



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PERFIL FENÓLICO E CONTAMINANTES EM
CASCAS DE UVAS: RESÍDUOS DA PRODUÇÃO VINÍCOLA DO VALE DO
SÃO FRANCISCO**

CAMILA GRAÇA PINHEIRO

Salvador- BA
2015

CAMILA GRAÇA PINHEIRO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PERFIL FENÓLICO E CONTAMINANTES EM
CASCAS DE UVAS: RESÍDUOS DA PRODUÇÃO VINÍCOLA DO VALE DO
SÃO FRANCISCO**

Orientador: Prof^a.Dr^a. Maria P. Spínola
Miranda

Co-Orientador: Prof. Dr. José Antônio de
Menezes Filho

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência de
Alimentos da Universidade Federal da
Bahia em cumprimento aos requisitos para
obtenção do título de mestre em Ciências
de Alimentos.

Salvador – BA

2015

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Pinheiro, Camila Graça.

Atividade antioxidante, perfil fenólico e contaminantes em cascas de uvas : resíduos da produção vinícola do Vale do São Francisco / Camila Graça Pinheiro. - 2015.
52 f.: il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria P. Spínola Miranda.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2015.

1. Resíduos agrícolas. 2. Compostos bioativos. 3. Antioxidantes. 4. Metais pesados.
I. Miranda, Maria P. Spínola. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia.
III. Título.

CDD - 628.746
CDU - 62-665.9



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

CAMILA GRAÇA PINHEIRO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PERFIL FENÓLICO E CONTAMINANTES
EM CASCAS DE UVAS: RESÍDUOS DA PRODUÇÃO VINÍCOLA DO
VALE DO SÃO FRANCISCO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 16 de março de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Maria da Pureza Spínola Miranda
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Dr. Ederlan de Souza Ferreira
Universidade Federal da Bahia

Dr^a. Mariângela Vieira Lopes
Universidade do Estado da Bahia

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada”.

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família que sempre me apoiou e incentivou e esteve ao meu lado em literalmente todos os momentos importantes da vida. A eles, meu pai Marcus, minha mãe Neide, minha avó Brígida, minha tia Idalina e meu irmão Bruno, meus sinceros agradecimentos e amor incondicional.

Agradeço, sinceramente a Maurício, por compartilhar comigo meus momentos de euforia, choro, desânimo e alegria e por oferecer apoio, coragem e companhia para que eu tivesse mais força de continuar mesmo quando tudo parecia estar incerto e nebuloso. A ele todo meu carinho e amor.

Aos meus amigos queridos que direta ou indiretamente me ajudaram e trilhar este caminho com mais paz e alegria principalmente: Israel, Tarcísio, Tiago, Helena, Iana, Leonardo, Cecília, Bete e Jamile.

Aos meus queridos colegas e amigos do LAPAAC: Mariana Barros, Luciane, Jaff, Túlio e Fred, meus sinceros agradecimentos pela ótima companhia e aprendizagem.

À Universidade Federal da Bahia, à CAPES e ao Programa de Pós-Graduação e em Ciências dos Alimentos pelo apoio à realização deste trabalho.

Agradeço imensamente à professora Maria Spínola Miranda, pela orientação, incentivo, apoio e paciência ao longo da minha trajetória no mestrado.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, citados e não citados, mas de igual importância.

Obrigada!

LISTA DE SIGLAS

DPPH – 2,2 difenil-picril-hidrazil

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ERO – Espécie Reativa de Oxigênio

FAO – Fodd and Agriculture Organization

FRAP – Poder Antioxidante Redutor Do Íon Férrico

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAC - Proantocianidina

UVIBRA - União Brasileira de Vitivinicultura

UE – União Européia

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1 .Área mundial de Produção de uvas (1990 - 2010) em hectares por biênios.	15
Figura 2. Produção mundial de uvas (1990 - 2010) em toneladas por biênio.	16
Figura 3. Área de produção por estados (2008-2012).	17
Figura 4. Evolução da Área de produção brasileira (2008-2012).	17
Figura 5. Figura 5. Produção por estado (2008-2012).	17
Figura 6. Evolução da produção Brasileira (2008-2012).	17
Figua 7. Estrutura básica dos ácidos benzoicos.	22
Figura 8. Estrutura básica dos ácidos cinâmicos.	22
Figura 9. Estrutura do trans- Resveratrol	24

Capítulo II

Figura 1.cromatograma dos compostos fenólicos de extrato de cascas de uvas tintas.	43
Figura 2. cromatograma dos compostos fenólicos de extrato de cascas de uvas brancas.	44

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1. Compostos fenólicos de cascas de uvas tintas e brancas por HPLC UV-Vis.	41
Tabela2. Conteúdo de compostos fenólicos totais de cascas de uvas tintas e brancas por método de Folin-Ciocalteau.	42
Tabela 3. Atividade Antioxidante por captura de radical DPPH.	43
Tabela 4. Atividade antioxidante por FRAP.	43
Tabela 5. Comparação entre valores encontrados de FRAP para este estudo e os encontrados por outros autores.	44
Table 6. Atividade Antioxidante por Sistema β -caroteno/Ácido Linoléico.	45
Table 7. Concentração de elementos traço em amostras de cascas de uvas vermelhas e brancas.	45

SUMÁRIO

Introdução	11
Objetivos Geral e Específicos	13
CAPÍTULO I: Referencial Teórico	14
1. Produção Mundial de Uvas	15
2. Produção Brasileira de Uvas	17
2.1. Produção vinícola da Região do Vale do Submédio São Francisco.....	17
2.2. Resíduos Agroindustriais da Produção Vinícola.....	18
3. Cascas de Uvas tintas e Brancas	20
3.1. Potencial Antioxidante de seus extratos e compostos bioativos.....	20
3.2. Teor de metais pesados em cascas de uvas: Pb, Cd, Cu e Mn.....	27
Referencias	30
CAPÍTULO II	35
1. Introdução	36
2. Material e Métodos	38
2.1 Material.....	38
2.2 Métodos.....	38
2.2.1 Preparo das amostras.....	38
2.2.2 Conteúdo de fenólicos totais por método de Folin-Ciocalteau.....	39
2.2.3 Compostos Fenólicos por CLAE-UV-Vis.....	39
3. Atividade Antioxidante	40
3.1 Captura de Radical Livre DPPH.....	40
3.2 Atividade Antioxidante pelo método de FRAP.....	40
3.3 Atividade antioxidante pelo método β -caroteno/linoleico.....	41
4. Determinação dos Metais	41
4.1 Determinação de elementos traço.....	41
4.1.1 Tratamento da amostra.....	42
4.1.2 Quantificação dos metais por espectrometria de absorção atômica.....	42
5. Análise estatística	43
6. Resultados e Discussão	49
7. Conclusões	49
8. Agradecimentos	50
9. Referências	

