

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DO BAGAÇO DE UVA TINTA

N. F. F. SALES¹, A. P. G. CRUZ¹, L. M. C. CABRAL² e A. G. TORRES¹

¹ Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro

² Embrapa Agroindústria de Alimentos (RJ)
E-mail para contato: nathaliaffs@gmail.com

RESUMO – O principal resíduo da vitivinicultura consiste do bagaço e é composto de semente e casca. Dados industriais indicam que para cada 100 L de vinho produzidos, produzem-se 20 kg de bagaço. O bagaço da uva proveniente da vitivinicultura apresenta compostos bioativos, tais como polifenólicos. Grande parte do resíduo é desperdiçado ou subutilizado hoje em dia, porém o conhecimento de modos de extração dos componentes bioativos presentes neste resíduo industrial pode valorá-lo e contribuir para que destinos mais nobres sejam dados ao resíduo. O objetivo do presente trabalho foi determinar os teores dos componentes antioxidantes em extratos hidroalcoólicos de resíduos industriais da vinificação em branco de uvas tintas e analisar sua capacidade antioxidante *in vitro*. Os resíduos foram obtidos de indústrias de vitivinificação de Bento Gonçalves (RS) e extraídos em escala piloto (EP) e de bancada (EB) com etanol 70%, pH 4. Uma fração foi concentrada por osmose inversa e o retido foi analisado. Os ensaios de atividade antioxidante ORAC, redução do radical ABTS, fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas, foram realizados com os extratos de EP, EB e com o retido na osmose inversa (ROI). O ROI teve os melhores resultados, com concentração de fenólicos de 473,85 mg/100 g do bagaço, 105,49 mg/100 g de antocianinas totais, 91,38 mg/100 g de antocianinas monoméricas e atividade antioxidante por redução do radical ABTS e ORAC 26,78 e 22,94 37,9 μmol de equivalentes de Trolox/ g, respectivamente.

Palavras-chaves: bagaço de uva, vinificação em branco, compostos antioxidantes, capacidade antioxidante.

1. INTRODUÇÃO

A uva é uma das frutas mais cultivadas no mundo, chegando a ser produzidas 60 milhões de toneladas por ano (Schieber *et al.*, 2001). Aproximadamente 80% da colheita são utilizadas na vitivinicultura e o bagaço da uva consiste em 20% das uvas processadas (Lafka *et al.*, 2006). No Brasil, em 2008 a produção de uva chegou a 634 mil toneladas, o dobro da produção do ano de 1998. No mesmo ano a produção de vinhos e derivados foi de aproximadamente 427 milhões de litros (UVIBRA, 2011).

O resíduo sólido de maior volume da indústria vinícola, o bagaço, é composto principalmente por engaço, semente e casca. Os compostos presentes na uva, como

resveratrol, ácido linoleico, ácido palmítico, entre outros, permanecem no bagaço em maior ou menor quantidade, dependendo do processo de fabricação do vinho (Campos, 2005). Os resíduos agroindustriais contêm uma variedade de espécies biologicamente ativas que são desperdiçadas, muito deles ricos em compostos polifenólicos (Cataneo *et al.*, 2008).

Grande parte dos bagaços produzidos pelas vinícolas é desperdiçada. Mas sabendo-se da quantidade considerável de componentes bioativos presentes nesse resíduo agroindustrial, a extração desses componentes de importância para as indústrias farmacêuticas, químicas e de alimentos, pode ser uma alternativa para a valorização deste resíduo. Principalmente na indústria de alimentos, onde estas substâncias podem ser utilizadas como antioxidantes naturais, permitindo levar ao consumidor um produto mais natural, além de reduzir o impacto ao meio ambiente e diminuir as perdas (Selani, 2010).

