

## **AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO BAGAÇO DE VINHO TINTO POR MEIO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

M. O. SANTOS<sup>1</sup>, N. B. EITEL<sup>2</sup>, A. P. G. CRUZ<sup>3</sup>, S. P. FREITAS<sup>2</sup>, A. G. TORRES<sup>3</sup>, W. L. JÚNIOR<sup>4</sup>, L. M. C. CABRAL<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Castelo Branco – Escola de Ciências da Saúde e do Meio Ambiente

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro - Escola de Química

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro - Instituto de Química

<sup>4</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos

E-mail para contato: [marlon.nutri@yahoo.com.br](mailto:marlon.nutri@yahoo.com.br)

**RESUMO** - A indústria de alimentos gera uma série de resíduos que, por apresentarem aspectos nutricionais e funcionais interessantes, poderiam ser reutilizados, diminuindo os impactos econômicos e ambientais causado pelo descarte. Entre os coprodutos da industrialização do vinho tinto, o bagaço é o resíduo sólido de maior volume gerado. Este coproduto é fonte de compostos fenólicos, grupo que apresenta alta atividade antioxidante. O potencial antioxidante dos alimentos confere benefícios ao organismo como a diminuição no processo de envelhecimento celular e prevenção a doenças crônico-degenerativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a extração hidroetanólica para recuperar compostos bioativos do bagaço proveniente da fabricação do vinho tinto. Os fatores avaliados foram: teor de etanol na solução, pH e razão solvente:substrato. Após hidratação com água destilada na proporção de 2:1 durante 60 minutos, o bagaço foi submetido à extração com solução etanólica por 120 minutos em shaker, mantido a temperatura de 50°C com agitação a 60 rpm em frascos devidamente vedados. Na faixa analisada, nenhum dos fatores influenciou estatisticamente o rendimento de extração. No entanto, a condição de extração com solução hidroetanólica 70%, pH 2,0 e razão líquido:sólido de 9:1 permitiu uma maior extração dos compostos fenólicos.

## **1. INTRODUÇÃO**

Estima-se que 80% da produção mundial de uvas seja destinadas ao processamento para a obtenção de vinhos, sucos e derivados (Kamerer et al., 2004). Embora o Brasil seja o décimo sexto país no ranking mundial da fabricação de vinho, a produção nacional vem crescendo e concentra-se no Rio Grande do Sul, com 90% da produção nacional de uvas, vinhos e derivados (Mello, 2010). Em 2010, o Rio Grande do Sul produziu 321,41 milhões de litros de vinho (Ibravin, 2010), gerando mais de 43 mil toneladas de bagaço no curto espaço de 3 a 4 meses.

Segundo Bravo (1998), o teor de compostos fenólicos no vinho tinto é muito superior (1000-4000 mg/L) ao do vinho branco (200-300 mg/L)), em decorrência, principalmente, das diferenças no processamento. Para a obtenção do vinho tinto as uvas maceradas seguem para a fermentação enquanto que para o vinho branco as cascas são removidas e somente o suco é fermentado (Hashizume, 2001). Desta forma, o etanol produzido na fermentação em contato com as cascas promove a extração dos compostos fenólicos, que segundo Brazinha e Crespo (2010) incluiriam flavonoides - antocianinas, procianidinas, flavonóis, flavanóis - estilbenos - e resveratrol. Em alguns tipos de vinho tinto, as uvas são esmagadas com o engaço, casca e semente, o que acaba por gerar maior quantidade de compostos fenólicos (Frankel, Waterhouse e Teissedre, 1995).

O bagaço é o principal subproduto da vinificação, constituído basicamente de casca e semente e por esta razão uma fonte potencial de compostos fenólicos (Silva, 2003). Os compostos fenólicos são fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina e amplamente distribuídos no reino vegetal, compreendendo desde estruturas mais simples como os ácidos fenólicos até estruturas químicas mais complexas como os taninos condensados (Angelo e Jorge, 2006).

