), 2006.

DANI, C.; OLIBONI, L.S.; AGOSTINI,F.; FUNCHAL, C.; SERAFINI, L; HENRIQUES J.A; SALVADOR, M. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage. **Toxicology in Vitro**, v.24, p.148–153,2010.

DAPCICH, V.; SALVADOR CASTELL G, RIBAS BARBA L, PÉREZ RODRIGO C, ARANCETA BARTRINA J, SERRA MAJEM LL Guia de la Alimentación Saludable. Editado por la Sociedad Española de Nutrición Comunitária (SENC). Madrid, 2004.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos antioxidants properties of phenolic compounds. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, Jan.- Jun./2004.

EN-QIN XIA, GUI-FANG DENG, YA-JUN GUO AND HUA-BIN LI. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal Molecular Science**, v.11, p.622-646, 2010.

FEIJÓO,O.; MORENO,A.; FALQUE, E.Content of *trans*- and *cis*-resveratrol in Galician white and red wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21,p.608– 613, 2008.

FERRARI, C. K. B. Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT) e colorimetria de vinte e um diferentes tipos de alimentos comercializados no município de São Paulo (SP), Brasil.p,124.(2002). Tese (Doutorado em nutrição), Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública, São Paulo; 2002.

FRAGOSO, S.; MESTRES, M.; BUSTO, O.; e GUASCH, J. Comparison of Three Extraction Methods Used To Evaluate Phenolic Ripening in Red Grapes. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.58, p.4071–4076, 2010.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 208-213, 2000.

FREITAS, D. M. Variação dos compostos fenólicos e cor dos vinhos de uvas (*vitis vinífera*) tintas em diferentes ambientes.p 56. (2006). Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2006.

GOLDY, R. G.; BALLINGER, W. E.; MANESS, E. P. Fruit anthocyanin content of some *Euvitis* x *Vitis rotundifolia* hybrids. **Journal American. Society Horticultural Science**, v. 111, p. 955-959, 1986.

GOLLÜCKE, A. P. B.; CATHARINO, R. R.; SOUZA, J. C. DE; EBERLIN, M. N.; TAVARES, D. DE K. Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. **Food Chemistry**, v.112, p. 868–873, 2009.

GRIMMING B.; SCHUBERT R.; FISCHER R.; HAIN R.; SCHREIER P. H.; BETZ C.; LANGEBARTELS C.; ERNST D.; SANDERMAN, H. J. Ozone- and ethylene-induced regulation of a grapevine resveratrol synthase promoter in transgenic tobacco. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.19, n.4, p.467-474, 1997.

GUERRA, C. C.; ZANUS, M. C. Uvas viníferas para processamento em clima temperado. EMBRAPA. Sistema de produção, 4, Jul, 2003.

GUERRA C.C. Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do Brasil. EMBRAPA. Sistema de produção, 9, dez, 2005.

GUERRA, C. C.; MANDELLI, F.; TONIETTO J.; ZANUS M. C.; CAMARGO U. A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos EMBRAPA. Documento n 48. Bento Gonçalves, RS. 2009.

GULCIN, I.; SAT, I. G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.; KUFREVIOGLU, O. I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). **Food Chemistry**, v.87, n.3, p.393-400, 2004.

HAGIWARA, A., KAWABE, M., NAKAMURA, M., IMAIDA, K., HIROSE, M. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-16-phenylimidazol (4,5- b) pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine **Cancer Letters**, v. 171, p. 17-25, 2001.

HALLS, C. e YU, O. Potential for metabolic engineering of resveratrol biosynthesis. **Trends in Biotechnology**, v.26, n.2, p.77-81, 2008.

HALLIWELL, B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? **Cardiology Review**, v.47, n.1, p. 410-617, June, 1995.

HUANG, D. B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 53, 1841–1856, 2005.

IACOPINI, P.; BALDI, M.; STORCHI, P.; SEBASTIANI, L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p. 589– 598, 2008.

IBRAVIN. <http://www.ibravin.org.br/brasilvitivinicola.php>. Data de Acesso: 08/07/2010. 2010.

ISHIMOTO, Emília Yasuko. Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters. p.195.(2008). Tese (Doutorado em Saúde Pública), USP, São Paulo: 2008.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: Hendry, G. A. F.; Houghton, J. D. (Eds.) *Natural Food Colorants*. 2<sup>nd</sup> ed. Londres: Chapman & Hall, p. 245-309, 1996.