Os compostos fenólicos são uma importante categoria de fitoquímicos, devido a sua alta capacidade antioxidante e pela sua habilidade de eliminar radicais livres, através de mecanismos como o de inibição de enzimas responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigênio e redução espécies reativas de oxigênio (Li Fu *et al.*, 2011). Esses compostos como antioxidantes naturais, além de serem compostos alternativos com finalidade de evitar a deterioração oxidativa dos alimentos, também podem exercer um importante papel fisiológico, minimizando os danos oxidativos no organismo animal. A maioria das substâncias fenólicas pode ser classificada em dois principais grupos: não-flavonoides e os flavonoides. Os principais subgrupos dos flavonóides são as proantocianidinas, as antocianidinas, os flavonóis, as flavonas e flavanóis (Cataneo *et al.*, 2008).

Os principais fenólicos presentes na uva são os flavonoides (antocianinas, flavanóis e flavonóis), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos) e uma larga variedade de taninos (Francis, 2000).

O objetivo do presente trabalho foi comparar os extratos hidroetanólicos de bagaço de vinho branco de uvas tintas obtidos em escala piloto, de bancada e piloto concentrado por osmose inversa quanto à capacidade antioxidante, por meio dos ensaios *in vitro* de atividade antioxidante ORAC, redução do radical ABTS, fenólicos totais e antocianinas totais e monoméricas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Matéria prima

Bagaço de uva proveniente da fabricação de vinho branco de indústria vinícola da região da Serra Gaúcha (Bento Gonçalves/RS).

2.2. Obtenção dos extratos

O bagaço foi reidratado por uma hora com água destilada na proporção de 2:1 (bagaço:água) à 30°C previamente às extrações, piloto e de bancada, que foram realizadas empregando uma solução aquosa de etanol 70% (v/v) com o pH ajustado para 4,0 com ácido cítrico e razão solvente:substrato de 9:1 por duas horas à 50°C. O extrato piloto (EP) foi

obtido em tacho encamisado com agitação mecânica de 48 rpm na Planta Piloto de Processamento de Frutas da Embrapa Agroindústria de Alimentos, seguido de uma centrifugação em centrífuga de cestos a 37,5g com malha de nylon como meio filtrante de 150 μ m, para a separação das frações líquida e sólida. O extrato de bancada (EB) foi obtido em *shaker* com rotação de 60 rpm, no Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos e filtrado em funil de buchner sem papel de filtro para a separação das frações. O EP foi concentrado através do processo de osmose inversa em sistema piloto com membranas de conformação tipo quadro e placa com membrana composta de polissulfona e poliamida (HR98PP da DSS – *Danish Separation System*) com área filtrante total de 0,288m². O processo foi conduzido em batelada simples de 6litros à 60bar de pressão aplicada à membrana e temperatura média de 32°C até um fator de concentração volumétrica de 4,62 sendo então o retido (ROI) coletado para análise.

2.3. Ensaios químicos

Redução do radical ABTS em TEAC: este ensaio foi realizado com base no método descrito por Re *et al.* (1999). O preparo da solução estoque do radical ABTS⁺ (ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcromo 2-carboxílico) foi feito no dia anterior a análise. A solução de trabalho de ABTS⁺ foi preparada diluindo a solução estoque em etanol para uma absorbância de 0.70 \pm 0.02, a 734 nm.. Em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 20 μ L do extrato diluído em etanol, do padrão e do branco (etanol). A placa foi colocada no leitor de placa a 37°C, onde foi adicionada 180 μ L da solução de ABTS⁺, a absorbância foi lida após 6 minutos a 734 nm e os resultados foram expressos em μ mol Trolox/g do extrato.

ORAC: o ensaio ORAC foi realizado de acordo com o método descrito em Zuleta *et al.* (2009). As soluções de fluoresceína, o padrão Trolox e a solução de AAPH (Dicloridrato de 2,2 Azobis(2-metilpropionamida) foram preparadas no dia da análise. Em uma microplaca de 96 poços foram adicionados 100 μ L do padrão, da amostra diluída 100 vezes e do branco (tampão Fosfato 75 mM pH 7,4). Logo depois foi adicionado 100 μ L da solução de fluoresceína, a placa então foi posta no leitor de microplaca, que injetou 50 μ L da solução de AAPH a 37°C e a leitura da fluorescência foi realizada até que o valor de 5% da fluorescência inicial. Para os cálculos foi utilizado a área sobre a curva (AUC) das amostras, os resultado foram expressos em μ mol Trolox/g do extrato.