Os fenólicos são oriundos do metabolismo secundário das plantas, desempenhando diferentes funções no vegetal, alguns podem atuar sobre o crescimento e reprodução dos mesmos, outros como antipatogênico ou ainda auxiliar na pigmentação. Nos alimentos por sua vez, contribuem para a adstringência, aroma e até mesmo estabilidade oxidativa. Alguns compostos fenólicos, como o resveratrol agem como fitoalexinas e por esta razão são sintetizados pelo vegetal principalmente quando sob condições adversas como, radiações UV, ferimentos, infecções, dentre outros fatores (Sun e Spranger, 2005).

Os compostos fenólicos vêm despertando o interesse da comunidade científica pelo seu grande poder antioxidante associado a efeitos benéficos à saúde. Alguns estudos apontam para a atuação destes compostos na prevenção de doenças crônico-degenerativas e outros processos biológicos relacionados ao estresse oxidativo (Scandalios, 2005).

A demanda crescente por produtos elaborados de forma sustentável e o aumento da fiscalização para o cumprimento da legislação ambiental, tem contribuído para a busca de alternativas mais apropriadas para o descarte e reaproveitamento dos resíduos gerados. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar, usando a metodologia de superfície de resposta, a melhor condição para a extração hidroetanólica dos compostos fenólicos presentes no bagaço proveniente da fabricação do vinho tinto.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios foram realizados com o bagaço proveniente da fabricação do vinho tinto safra de 2010/2011, gentilmente cedido pela vinícola Aurora.

Um planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata no ponto central foi empregado para a determinação da melhor condição de extração dos compostos fenólicos do bagaço de vinho tinto. As variáveis independentes avaliadas foram o pH, o teor de etanol e a razão líquido:sólido (Tabela 1). O pH das soluções de extração empregadas nos experimentos foi ajustado com ácido cítrico.

O bagaço foi hidratado com água destilada na proporção de 2:1 (bagaço/água), mantendo-se a mistura a 30°C em banho térmico durante 60 minutos visando facilitar a solubilização dos compostos de interesse na solução. Após o período de hidratação, o bagaço foi submetido à extração hidroetanólica, por 120 minutos, à 50°C em shaker com agitação de 60 rpm.

Para a remoção dos sólidos, a mistura final da extração foi filtrada em funil de Büchner, sem papel de filtro, e o filtrado foi recolhido e armazenado em recipiente adequado e congelado até o momento das análises. Os extratos foram avaliados quanto ao teor de compostos fenólicos totais através do método espectrofotométrico, empregando-se o reagente de Follin Ciocalteau de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1968) modificado por Georgé *et al* (2005).

A avaliação estatística dos dados foi realizada através do software comercial Statistica 7.0.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A matriz do planejamento experimental está descrita na Tabela 1 e os resultados de fenólicos totais apresentados refere-se ao rendimento da extração obtido com 100g de bagaço.

Dentre as condições avaliadas, o maior rendimento,  $382,2 \pm 2,6 \text{ mg. } 100\text{g}^{-1}$  bagaço ( $p < 0,0001$ ), foi alcançado no ensaio 4, no qual foram usados as condições mais severas de extração. Este teor de compostos fenólicos totais foi superior ao maior

rendimento obtido por Cruz *et al.* (2010) com a extração enzimática de bagaço de uva niagara (102 a 285 mg.100g<sup>-1</sup> de bagaço).