RESUMO

A cultivo da uva (viticultura) apresenta-se como uma das principais atividades agrícolas no mundo ocupando áreas significativas e produzindo milhares de toneladas de uvas por ano tanto para consumo in natura quanto para processamento, principalmente para produção de vinhos. A produção brasileira de uvas se apresenta como a 20ª maior no mundo e tem como segunda principal região produtora o Vale do Submédio São Francisco, situado na região nordeste do país com clima tropical que favorece a colheita por todo o ano de uvas de alta qualidade. O Brasil, juntamente com os outros polos de produção mundial, gera milhões de quilos de resíduos ainda sub-utilizados, porém de alto valor nutricional. Tais resíduos contêm altas concentrações de compostos bioativos, principalmente compostos fenólicos, responsáveis por uma série de atividades biológicas, principalmente a antioxidante que é responsável pela captura de radicais livres causadores do envelhecimento precoce e de doenças neurodegenerativas. Em paralelo, deve-se considerar o fato de estes resíduos poderem ter sido expostos a contaminação em especial por conta do uso de defensivos agrícolas, que podem contribuir para o aumento dos níveis de metais pesados como o manganês (Mn) e o cobre (Cu), além de outros fatores externo poderem contribuir para contaminação por metais como cádmio (Cd) e chumbo (Pb). Este estudo visou, portanto, a avaliação da atividade antioxidante, perfil fenólico e contaminantes metálicos em cascas de uvas tintas e brancas advindas da produção vinícola do Vale do São Francisco (Juazeiro-Ba), utilizando-se das técnicas de determinação de fenólicos totais por Folin-Ciocalteu obtendo em mg.L^{-1} de equivalentes de ácido gálico $164,12 \pm 18,77$ e $120,78 \pm 15,95$ para cascas de uvas tintas e brancas respectivamente, e identificação de compostos fenólicos por CLAE-UV-Vis utilizando padrões de t-resveratrol, ácido p-cumárico e ácido clorogênico. A determinação de atividade antioxidante foi realizadas pela utilização dos métodos de captura de radical DPPH, de redução do íon férrico FRAP e de proteção à oxidação lipídica no sistema b-caroteno/ácido linoleico obtendos os resultados pra cascas de uvas tintas e brancas respectivamente de: $0.034 \pm 0,0007$ e $0.036 \pm 0,0007$ g fruta/g DPPH (DPPH), $360,13 \pm 4,88$ e $327,87 \pm 18,32$ de equivalentes a $1.000 \mu\text{M}$ de FeSO_4 (FRAP) e $15,60 \pm 3,44$ e $10,74 \pm 7,23$ em percentual de proteção a oxidação lipíca (b-caroteno/ácido linoléico). Os resultados obtidos demonstraram boa atividade antioxidante nos mecanismos de captura do radical DPPH e de poder redutor do íon férrico com os seguintes valores: As concentrações de manganês e cobre estavam acima da preconizada pela legislação vigente da FAO/OMS com valores para o manganês de 1.69 ± 0.004 e $1.76 \pm 0.071 \mu\text{g.g}^{-1}$ para cascas de uvas tintas e brancas respectivamente e para o cobre de 9.19 ± 0.72 e $13.47 \pm 0.18 \mu\text{g.g}^{-1}$ para cascas tintas e brancas respectivamente, enquanto que os níveis de chumbo e cádmio se apresentaram abaixo dos limites de detecção do método ($\text{LOD} = 0,02 \mu\text{g.g}^{-1}$) de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os resultados corroboram para a utilização desses resíduos que se apresentaram ricos em substâncias funcionais de diversas maneiras como: incorporação em cosméticos, produção de nutracêuticos e uso como aditivo alimentar.

Palavras chave: resíduos vinícolas, compostos bioativos, atividade antioxidante, metais pesados.

ABSTRACT

The grape cultivate (viticulture) is presented as one of the main agricultural activities in the world occupying significant areas and producing thousands of tons of grapes per year for both fresh consumption and for processing, mainly for wine production. The Brazilian production of grapes is presented as the 20th largest in the world and its second major producing region is the São Francisco River Valley, located in the northeast of the country with tropical climate that favors the harvest throughout the year of high quality grapes. Brazil, together with other global production centers, generates millions of pounds of waste still under used, but of high nutritional value. Such residues contain high concentrations of bioactive compounds, particularly phenolic compounds responsible for a number of biological activities, especially antioxidant that is responsible for capturing free radicals that cause premature aging and neurodegenerative diseases. In parallel, that waste may have been exposed to contamination particularly, the use of pesticides, which may contribute to increased levels of heavy metals such as manganese (Mn) and copper (Cu), and other external factors may contribute to contamination by metals such as cadmium (Cd) and lead (Pb). This study therefore aimed to evaluate the antioxidant activity, phenolic profile and metal contaminants in red grapes and white grape skins from the São Francisco Valley (Juazeiro, Bahia), using the total phenolic content by Folin-Ciocalteu method, the HPLC-UV-Vis analysis, the scavenging of free radical DPPH, the FRAP assay and the oxidation of β -carotene/linoleic acid to determine the antioxidant activity and the FAAS and GFAAS to measure the contamination by toxic metals. The skins presented a good antioxidant capacity in DPPH and FRAP assay. The levels of Mn and Cu were higher than the recommended values from FAO/WHO, but the levels of Pb and Cd were not detectable in GFAAS. These results corroborate to the use of these residues that have considerable biological activities and contribute in order to favor their future use in various ways such as incorporation into cosmetics, nutraceuticals production and use as a food additive.

Key Words: Winery Waste, Bioactive compounds , Antioxidant Activity, Heavy metals.

Introdução

Vitis vinifera L. é a espécie vegetal pertencente à família botânica Vitaceae e popularmente conhecida como “uva”. Desde a antiguidade, o cultivo desta espécie representa um dos maiores do mundo, sendo o vinho, seu principal produto, artigo freqüente da dieta humana (APOSTOLLOU et al., 2013).

A vitivinicultura se apresenta como atividade economicamente relevante do mundo globalizado sendo responsável por geração de riquezas e agregando as pessoas de diversas formas. Nas últimas décadas, sua valorização por países não tradicionais na atividade se tornou evidente, porém a área de produção no ano de 2007 foi reduzida de 8.78% em comparação ao ano de 1990, apesar de a produção ter apresentado alta de 25,10%, totalizando 67,22 milhões de toneladas. Apresenta-se estável desde 2004 sendo o continente europeu o maior produtor seguido por Ásia, América, África e Oceania respectivamente, dentre os quais os principais países produtores são Espanha, França, Itália, China e Turquia, estando o Brasil como 20º maior produtor do mundo (MELLO, 2013).

A viticultura brasileira caracteriza-se por abranger uma área de aproximadamente 81 mil hectares com vinhedos distribuídos do extremo sul do país a regiões próximas à linha do equador estando distribuída em duas áreas principais: Rio Grande do Sul (produtor de 777 milhões de quilos por ano e maior produtor de vinhos, sucos de uva e derivados do país) e a região entre Petrolina-PE e Juazeiro-BA (Submédio do Vale do Rio São Francisco) que é responsável por 95% das exportações de uvas finas de mesa (MAPA, 2014). São mais de 120 cultivares de espécies de *Vitis labrusca*, *Vitis vinifera* e *Vitis bourquina* e híbridas empregadas nos vinhedos que se difundem por áreas de grande diversidade ambiental por conta das diferenças de altitude e latitude entre as zonas de clima temperado, subtropical e tropical (CAMARGO et al, 2011).

Haja vista este panorama da indústria vitivinícola mundial e brasileira, é possível inferir que grandes quantidades de resíduos são geradas por conta de

suas atividades. A indústria vinícola gera grandes quantidades de resíduos incluindo sementes, cascas, bagas, frutos, polpa, água de descarte entre outros, possuindo um descarte anual que varia de 5 a 9 milhões de toneladas, por todo o mundo (BUSTAMANTE et al., 2008; ST'AVÍKOVÁ et al., 2011). Quanto à produção brasileira de vinho, ressalta-se que são produzidos anualmente cerca de 59,4 milhões de quilos de resíduos tratados como de pouca utilidade sendo somente utilizado para alimentação de animais.