Fenólicos totais: o método Folin-Ciocalteu (Georgé *et al.*, 2005). Aproximadamente 3mL do extrato do bagaço foi diluído em acetona 70%, em um balão de 25mL, que ficou em agitação magnética por 30 minutos. Logo após esse período o extrato foi filtrado e uma alíquota de 500 μ L do filtrado foi diluída em água destilada em um balão de 5mL. Para a reação, uma alíquota de 500 μ L do diluído foi usada. Em tubos de ensaio, foi adicionado 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 2 minutos depois foi adicionado 2mL de Carbonato de Sódio 7,5%, os tubos foram incubados a 50°C por 15 minutos. Logo após foram colocados em banho de gelo, sendo feito a leitura em um espectrofotômetro a 760nm logo em seguida. O cálculo de teor de fenólicos totais foi realizado empregando-se uma curva de calibração tendo o ácido gálico como padrão e o resultado expresso em mg equivalente de Ácido Gálico (EAG).100g⁻¹ de extrato.

Antocianinas totais e monoméricas: método do pH diferencial (Giusti & Wrolstad, 2011). Foram feitas duas extrações de antocianinas, uma com Solução tampão pH 1,0 e outra com Solução tampão pH 4,5. Em balão de 25mL, os extratos foram diluídos com as soluções tampões respectivas e ficou em repouso por 25 minutos, então os extratos foram filtrados e lidos em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 510 e 700 nm. Os resultados foram expressos em cianidina-3- glicosídeo mg.100g⁻¹ do extrato

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a capacidade antioxidante, analisada pelos ensaios ORAC e redução do radical ABTS, dos Extratos da Planta Piloto, de Bancada e Retido na Osmose Inversa.

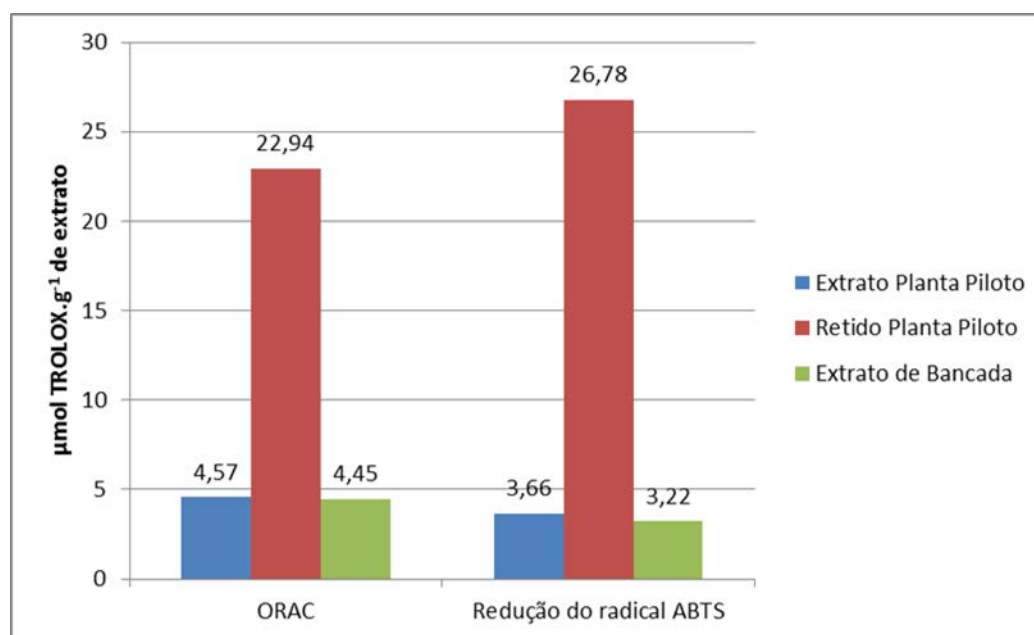


Figura 1 – Capacidade antioxidante total dos extratos Extrato da Planta Piloto, Retido na Osmose Inversa e Extrato de Bancada.