Tabela 1: Planejamento experimental fatorial 2<sup>3</sup> e resultados obtidos para teor de compostos fenólicos totais (FT)

Ensaio	pH	Etanol <sup>1</sup>	Razão solvente:substrato	FT <sup>2</sup>
01	2,0	30,0	3:1	183,55 ± 5,90
02	2,0	30,0	9:1	301,07 ± 2,33
03	2,0	70,0	3:1	313,18 ± 14,45
04	2,0	70,0	9:1	382,18 ± 2,61
05	4,0	30,0	3:1	132,46 ± 11,68
06	4,0	30,0	9:1	312,65 ± 6,61
07	4,0	70,0	3:1	281,15 ± 11,97
08	4,0	70,0	9:1	294,04 ± 10,04
09	3,0	50,0	6:1	259,69 ± 2,61
10	3,0	50,0	6:1	272,79 ± 5,77
11	3,0	50,0	6:1	313,95 ± 8,53

<sup>1</sup> O teor de etanol da solução está expresso em % v/v; <sup>2</sup>Fenólicos totais – valores expressos em mg ácido gálico equivalente.100g<sup>-1</sup> bagaço - valores apresentados como média ± desvio padrão, n=3.

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente pelo programa Statistic 7.0 utilizando o erro puro através da triplicata no ponto central. Desta forma, o erro experimental foi considerado independente do erro do modelo matemático. Os testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov aplicados aos resíduos indicaram a homocedasticidade dos mesmos, com  $p > 0,05$ , permitindo a aplicação dos métodos estatísticos paramétricos da metodologia de superfície de resposta empregada.

Nas condições experimentais propostas, nenhum dos fatores avaliados foi estatisticamente significativo para a extração dos compostos bioativos do bagaço de vinho tinto, como pode ser verificado no gráfico de Pareto (Figura 1) muito provavelmente pela grande heterogeneidade do resíduo ocasionando elevada variação entre os ensaios. Outra hipótese que deve ser considerada neste caso são as

características da matéria prima, uma vez que o bagaço de vinho tinto é um resíduo já parcialmente esgotado no processamento e o teor residual de fenólicos pode ter sido um fator limitante da extração.

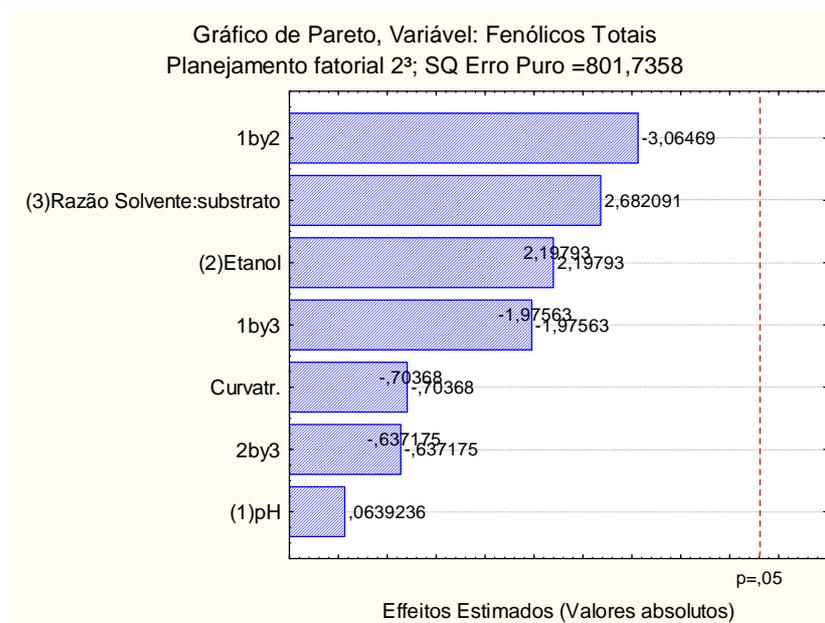


Figura 1 – Gráfico de Pareto - estimativa dos efeitos normalizados com nível de significância de 5%.