Os resíduos da produção vinícola, representados principalmente pelas cascas dos frutos, se apresentam ricos em compostos bioativos, principalmente compostos fenólicos, e assim como os frutos e seus produtos, possuem atividades biológicas de muita relevância principalmente as que se referem ao potencial antioxidante e suas benesses para o tratamento de doenças neoplásicas e oriundas do estresse oxidativo como as cardiovasculares (ROCKENBACH et al., 2014; ST'AVÍKOVÁ et al., 2011).

Estes resíduos apresentam risco de contaminação por metais tóxicos como Cd e Pb ou por elementos traço (como Cu e Mn) que comprometem a qualidade do fruto e de seus produtos por reagirem com os compostos do metabolismo secundário, principalmente os compostos fenólicos (POHL, 2007). Estes metais também possuem efeito tóxico pronunciado, podendo levar a dano na saúde do consumidor como distúrbios gastrintestinais e toxicidades hepática, renal e neural, quando em concentrações acima das recomendadas pelas legislações vigentes (HARRISON, 2001).

Portanto, o estudo dos resíduos da produção vinícola, em especial, neste estudo, a produção vinícola do vale de rio São Francisco, se justifica pela importância de se caracterizar essas resíduos tanto nos aspectos nutricionais e funcionais quanto nos aspectos toxicológicos afim de que se possa delinear, futuramente, alternativas para sua utilização segura.

Objetivo Geral

Avaliar o perfil de compostos fenólicos e contaminantes em cascas de uvas vermelhas e brancas (*Vitis vinifera* L.) provenientes da produção vinícola da Região de Vale do rio São Francisco - Ba.

Objetivos Específicos

Determinar teor de compostos fenólicos totais em extratos etanólicos de cascas uvas vermelhas e brancas.

Determinar a atividade antioxidante de extratos etanólicos de cascas uvas vermelhas e brancas.

Identificar e quantificar compostos fenólicos dos extratos de cascas de uvas vermelhas e brancas.

Determinar o teor de contaminantes metálicos Pb, Cd, Cu e Mn em cascas de uvas vermelhas e brancas.

Capítulo I

Referencial Teórico

Referencial teórico

1. Produção Mundial de uvas

A superfície global de vinha era de 7.585 mil hectares (mha) até o ano de 2011, o que representava uma diminuição da área em 79 mha entre 2010 e 2011. Desde os anos 2000 até essa presente época, 262 mha já foram reduzidos da área de cultivo. Porém, a produção global de uvas se apresentou em 692 milhões de quintais, evidenciando um aumento, apesar da diminuição da área vitícola, possivelmente, por conta de aumento de rendimento por melhoria contínua de técnicas vitícolas atrelada a condições climáticas mais favoráveis (Instituto da Vinha e do Vinho, 2012).

De acordo com Mello (2013), a vitivinicultura, ou seja a produção de uvas destinadas à vinificação, se apresenta como atividade economicamente importante do mundo globalizado gerando riquezas e agregando as pessoas de diversas formas. Nas últimas décadas, sua valorização por países não tradicionais na atividade se tornou evidente, porém a área de produção no ano de 2007 foi reduzida de 8.78% em comparação ao ano de 1990, apesar de a produção ter apresentado alta de 25,10%, totalizando 67,22 milhões de toneladas, estando estável desde 2004, como evidenciado nas figuras 1 e 2 abaixo:

Figura1. Área mundial de Produção de uvas (1990 - 2010) em hectares por biênios (fonte: Mello, 2013).

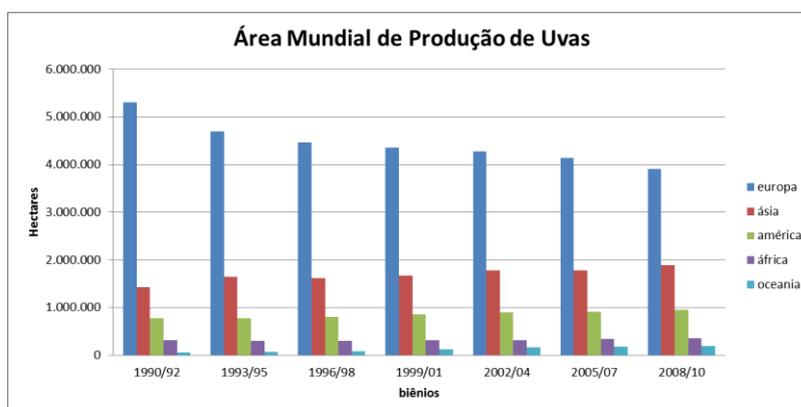
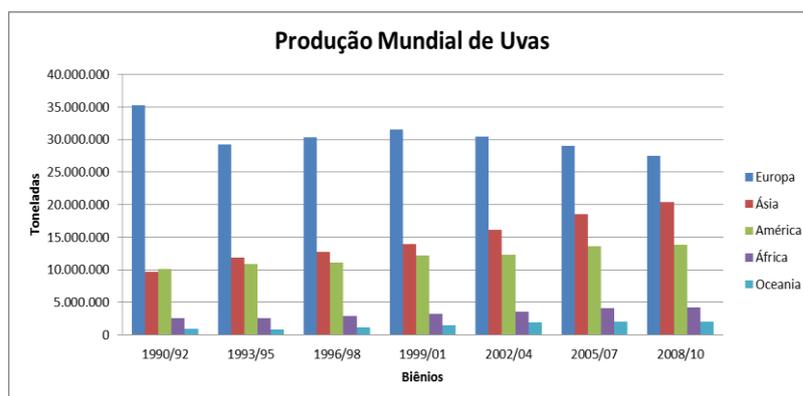


Figura 2. Produção mundial de uvas (1990 - 2010) em toneladas por biênio (fonte: Mello, 2013).



Assim também confirma a análise da Embrapa Uva e Vinho (Mello, 2013), analisando além desses pontos que o continente europeu se constitui no maior produtor mundial de uva e vinho apesar de sua produção ter diminuído em 23,35%, evidenciando o aumento da produção vitivinícola de outros continentes: Ásia (115,9%), América (35,9%), Oceania (92,4%) e África (60,4%), dentre os quais os principais países produtores são Espanha, França, Itália, China e Turquia, estando o Brasil como 20º maior produtor do mundo.

2. Produção Brasileira de uvas

A viticultura – produção de uvas - brasileira caracteriza-se por abranger uma área de aproximadamente 81 mil hectares com vinhedos distribuídos do extremo sul do país a regiões próximas à linha do equador estando distribuída em duas áreas principais: Rio Grande do Sul (produtor de 777 milhões de quilos por ano e maior produtor de vinhos, sucos de uva e derivados do país) e a região entre Petrolina-PE e Juazeiro-BA (Vale do Submédio do Rio São Francisco) que é responsável por 95% das exportações de uvas finas de mesa (MAPA, 2014).

Segundo Camargo et al. (2011), são mais de 120 cultivares de espécies de *Vitis labrusca*, *Vitis vinifera* e *Vitis bourquina* e híbridas empregadas nos vinhedos que se difundem por áreas de grande diversidade ambiental por conta das diferenças de altitude e latitude entre as zonas de clima temperado, subtropical e tropical. Camargo et al (2011) ressaltam também que até o final da década de 1950, a viticultura brasileira era restrita aos três (3) estados do

sul e regiões leste de São Paulo e sul de Minas Gerais, havendo, a partir deste período, ampliação da fronteira vitícola com plantio de uvas no Vale do Submédio São Francisco, norte do Paraná, noroeste de São Paulo e norte de Minas Gerais.