JACKSON, R. S. *Wine Science: principles and applications*. San Diego, Ed. Academic Press, Inc., p. 475, 1994.

KALLITHRAKA, S. et al. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. **Journal Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 375-386, 2005.

KAPADIA, G. J. BALASUBRAMANIAN, V.; TOKUDA H.; IWASHIMA A.; NISHINO H. Inhibition of 12 -O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein virus early antigen activation by natural colorants. **Cancer Letters**, n. 115, p. 173 -178, 1997.

KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923-933, 2003.

KOVACEVIC, k.; GANIC, C.; PERŠURIC, D.; KOMES, D.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; BANOVIC, M. e PILJAC, J. Antioxidant activity of malvasia istriana grape juice and wine. **Italian Journal Food Science**, n. 2, v. 18, p.187-197, 2006

KUSKOSKI, Eugenia Marta; ASUERO, Agustín García; MORALES, Maria Teresa and FETT, Roseane. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciencia Rural**, v.36, n.4, pp. 1283-1287, 2006.

LANGCAKE, P.; PRYCE R. J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.9, p. 77-86, 1976.

LANGCAKE, P. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin,  $\alpha$ -viniferin and pterostilbene. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.18, n.2, p. 231-226, 1981.

LEE, J. e RENNAKER, C. Antioxidant capacity and stilbene contents of wines produced in the Snake River Valley of Idaho. *Food Chemistry*. n.105, p.195–203, 2007.

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

LUCENA, A P S de.Determinação da Atividade Antioxidante de Vinhos tintos da região do Vale de São Francisco.p.54. (2008). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).UFPB, João Pessoa-PB, 2008.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A.; ZBARSKY, V.; DALTA, K. P.; DEXTER, D. T.; ARUONA, O. I. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. **Food Research International**, v.38, n.4, p. 357-367, 2005.

MACIEL, J. A. Estudo do perfil de compostos fenólicos e atividade anti-radicalar de vinhos tintos do Rio Grande do Sul. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), UFPB, João Pessoa, p. 94, 2009.

MALACRIDA, C. R. e MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p. 659-664, out.-dez. 2005.

MALACRIDA, C. R. e MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e Estabilidade. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82 jan./jun. 2006.

MAZARO, S.M.;CITADIN, I.; GOUVÊ, A. DE; LUCKMANN,D.;GUIMARÃES, S.S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira.**Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1824-1829,out, 2008.

MELLO, L. M. R. Avaliação de impactos econômicos, de tecnologias geradas pela Embrapa Uva e Vinho – 2005 / Loiva Maria Ribeiro de Mello. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 26, 2006. (Documentos ; 58) ISSN 1808-4648.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2009 / Loiva Maria Ribeiro de Mello. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 4, 2009. (Documentos ; 58)

MIELE, A. et al. Free amino acids in Brazilian grape juices. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, Conegliano, v. 43, n. 4, p. 15-21, 1990.

MIELE, A.; MANDELLI, F. Sistema de condução de videiras. Embrapa Uva e Vinho, 2010. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/viticultura/siscond.html>>. Acesso em 08/07/2010.

MIKULISKI et al. A theoretical study of the structure–radical scavenging activity of trans-resveratrol analogues and cis-resveratrol in gas phase and water environment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1015–1027, 2010.

MUÑOZ-ESPADA, A. C. *et al.* Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.6779-6786, 2004.

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

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.

NIJVELDT, R.J et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-425, 2001.

ORTEGA-REGULES, A.; ROS-GARCÍA, J M.; BAUTISTA-ORTÍN, A. B.; LÓPEZ-ROCA, J.M.; GÓMEZ-PLAZA, E. Differences in morphology and composition of skin and pulp cell walls from grapes (*Vitis vinifera* L.): technological implications. **European Food Research Technology**, v.227, p.223–231, 2008.

PEZZUTO, J. M. Grapes and Human Health: A Perspective. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p. 6777–6784, 2008.

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

PIETTA, P. G. J. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, p. 1035-1042, 2000.

RIZZON, L.A., MANFROI, L. Sistema de produção de vinhos tintos. EMBRAPA. Sistema de produção, 12, Ago, 2006.

ROCKENBACH, I.I. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera L. e Vitis labrusca L.*) p.113.(2008). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) , Campinas-SP 2008 a .