O extrato obtido no ensaio 4 apresentou um teor médio de fenólicos de  $406 \pm 3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , expresso em ácido gálico, superior ao teor médio reportado por Bravo (1998) para vinhos brancos ( $200 \text{ a } 300 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e inferior a  $2.860 \text{ mg.L}^{-1}$  encontrado por Negro *et al.* (2003) para o extrato de bagaço de uva tinto seco e triturado extraído com etanol 80% acidificado com 0,5% de ácido clorídrico 0,1 N e razão solvente:substrato de 30:1 na mesma temperatura de  $50^\circ\text{C}$ . Embora a concentração do extrato tenha sido menor que a obtida por Negro *et al.* (2003), o bagaço proveniente da fabricação do vinho tinto apresenta potencial para uso como fonte de compostos fenólicos com aplicação mais abrangente uma vez que não apresenta coloração. Se comparado com os dados acima reportados, o processo proposto neste trabalho apresenta vantagens que devem ser consideradas como o ácido selecionado (ácido cítrico), de uso consagrado e permitido para área alimentícia, assim como a razão solvente:substrato quase três vezes inferior ao recomendado na literatura. O ácido clorídrico é um ácido forte e o teor empregado por Negro *et al.* (2003) permite auxiliar a extração e estabilização das antocianinas, por hidrolisar estruturas celulares e o baixo pH favorecer a protonação do núcleo flavílio. Outro ponto importante é a preservação das sementes que apesar de reduzir o teor de

compostos fenólicos extraíveis permite o aproveitamento das mesmas para a obtenção do óleo de semente de uva além de diminuir a adstringência do extrato.

#### 4. CONCLUSÃO

O aproveitamento do bagaço proveniente da fabricação do vinho tinto mostrou-se promissor como fonte de compostos fenólicos. Entretanto, na faixa selecionada, nenhum dos parâmetros avaliados foi estatisticamente significativo para a extração dos compostos bioativos do bagaço de vinho tinto.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 66(1), p. 232-240, 2007.

ARNOLD, R. A.; NOBLE, A. C. Bitterness and astringency of grape seed phenolics in a model wine solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30: p. 179-181, 1979.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, metabolism and nutritional significance. *Nutritional Reviews*, v.56 n. 11, p. 317-333, 1998.

BRAZINHA, C.; J. CRESPO. Membrane processing: Natural antioxidants from winemaking by-products. *Filtration + Separation*, 2010.

CRUZ, A. P. G.; FREITAS, S. P.; CABRAL, L. M. C.; TORRES, A.G.; GOMES, F. S. Extração de compostos bioativos do bagaço de uva (*Vitis vinifera*, L.). *XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura*, Natal, RN – Brasil, 17 a 22 de outubro de 2010.

FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A.L.; TEISSEDE, P.L. Principal phenolic phytochemical in selected California Wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.*; 43: p. 890-894. 1995.

GEORGÉ, S.; BRAT, P; ALTER, P. and AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 1370-1373, 2005.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.L. *Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos*. v.4. São Paulo: Edgard Blücher, p. 21-68. 2001.

IBRAVIN. Demonstrativo da Elaboração de Vinhos e Derivados de 2004 até 2010 (RS). Disponível em <<http://www.ibravin.org.br/admin/UPLarquivos/220220111853082.pdf>> Acesso em 01 de março de 2012.

KAMERER, D.; CLAUS, A.; CARLE, R. and SCHIEBER, A. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 4360 – 4367, 2004.

KOSSEVA, M. R. Processing of food wastes. *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 58, p. 57-136, 2009.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2009. Disponível em: <[http://www.ibravim.org.br/int\\_noticias.php?id=413&tipo=A](http://www.ibravim.org.br/int_noticias.php?id=413&tipo=A)>. Acesso em: 16 de março de 2010.

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

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defense (review). *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SILVA, L. M. L. R. Caracterização da vinificação. *Millenium: Revista do ISPV. Portugal*, v. 28, n. 28, p. 123-133, out. 2003.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, v.16, p.144-168. 1965.

SUN, B.; SPRANGER, M. I. Review: Quantitative Extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes. *Ciencia Téc Vitiv.* 20 (2), p. 59-89. 2005.