Um panorama da produção do ano de 2012 (MELLO, 2013) revelou que a viticultura se constitui numa atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade do Brasil, sendo relevante no que se refere a geração de empregos em grandes empreendimentos que produzem uvas de mesa e uvas para processamento. Além disso, a região da Serra Gaúcha é apontada como responsável por 90% da produção Brasileira de uvas para processamento, tendo a viticultura fortemente atrelada ao turismo. Nas figuras de 3 a 6, é possível se notar o comportamento de produção vitícola dos principais estados brasileiros, bem como a evolução nacional da área e volumes de produção:

Figura 3. Área de produção por estados (2008-2012). fonte: Mello (2013)

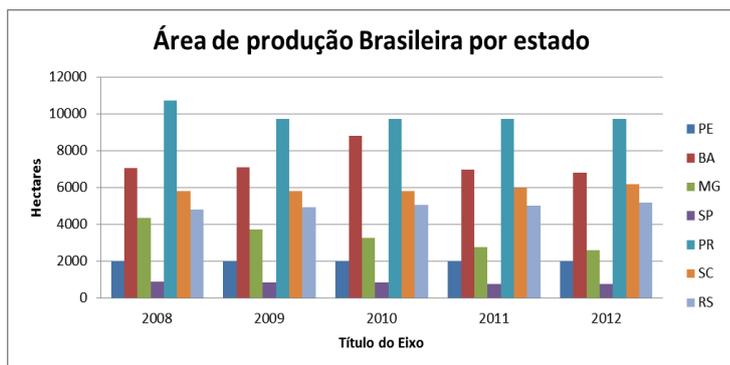


Figura 4. Evolução da Área de produção brasileira (2008-2012). Fonte: Mello (2013)



Figura 5. Produção por estado (2008-2012). Fonte: Mello (2013)

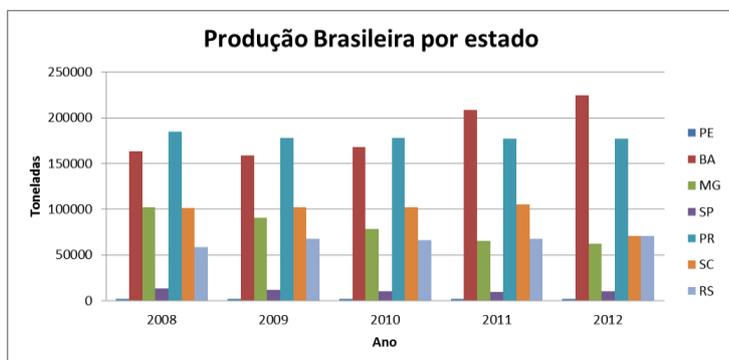


Figura 6. Evolução da produção Brasileira (2008-2012). Fonte: Mello (2013)



2.1. Produção vinícola da Região do Vale do Submédio São Francisco

Segundo relatório da CYTED (Programa Ibero-Americano da Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento), com contribuição da EMBRAPA- Uva e Vinho, (2012), na região do Vale do Submédio São Francisco que possui o clima semi-árido quente, a viticultura está localizada entre 07° e 09° de latitude S e 38° e 41° de longitude W.

O clima vitícola da região possui variabilidade intraanual possibilitando o cultivo durante os doze meses do ano sendo as principais variedades cultivadas na região são: Syrah, Tempranillo, Touriga Nacional, Cabernet Saivignon, Alicante Bouschet, Ruby Cabernet, Petit Verdot e Tannat para vinhos tintos e Chenin Blanc, Moscato Branco, Verdejo, Sauvignon Blan e Viognier para vinhos brancos.

O sistema de produção de uvas para vinho é composto por dois ciclos vegetativos com duas colheitas, sendo que uvas de melhor qualidade são colhidas nos períodos secos por conta da menor oferta hídrica, o que aumenta a concentração de açúcares e compostos bioativos.

A região está em constante desenvolvimento, sendo uma das mais importantes produtoras de vinhos tropicais no mundo. Constantemente é testada a adaptação de novas variedades bem como são implementadas novas técnicas de cultivo com vinhos de características sensoriais próprias em função da época de produção das uvas ao longo do ano.

2.2. Geração de resíduos agroindustriais da produção vinícola

O cultivo da *Vitis vinifera* L. se constitui num dos maiores do mundo além de o vinho estar presente na dieta humana desde a antiguidade (APOSTOLOU et al, 2013). A indústria vinícola gera grandes quantidades de resíduos incluindo sementes, cascas, bagas, frutos, polpa, água de descarte entre outros, possuindo um descarte anual que varia de 5 a 9 milhões de toneladas, por todo o mundo (DJILAS et al, 2009). Quanto à produção brasileira de vinho, ressalta-se que são produzidos anualmente cerca de 59,4

milhões de quilos de resíduos tratados como de pouca utilidade sendo somente utilizado para alimentação de animais.

Os resíduos da produção vinícola são caracterizados por baixo pH, baixa condutividade elétrica e altas concentrações de fósforo e potássio, bem como geralmente apresentam baixas concentrações de micronutrientes e metais pesados e altas concentrações de compostos polifenólicos o que leva a uma atividade fitotóxica e antimicrobiana (BUSTAMANTE et al, 2008), tendo um grande poder de agregação de valor à produção.

Por conta de fatos como esse, Christ e Burritt (2013) atentam para a necessidade de se gerenciar os resíduos da indústria vinícola, visando aumentar sua sustentabilidade através do aproveitamento destes resíduos para utilização como aditivos alimentares, produtos nutracêuticos e até adsorventes naturais de contaminantes em água de descarte (FARINELLA et al, 2008).

Segundo Kummu et al (2012), resíduos são perdas inerentes à cadeia de suprimento de alimentos quando no processo de distribuição e consumos de seus bens. Segundo Madurwar et al (2013), a acumulação de resíduos agroindustriais, especialmente por países desenvolvidos, representa uma preocupação ambiental crescente. Portanto, a geração de resíduos em escala mundial demonstra índices que variam regionalmente de 16% no sul e sudeste da Ásia, a 54% nos Estados Unidos, Oceania e Europa, culminando numa perda média de alimentos de 25%. Da mesma forma, aproximadamente 25% dos recursos hídricos, terras de cultivo e fertilizantes são utilizados para gerar estes resíduos. Porém, apesar de a abordagem sobre gerenciamento de resíduos, bem como a poluição causada por eles, não ser recente, existe uma necessidade de se obter formas razoáveis e sustentáveis para seu aproveitamento (NGOC e SCHNITZER, 2009).

Inúmeros segmentos do mercado são mobilizados pela preocupação crescente com o meio ambiente. O resíduo industrial, depois de gerado, necessita de local adequado para descarte, pois além de causar impacto ambiental, representa perda de matéria e energia, o que exige investimentos significativos para tratamento e controle da poluição.

A indústria de alimentos produz resíduos de alto valor de utilização (PELIZER et al, 2007). Os resíduos gerados do cultivo de frutas tropicais, por exemplo, representam fonte potencial de compostos naturais. No entanto, não há maior exploração destas fontes neste contexto. Esses resíduos representam grande oportunidade para produtores locais de ganhar acesso a mercados especiais com consumidores que se interessam por alimentos com características exóticas e presença de nutrientes capazes de prevenir doenças degenerativas (AYALA-ZAVALA, 2014).