A atividade antioxidante do extrato concentrado determinada pelos métodos ORAC e redução do radical ABTS, como já era esperado, foi mais alta, aproximadamente oito vezes maior quando comparada a atividade antioxidante dos demais extratos. Os resultados corroboram para o emprego de mais de uma metodologia para a determinação da capacidade antioxidante, devido aos diversos mecanismos de ação dos compostos bioativos. Testes de aplicação prática também vêm sendo muito apreciados para avaliar os extratos, os quais por apresentarem distintas classes de compostos bioativos podem apresentar sinergismos.

A capacidade antioxidante do extrato concentrado por osmose inversa apresentou resultados próximos aos encontrados por Seeram *et al.* (2008) para o vinho tinto, 24,0 µmol Trolox/g por ORAC e 17,1 µmol Trolox/g por redução do radical ABTS. Tal fato pode ser decorrente do processo de vinificação tinto, na qual o bagaço permanece no mosto durante a fermentação alcoólica, que pode levar 7 dias, desta forma, o etanol produzido na fermentação

favorece a extração dos compostos bioativos. Por outro lado, o bagaço empregado neste trabalho é proveniente de uva tinta vinificada em branco, ou seja, logo após a prensagem das uvas o bagaço foi separado preservando o elevado teor destes compostos bioativos.. Outro estudo realizado para comparar a capacidade antioxidante de vários extratos utilizando diferentes testes, também mostrou valores de ORAC um pouco maiores do que os de redução do radical ABTS, com suco de uva e vinho (Tabart *et al.*, 2009).

A Figura 2 representa resultados das análises de fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas. Os extratos contêm altos teores de compostos bioativos, e como esperado, o observou-se a concentração destas substâncias pelo processo de osmose inversa. A concentração dos compostos ficou entre 5,3 e 5,7, valores um pouco acima do fator de concentração volumétrica de 4,6, o qual pode ser decorrente da evaporação do etanol presente na solução (70%) e dispersão.

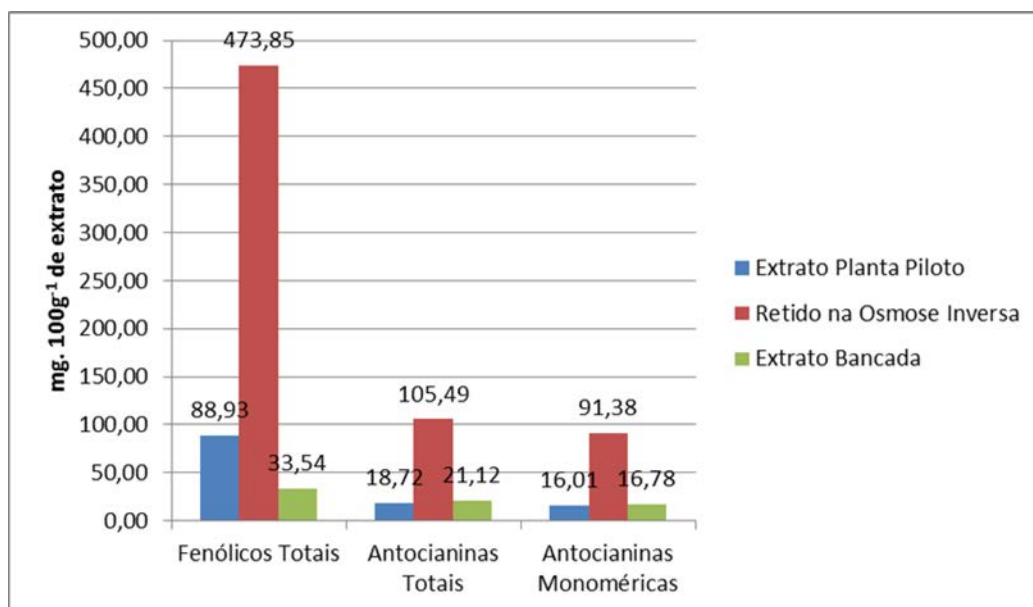


Figura 2 – Teor de fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas dos extratos Extrato da Planta Piloto, Retido na Osmose Inversa e Extrato de Bancada.