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G.L da; RODRIGUES, E.; KUSKOSK, E. M.;FETT.E. Infuência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat e Ancelota*. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008b.

ROMERO-PEREZ et al. Method for the quantitative extraction of reveratrol and picied isomers in grape Berry skins. Effect of powdery mildew on the stilbene content. **Journal Agricultural Food chemistry**, v.49,p 210-215, 2001.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety **Review Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.

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

SANTANA, M. T. A., et al.caracterização de diferentes marcas de sucos de uva Comercializados em duas regiões do Brasil. **Ciência agrotecnica**, v. 32, n. 3, p. 882-886, maio-jun., 2008.

SANTOS, J. I. Vinhos: o essencial. 4 ed. São Paulo: Editora SENAC, p. 299, 2004.

SAUTTER, C. K. Avaliação da presença de resveratrol em sucos de uvaP.154.(2003) Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)UFSM-Santa Maria,RS , 2003.

SAUTTER, DENARDIN,S.; ALVES,A.O.; MALLMANN, C. A.; PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. Avaliação da presença de resveratrol em sucos de uva. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.3, p.437-442, jul.-set. 2005.

SCALBERT, A.; WILLIANSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, p. 2073S-2085S, 2000.

SEERAM,N. P., et al. Comparison of Antioxidant Potency of CommonlyConsumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.56, p.1415–1422, 2008.

SERAFINI M., MAIANI G., FERRO-LUZZI A. Effect of ethanol on red wine tannin-protein (BSA) interactions. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.45, p. 3148-3151,1997.

SHAHID, F.; JANITHA, P. K. & WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants.Critical. **Reviews in Food Science and Nutrition**, v.130, p.2073S-2085S, 1992.

SILVA, P. C. G; CORREIRA, R. C. Caracterização social e econômica da videira. Embrapa Semi-Árido Sistemas de Produção, Versão Eletrônica Julho/2004 disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira/socioeconomia.htm#importancia>>.Acesso em 26/06/2010.

SILVA, S.; MATIAS, A. A., NUNES, A. Identificação de glicósidos de flavonóis em subprodutos da vinificação por HPLC com diferentes detectores e hifenado com espectrometria de massa. **Ciência Têcologia de Vitivinicultura**, v.20, n.1, p.17-33, 2005.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I. & BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, p. 579, 2005.

SOUTO, A.A., CARNEIRO, M.C., SEFERIN, M., SENNA, M.J.H., CONZ, A. e GOBBI, K. Determination of trans-resveratrol concentrations in Brazilian red wines by HPLC. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.14, n.4, p.441-445. 2001

SUN, A. Y.; SIMONYI, A.; SUN, G. Y.; The “French paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. **Free Radical Biology Medical**, v.32, n.4, p. 314-318, 2002.

TOUNSI, S. M. Valorization of three varieties of grape. **Industrial Crops and Products**. v.30, p.292–296, 2009.

VARNAM, ALAN H.; SUTHERLAND, JANE P. **Bebidas: Tecnologia, Química y Microbiología**. Zaragoza: Acribia S.A., p. 27-71, 1997.

VALDUGA, E. et al. extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (Vitis labrusca). **Ciências agrotecnicas**, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, set./out., 2008

VATAI,T. ŠKERGET,M.; KNEZ, Z. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p.246–254, 2009.

VITRAC, Determination of Stilbenes ( $\delta$ -viniferin, *trans*-astringin, *trans*-piceid, *cis*- and *trans*-resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin) in Brazilian Wines. **Journal Agricultural Food Chemistry** v. 53, n. 14, p. 5664–5669, 2005.

WANG, C. J. WANG JM, LIN WL, CHU CY, CHOU FP, TSENG TH Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hidroperoxideinduced hepatic toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 411-416, 2000

WEI WANG, et al. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. **Plant Physiology and Biochemistry**. v.48, p.142e152, 2010

WIKIPÉDIA. A enciclopédia livre. RESVERATROL, Disponível em <<http://en.wikipedia.org/wiki/Resveratrol>>. Acessado em 22/02/2009.

YAMADA, T. Resistência de plantas a pragas e doenças: pode ser afetado pelo manejo da cultura?. **Informações agronômicas**, v. 108, p. 1-7, Dez, 2004.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidants capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.255-260, 2004.