Em estudo, Babbar et al (2011) verificaram que seis importantes resíduos de frutas, dentre eles sementes de uvas e pericarpo de lichia que possuem altas concentrações de compostos fenólicos, apresentaram atividade antioxidante considerável. Os autores atentaram para o fato da necessidade de serem tratados como fontes potenciais de nutracêuticos, capazes de oferecer suplementos dietéticos nutritivos de baixo custo.

Materiais, produtos, co-produtos e substâncias químicas oriundas de resíduos agroindustriais têm encontrado espaço para seu desenvolvimento. A utilização de resíduos no desenvolvimento de novos produtos, por conversão em matéria-prima é imprescindível para aumentar a eficiência do agronegócio, além de reduzir o impacto ambiental (ROSA, 2011).

3. Cascas de uvas tintas e brancas

3.1. Potencial antioxidante de seus extratos e compostos bioativos

Segundo Apostolou et al (2013), atualmente, extratos de uva e o vinho têm sido o centro da atenção de diversos estudos sobre seus efeitos benéficos para a saúde humana, principalmente suas fortes atividades antioxidantes e prevenção de danos ao DNA causados por espécies reativas de oxigênio. Tais danos levariam ao desenvolvimento de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas.

Sobre atividades biológicas consideráveis, Benkhit et al (2011) verificaram ação antiviral contra o vírus Influenza significativa quando testaram extratos aquosos de cascas de uvas Pinot noir e Pinot gris, além de combinarem essa

matéria prima com diferentes concentrações de chá verde e chá de hibiscos. Porém, neste estudo, a atividade antioxidante dessas combinações e dos controles (Pinot noir e gris) não mostrou um bom potencial redutor de radicais e a atividade antiviral parece não relacionada com os polifenóis presentes nos extratos.

Corrales et al (2010) em seu estudo a respeito de atividade antifúngica e antibacteriana de extratos de cascas de uvas brancas riesling alemãs correlacionou o tipo de cultivo e o potencial fungicida e bactericida. Foi observado que os extratos alcoólicos provenientes de uvas de cultivo orgânico exibiam boa atividade fungicida em *T. viridie* e *A. versicolor* e inibiram o crescimento de bactérias Gram Positivas sem apresentar efeitos mutagênicos mas foram mais tóxicos a cepas de *Salmonella* do que os extratos de cascas de uvas brancas de cultivo convencional. Porém, os extratos de cascas de uvas de cultivo convencional exibiram atividade fungicida significativamente maior, o que pode ser justificado pelo teor de pesticidas inerente a esses extratos.

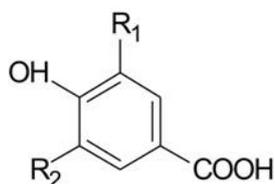
Já nos estudos de Breska III et al (2010), foi notado que a atividade antioxidante estava fortemente relacionada com o teor de compostos fenólicos ($r = 0,990$) avaliando 16 cultivares e seleções de cascas de uvas raisin.

Segundo Benzie e Strain (1996), um antioxidante biológico é definido como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas àquelas do substrato oxidável, atrasa/diminui significativamente a oxidação do substrato. No entanto, a menos que o antioxidante previna a geração de ROS, por exemplo, por quelação de metal ou remoção enzimática de um oxidante em potencial, uma reação de oxirredução ainda ocorre. A diferença é que, ao invés de reagir com o substrato, as espécies reativas de oxigênio reagem com os antioxidantes.

Dentre compostos de alta capacidade antioxidante podem ser citados os ácidos fenólicos, pertencente ao grupo dos compostos fenólicos que estão presentes em *Vitis vinífera* L. e podem ser divididos grupos distintos: ácidos

benzoicos, ácidos cinâmicos (SOARES, 2002) como representado nas figuras abaixo:

Figura 7. Estrutura básica dos ácidos benzoicos (Ângelo e Jorge, 2007)



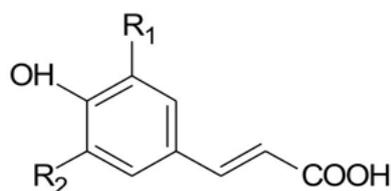
Ácido p-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido protocatecuico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido vanílico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Ácido siríngico: $R_1 = R_2 = OCH_3$

Figura 8. Estrutura básica dos ácidos cinâmicos (Ângelo e Jorge, 2007)



Ácido p-cumárico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido caféico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido ferúlico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Os antioxidantes fenólicos interagem preferencialmente com radicais peroxil por conta de sua abundância em reações de autooxidação e possuir menor energia do que outros radicais. São classificados em flavonoides, Ácidos fenólicos, taninos e tocoferóis. Os ácidos fenólicos são caracterizados por apresentarem um grupamento carboxílico ligado a um anel benzênico e um ou mais grupamentos hidroxila e/ou metoxila na molécula, o que confere propriedades antioxidantes. Os ácidos hidroxicinâmicos ferúlico e p-cumárico

são antioxidantes mais ativos do que os ácidos hidroxibenzóicos tais como clorogênico. Tal fato se deve à presença de uma ligação dupla que participa da estabilidade do radical por ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado (ÂNGELO e JORGE, 2007).

Jayaprakasha et al (2001) apresentaram em seu estudo que os extratos de cascas de uvas apresentaram compostos de alta atividade antioxidante, no sentido de proteção contra oxidação lipídica. Informaram ainda que diferentes atividades dos extratos podem ser atribuídas a diferentes composições fenólicas.

Os extratos de cascas e sementes de uvas contém proantocianidinas (PACs) oligoméricas e poliméricas bem como quantidades menores de outros compostos fenólicos naturais (BENTIVEGNA e WHITNEY, 2002), sendo as cascas de uva vermelha fonte de antocianidinas e antocianinas (ROCKENBACH et al, 2011).

As PACs, também conhecidas como taninos condensados, são baseadas, em sua maior parte, em monômeros de (+) catequina e (-) epicatequina flavon – 3 – ol , os quais exibem propriedades antioxidantes. Também são encontradas em grande variedade de produtos alimentícios e são divididas em subclasses, sendo as procianidinas as mais abundantes – divididas em tipo A (C2 – O – C7 ou C2 – O – C5) e tipo B (C4 – C8 ou C4 – C6) (APPLEDOORN et al, 2009).

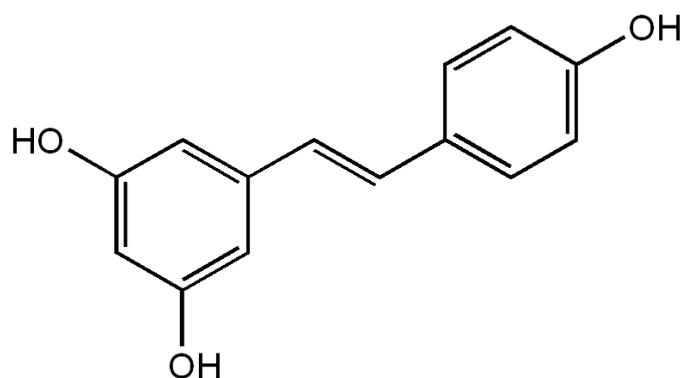
Estudos com PACs para bioatividade têm sua importância ressaltada, principalmente com os dímeros, por conta de sua biodisponibilidade provavelmente razoável (APPLEDOORN et al, 2009). Além disso, antocianidinas revelaram ter o dobro da efetividade dos antioxidantes sintéticos disponíveis como o BHA e o α -tocoferol (ST'AVÍKOVÁ et al, 2011) representando uma possibilidade alternativa à utilização dessas substâncias sintéticas as quais são cada vez mais questionadas sobre sua utilização pelos consumidores (ROCKENBACH et al, 2011).