O trabalho de Li Fu *et al.* (2011) teve como objetivo avaliar e quantificar os componentes fenólicos de diferentes tipos de frutas, dentre elas a uva. Os resultados entre os trabalhos foram parecidos, levando em consideração que os extratos utilizados no trabalho citado foram da fruta e os extratos deste trabalho foram de bagaço de uva.

Os resultados corroboram com os de Malacrida e Motta (2005) que analisaram fenólicos totais e antocianinas monoméricas em sucos de uva. Seeram *et al.* (2008) estudaram compostos fenólicos presentes em diversas bebidas, com o objetivo de comparar o potencial antioxidante das mesmas. O vinho tinto obteve um dos maiores teores de compostos fenólicos $3,4 \text{ mg.mL}^{-1}$, muito inferior ao encontrado neste trabalho para os extratos.

Negro *et al.* (2003) realizou um estudo que tinha como objetivo analisar os diferentes tipos de compostos fenólicos e a capacidade de extratos do bagaço, da semente e da casca de resíduos de indústrias vinícolas. Porém a extração foi diferente do utilizado neste trabalho, com etanol 80% acidificado por 0,5% de HCl 0,1N, o que pode ter influenciado nos teores de compostos fenólicos. Pois obtive o resultado de 4,19 g.100g⁻¹ de matéria seca, enquanto que o extrato utilizado no presente trabalho apresentou em base seca 10,97 g.100g⁻¹.

4. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos pode-se concluir que mesmo depois do processamento para a produção de vinho e derivados, o bagaço constituído principalmente pela casca e semente contem um alto teor de compostos bioativos. Desta forma com a extração adequada para a obtenção destes compostos, um destino melhor pode ser dado ao resíduo.

Dentre os extratos analisados, o retido na osmose inversa teve melhor capacidade antioxidante e maior conteúdo de compostos antioxidantes, como já era esperado, pois se trata de um extrato concentrado. Concluindo que esse processamento foi eficiente para a concentração do extrato de bagaço da uva, conservando seus compostos bioativos e sua atividade antioxidante, podendo ser aplicado após a extração.

5. REFERÊNCIAS

- CAMPOS, L.M.A.S. Obtenção de extratos de bagaço de uva cabernet sauvignon (*Vitis vinífera*): parâmetros de processo e modelagem matemática. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina. 141p. 2005.
- CATANEO, C.B.; CALLIARI, V.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. *Semina: Ciên. Agrárias*, v. 29(1), p. 93-102. JAN-MAR 2008.
- FRANCIS, F.J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, v. 45, p.834-838, 2000.
- GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M.J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.*, v. 53, p. 1370-1373, 2005.
- GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In WROLSTAD, R.E. (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: Wiley, 2001.
- LAFKA, T. I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidante activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chem.*, v. 104, p. 1206-1214, 2007.
- LI FU; BO-TAO XU; XIANG-RONG XU; REN-YOU GAN; YUAN ZHANG; EM-QIN XIA;HUA-BIN LI. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem.*, v. 129, p. 345-350, 2011.
- MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 25(4), p. 659-664, OUT-DEZ 2005.

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

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-GIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS⁺. Comunicado Técnico (Embrapa Agroindústria Tropical), 2007.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. *Trends in food Sci. & Tech.*, v.12, p. 401-413, 2001.

SEERAM, N.P.; AVIRAM, M.; ZHANG, Y.; HENNING, S.M.; FENG, L.; DREHER, M.; HEBER, D. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *J. Agric. Foo. Chem.*, v. 56, p. 1415-1422, 2008.

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

TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J. O.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem.*, v. 113, p. 1226-1233, 2009.

UVIBRA – União Brasileira de Vitivinicultura, acesso em 27/12/2011 (http://www.uvibra.com.br/dados_estatisticos.htm).

ZULETA, A.; ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem.*, v.114, p. 310-316, 2009.