Um estudo conduzido por Kallithraka et al (2005) averiguou a relação entre composição de antocianinas de cascas de uvas helênicas nativas e atividade anti-radical. Foram identificados principalmente 3-O-glicosídeos de malvidina (67,5%), derivados cumáricos de malvidina (14,0%), glicosídeos de peonidina (8,5%), petunidina (4,6%) e delphinidina (4,1%), sendo 3-O-glicosídeo de cianidina o menos abundante (1,2%). O estudo disponibilizou dados valiosos com relação à composição de antocianinas de importantes variedades tecnológicas de uvas viníferas, porém a estimação da atividade antirradical dos extratos indicou que antocianinas provavelmente não executam papel significativo, em termos de exibição apreciável, no poder antioxidante, o que pode ser atribuído a outros polifenóis.

Ainda sobre compostos bioativos, as uvas, cascas de uvas e vinhos são ricos principalmente em compostos de origem fenólica (BRESKA III et al, 2010) como as supracitadas proantocianidinas (derivados flavonóides) e outros não derivados de flavonóides como os estilbenos, cujo principal representante nesta espécie vegetal é o resveratrol (TIMPERIO et al, 2012; BRAVO et al, 2008)

Figura 9. Estrutura do trans- Resveratrol.

fonte: (<http://palatepress.com/2012/01/wine/resveratrol-redux-das-bad-and-the-good/>)



O resveratrol ocorre em duas configurações isoméricas (*trans* e *cis*) dentre as quais, a configuração *trans* é a que exibe uma maior atividade biológica compreendendo potenciais antiinflamatórios, antifúngicos e antioxidantes significativos. O resveratrol é sintetizado em sua maior parte na casca das uvas, através da ação enzimática da estilbeno-sintetase, e tem seu

pico de concentração logo após a maturação dos frutos, sendo suas concentrações influenciadas pela variedade da espécie bem como fatores externos como características do solo, condições hídricas, e também o processo produtivo de vinhos (BRAVO et al, 2008).

O resveratrol em sua forma *trans* é melhor absorvido quando vindo de uma dose moderada de vinho ou de suco de uva (ORTUÑO et al, 2010).

Além do resveratrol, há também o hidroxitirisol e melatonina que estão presentes naturalmente em uvas e derivados, podendo agir sinergicamente garantindo maior citoproteção contra o “stress” oxidativo. Em 200 mL de vinho, por exemplo, são providos em média, 0,38 mg de resveratrol, 0,45 mg de hidroxitirisol e 0,61 mg de melatonina, além de outros compostos bioativos de importância (FERNÁNDEZ-MAR et al, 2012).

Novak et al (2008) concluíram que antocianinas são os principais flavonoides em cascas de uvas vermelhas (a Oenina é a mais abundante) e que (+)-Catequina e agliconas de flavonóis estão presentes em concentrações muito baixas, até negligenciáveis.

As condições de cultivo também interferiram no teor de compostos fenólicos, flavonóides e na atividade antioxidante em extratos de cascas de uvas brancas riesling . O cultivo orgânico propiciou um maior teor de compostos fenólicos, principalmente quercetina e seus derivados. Porém, uvas de cultivos convencional apresentaram maior atividade antioxidante, provavelmente devido à carga de pesticidas e maior teor de flavonóides (CORRALES et al, 2009).

Em cascas de uvas vermelhas, Mulero et al (2010) encontraram concentração maior de compostos fenólicos em uvas cultivadas organicamente, refletindo em uma maior atividade antioxidante de seus extratos.

Estágios de maturação também influenciam na composição de compostos fenólicos. Perestrelo et al (2012) averiguaram este fato em duas variedades de uvas viníferas portuguesas (Sercial e Tinta Negra), conseguindo ainda

identificar 10 compostos ainda não reportados em literaturas até o momento, entre eles um dímero de resveratrol (restrisol) em extratos das cascas dessa variedades. Os autores verificaram que em uvas Sercial maduras há predominância de ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides (80%) e em uvas Tinta Negra há predominância de antocianinas (84%). Ambas as variedades foram consideradas fontes naturais de antioxidantes.

Curcko et al (2014), em seu estudo, analisaram cascas de duas variedades de uvas da região da Croácia (Plavac mali e Babic) quanto à diferença entre composição de proantocianidinas e antocianinas de suas cascas e influencia nas percepções sensoriais de adstringência e intensidade de amargor. Os autores constataram que a variedade “Plavac mali” tem em suas cascas maiores concentrações de antocianinas e proantocianidinas e que as características estruturais destas têm papel importante na adstringência, bem como na intensidade de percepção de amargor. Concluíram ainda que os parâmetros relativos à concentração de proantocianidinas e suas características estruturais são as variáveis mais importantes para discriminar os dois cultivares.

No Brasil, foi estudado o perfil de proantocianidinas e atividade antioxidante de vinhos tintos nacionais oriundo de variedades de *Vitis vinifera* L.(GRIS et al, 2011). No decorrer do trabalho, foram identificados precisamente monômeros de catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina e galato de epicatequina. Além destes, foram identificados dímeros B1 e B2. As espécies Flavan-3-ol e proantocianidinas estavam e maiores concentrações em concordância com dados da literatura e a composição de proantocianidinas obteve correlação positiva com a atividade antioxidante *in vitro*, com diferenças intervarietais.

Ainda sobre composição fenólica, Harsha et al (2013) identificaram as principais antocianinas e flavonoides de cascas de oito (8) variedades de uvas vermelhas italianas (Barbera, Croatina, Freisa, Dolcetto, Grignolino, Neretto, Nebbiolo e Pinot Nero). De maneira geral, as variedades apresentaram boa “qualidade fenólica” e exibiram como antocianinas principais: 3-O-glicosídeos de cianidina, peonidina, petunidina, delphinidina e malvidina, além de p-cumaril-

glicosídeos de cianidina, peonidina, petunidina e malvidina e cafeoil-glicosídeo e acetil-glicosídeo de malvidina. Como flavonóides foram seis principais tipos: Quercetina, Kaempferol e seus 3-O-glicosídeos e 3-O-glicuronídeos (2 isômeros de glicosídeos de Quercetina e 1 isômero de glicuronídeo de Quercetina).

Antoniolli et al (2015) analisaram o conteúdo fenólico de bagaço da cultivar Malbec na Argentina, identificando 26 compostos: 13 de baixo peso molecular e 13 antocianinas sendo este o primeiro relato para bagaço de Malbec. Afirmaram que dados sobre atividade antioxidante e composição fenólica fornecem informação para a indústria vinícola para utilizar os subprodutos dessa cultivar como fonte barata de compostos fenólicos útil para aplicações biotecnológicas.

Na Macedônia, cascas de variedades vermelhas (Vranec e Merlot) e brancas (Smederevka e Chardonnay) tiveram seu perfil polifenólico identificado no estudo de Ivanova et al (2011). Os compostos polifenólicos encontrados foram classificados em quatro grupos principais: antocianinas, flavonóis, flavan-3-óis e ácidos fenólicos, com um total de 31 compostos identificados. Concentrações maiores de monoglicosídeos de antocianinas e seus derivados p-cumáricos foram determinadas em Vranec do que em Merlot. Porém, Merlot apresentou maiores concentrações de acetil-3-glicosídeos, sendo esta característica possivelmente varietal que serviria para discriminar os dois cultivares. Além disso, uvas Vranec apresentaram maior conteúdo polifenólico comparado a Merlot devido ao maior conteúdo de polifenóis e flavonoides totais das cascas e sementes e níveis mais altos de flavan-3-óis e antocianinas totais nas cascas. Com relação às variedades brancas, foi constatado que uvas Chardonnay possuem maior conteúdo de polifenóis do que as da variedade Smederevka.

Bentivegna e Whitney (2002) sugerem que, devido à atividade antioxidante dos extratos de sementes e cascas de uva há uma forte possibilidade de utilização dessa matéria prima em adição a alimentos e bebidas, no sentido de retardar sua deterioração. Esses extratos também

contribuem para o aumento das defesas fisiológicas contra a formação *in vivo* de espécies de radicais livres.

3.2. Metais pesados em cascas de uvas: Pb, Cd, Cu e Mn

Os metais possuem efeitos nutricionais e tóxicos sobre a saúde humana, sendo estes dependentes da forma físico-química na qual se apresentam.

Harisson (2001), aborda sobre os riscos de intoxicação por uma série de metais tóxicos e essenciais com toxicidade inerente. Entre eles estão o Chumbo, o Cádmio, o Manganês e o Cobre que apresentam toxicidade notável em uma série de tecidos biológicos tais como: nervoso, hepático, renal, pancreático e gastrintestinal, sendo os efeitos da intoxicação crônica os que dispensam maior atenção por serem os mais nocivos. Além disso, grupos populacionais como o de infantes, crianças, idosos e gestantes são mais sensíveis a contaminação por estes metais, sendo necessária uma diferenciação das fontes alimentares (BECCALONI et al, 2013)

Com relação à contaminação de cascas de uvas por esses metais, Pohl (2007) aborda a maneira como esta contaminação afeta as características sensoriais das uvas e do vinho. Os metais são classificados quanto à sua origem: primária (advindos do solo de cultivo) e secundária (associados a impurezas externas, por exposição das uvas durante o crescimento ou fases da vinificação). Dentre as formas de contaminação, é ressaltado que a aplicação de pesticidas, fungicidas e fertilizantes leva ao aumento dos teores de Cd, Pb, Cu, Mn e Zn nos frutos e derivados e que contaminação da água de irrigação leva ao acúmulo de Cu, Zn e Pb (VYTAVSNA et al, 2014).

Estes metais apresentam, além do aspecto toxicológico, capacidade de reação com os compostos bioativos presentes nas uvas, principalmente os compostos fenólicos, e demonstram comportamento distinto de distribuição pelo fruto (PROVENZANO et al, 2010; VYTAVSNA et al, 2014).

Esparza et al (2004), observaram que cobre e ferro tendem a se distribuir igualmente nas três partes do fruto enquanto manganês e zinco estão mais presentes nas sementes e não apresentam variação de concentração durante

o período de vinificação/maceração. Os autores também observaram que há uma relação inversa entre a concentração de polifenóis e a concentração de metais como cobre e ferro, evidenciando que o comportamento similar desses metais pode ser devido à possibilidade de ambos de participarem de reações de condensação de taninos e antocianinas com grupamento o-hidroxila.

Outros trabalhos também reforçam esta capacidade dos metais de interagirem com os compostos presentes nas cascas de uvas, como é o caso dos estudos de Farinella et al (2007) e Farinella et al (2008). Eles relatam a capacidade de interação do bagaço com íons metálicos como cádmio (II) e chumbo (II) explanando ainda que estes dois metais possuem os mesmos sítios de ligação, tendo o chumbo maior afinidade por eles sendo primeiramente adsorvido por estruturas químicas que possuem grupamentos ácidos COOH, grupamentos carboxila, NH entre outros.

Tais compostos são extraídos nos estágios iniciais de vinificação, principalmente antocianinas e flavonóis, que são acompanhados por rápido decréscimo do conteúdo Cu provavelmente por devidos a reações de complexação com polifenóis. Porém, tais reações não alteram o conteúdo total de polifenóis (BIMPILAS et al, 2015). Porém a capacidade interação com íons metálicos se evidencia uma série de matrizes vegetais além das cascas de uvas e este fato é altamente influenciado pela característica da água de irrigação.

Referências

Št'avikova L.,*, Polovka M., HohnovaaB., KarasekaP., RothM. Antioxidant activity of grape skin aqueous extracts from pressurized hot water extraction combined with electron paramagnetic resonance spectroscopy .**Talanta**.Vol.85. p. 2233-2240.2011.

Alkıs İ. M, Sevi O'z,*, Atakol A., Yılmaz N., Anlı R. E., Atakol O. Investigation of heavy metal concentrations in some Turkish wines. **Journal of Food Composition and Analysis** V.33, p. 105–110. 2014.

Angelo PM, Jorge N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 66(1): 1-9, 2007

Apostolou A., Stagos D., Galitsiou E., Spyrou A., Haroutounian S, Portesis N, Trizoglou I, Wallace Hayes A, Tsatsakis A.Me, Dimitrios Kouretas.. Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of Vitis vinifera stem extracts. **Food and Chemical Toxicology**.2013.

Appeldoorn M. M, Sanders M., Vincken J., Cheynier V., Le Guernevé C., Hollman P. C.H., Gruppen H. Efficient isolation of major procyanidin A-type dimers from peanut skins and B-type dimers from grape seeds. **Food Chemistry**. Vol. 117. p.713-720. 2009

Ayala-Zavala J.F., Vega-Vega V., Rosas-Domínguez C., Palafox-Carlos H., Villa-Rodriguez J.A., Wasim Siddiqui Md., Dávila-Aviña J.E.a, González-Aguilar G.A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**. V.44.p.1866-1874.2011

Babbar N., Oberoi H.S, Uppal D.S, Patil R.T. Total Phenolic Content and Antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**. V.44. n.1, p.391-396. 2011.

Barros M. H. C.; Boteon M. Avaliação do desempenho regional dos principais pólos produtores de uva do Brasil. XXXX Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural (Sober). 2002.

Beccaloni E., Vanni F., Beccaloni M., Carere M. Concentrations of arsenic, cadmium, lead and zinc in homegrown vegetables and fruits: Estimated intake by population in an industrialized area of Sardinia, Italy. **Microchemical Journal** V.107 p.190–195.2013.

Benkhait A. E. A., Cheng V. J., McConnell M, Zhao J. H., Sedcole R., Harrison R..Antioxidantactivities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion **Food Chemistry**.vol.129.p.837-845.2011.

Bentivegna S.S., Whitney K.M..Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape extracts. **Food and Chemical Toxicology** .vol.40.p.1731-1743.2002.

Benzie I.F.F; Strain J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. vol.239, p.70-76. 1996.

Bimpilas A., Tsimogiannis D., Balta-Brouma K., Lympelopoulou T., Oreopoulou V. Evolution of phenolic compounds and metal content of wine during alcoholic fermentation and storage. **Food Chemistry**. V.178 p.164–171. 2015.

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 Setúbal region in Portugal. **Journal of Food Composition and Analysis**. Vol.21.p.634-643.2008.

Breksa III A. P.,Takeoka G. R, Hidalgo M. B. , Vilches A., Vasse J., Ramming D. W.. Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. **Food Chemistry**, v.121, p.740–745, 2010.

Bustamante M.A. *, Moral R., Paredes C., Pérez-Espinosa A., Moreno-Caselles J., Pérez-Murcia M.D. Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. **Waste Management**. V.28 p.372–380. 2008.

Camargo U. A., Tonietto J., Hoffmann A. Progressos na Viticultura Brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 144-149, Outubro 2011.

Chen Z.; Bertin R; Froidi G. EC₅₀ estimation of antioxidant activity in DPPH · assay using several statistical programs. **Food Chemistry**. V.138, p.414-420. 2013.

Christ K. and Burritt R.L. Critical Enviromental concerns in wine production: An integrative review. **Journal of Cleaner Production**. V.53, p.232-242. 2013.

Corrales M., García A.F., Butz P., Tauscher B.. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. **Journal of Food Engineering** .vol.90.p.415-421.2009.

CYTED. Clima, Zonificación e Tipicidad del vino en regions vitivinícolas Iberoamericanas. Madrid. 2012.

C´urko N., Kovac´evic´ Ganic´ K., Gracina L., Đapic´ M., Jourdes M., Teissedre P.L.. Characterization of seed and skin polyphenolic extracts of two red grape cultivars grown in Croatia and their sensory perception in a wine model medium. **Food Chemistry**. Vol. 145, p. 15-22. 2014

Djilas S., Canadanovic-Brunet J., Cetkovic G., By-products of fruits processing

as a source of phytochemicals. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**. 2009 V. 15, n.4, p. 191-202.

Esparza I., Salinas I., Caballero I., Santamaría C., Calvob I., García-Minac J.M., Fernández J.M. Evolution of metal and polyphenol content over a 1-year period of vinification: sample fractionation and correlation between metals and anthocyanins. **Analytica Chimica Acta**. V.524. p.215–224. 2004

Farinella N.V., Matos G.D., Arruda M.A.Z.. Grape bagasse as a potential biosorbent of metals in effluent treatments. **Bioresource Technology**. V. 98, p.1940–1946. 2007.

Farinella N.V., Matos G.D., Lehmann E.L., Arruda M.A.Z. Grape bagasse as an alternative natural adsorbent of cadmium and lead for effluent treatment. **Journal of Hazardous Materials**. V. 154, p.1007–1012. 2008.

Fernández-Mar M.I., Mateos R., García-Parrilla M.C., Puertas B., Cantos-Villar E. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. **Food Chemistry**. vol.130.p.797-813. 2012

Gris E. F., Mattivi F., Ferreira E. A., Vrhovsek U., Pedrosa R. C., Bordignon-Luiz M. T. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. **Food Chemistry**.v. 126, p. 213–220. 2011.

Harrison N. Inorganic contaminants in food. **Food Chemical Safety**. Volume1, Cap.7. p. 148-165. 2001.

Harsha P.S.C. S., Gardana C., Simonetti P., Spigno G., Lavelli V. Characterization of phenolics, in vitro reducing capacity and anti-glycation activity of red grape skins recovered from winemaking by-products. **Bioresource Technology**. Vol.140, p. 263-268. 2013

Instituto Brasileiro do Vinho. **Principais Regiões Produtoras**. Disponível em: <http://www.ibravino.org.br/regioes-produtoras>. 2014.

Ivanova V., Stefova M., Vojnoski B., Dörnyei A., Márk L., Dimovska V., Stafilov T., Kilár F. Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening. **Food Research International**. V.44.p.2851-2860.2011.

Jayaprakasha G.K, Singh R.P, Sakariah K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**. V.73, p.285-290. 2001

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1999). Summary and conclusions. In 53rd Meeting, Rome, June 1–10.

Kallithrakaa S., Mohdalya A. A., Makris D. P., Kefalas P.. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. **Journal of Food Composition and Analysis**. Vol.18, p. 375–386. 2005.

Kummu M., Moel H. de, Porkka M., Siebert S., Varis O., Ward P.J. Lost food, wasted resources: Global food supply chain losses and their impacts on freshwater, cropland, and fertiliser use. **Science of the Total Environment**. V.1]438.p.477-489. 2012.

Lage M.A.P; Gracia M.A.M; Álvarez J.A.V; Anders Y.; Curran T.P.A. A new microplate procedure for simultaneous assessments of lipophilic and hydrophilic antioxidants and pro-antioxidants, using Crocin and β -carotene bleaching methods in a single combined assay: Tea extracts as a case study. **Food Research International**. V. 53, p.836-846.2013.

Li Q.S., Cai S.S., Mo C.H., Chu B.,Peng L.H, Yang F.B.. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 73 (2010) 84–88.

Madurwar M.V., Ralegaonkar R.V., Mandavgane S.A. Application of agro-waste for sustainable construction materials: A review. **Construction and Building Materials**. V.38.p.872.878. 2013.

Ministério da Agricultura (MAPA). **Uva**. 2014.

Melo E. A; Maciel M.I.S; Lima V.L.A.G; Leal F.L.L; Caetano A.C.S; Nascimento R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos de Campinas**. V.26, n.3, p.639-644. 2013

Mello L. M. R.. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2012. Comunicado Técnico. ISSN 1808-6802. Junho, 2013. Bento Gonçalves, RS.

Ngoc U.N., Schnitzer H. Sustainable solutions for solid waste management in Southeast Asian countries. **Waste Management**. V.29.1982-1995. 2009.

Novakl., P.Janeiro, SerugaM., Oliveira-Brett A. M... Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phasehigh-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**. V.630.p.107-115.2008.

Ortuño J. a, Covas M.I., Farre M., Pujadas M., Fito M., Khymenets O., Andres-Lacueva C., Roset P., Joglar J., Lamuela-Raventós R.M. d,de la Torre R.. Matrix effects on the bioavailability of resveratrol in humans. **Food Chemistry** . v.123.p.1123-1130.2010.

Pelizer L. H., Pontieri M. H., Moraes I. O. Utilização De Resíduos Agro-Industriais Em Processos Biotecnológicos Como Perspectiva De Redução Do Impacto Ambiental. *Journal of Technology. Management and Innovation*. V. 2, n.1. p. 118-127. 2007.

- Perestrello R., Lu Y., Santos S.A.O., Silvestre A.J.D., Neto C. P., Camara J. S., Rocha S. M.. Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra Vitis vinifera L. grape skins by HPLC–DAD–ESI–MSn Novel phenolic compounds in Vitis vinifera L. grape. **Food Chemistry**. V.135.p.94-104.2012.
- Pohl P. What do metals tell us about wine?. **Trends in Analytical Chemistry**. V. 26, n. 9, p. 941-949. 2007
- Provenzano M. R., Bilali H.E., Simeone V., Baser N., Mondelli D., Cesari G. Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. **Food Chemistry**.V.122, p.1338–1343, 2010.
- Rockenbach I. I., Gonzaga L. V., Rizelio V. M., S Gonçalves A. E. de S, Genovese M. I., Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**. V.44.p.897-901.2011.
- Rosa, M. F.; Souza Filho, M S. M.; Figueiredo, M. C. B.; Morais, J. P. S.; Santaella, S.T., Leitão, R.C. Valorização De Resíduos Da Agroindústria. **II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II SIGERA**. Volume I: palestras. 15 a 17 de março de 2011 - Foz do Iguaçu, PR.
- Sharma R. K., Agrawal M., Marshall F. M. Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. **Environmental Pollution** 154 (2008) 254-263.
- Timperio, A.M; D’Alessandro A; Fagioni M; Magro P; Zolla L. Production of the phytoalexins trans-resveratrol and delta-viniferin in two economy-relevant grape cultivars upon infection with *Botrytis cinerea* in field conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**. V.50, p.65-71. 2012.
- Vytavsna Y; Rushenko L.; Diadin D.; Klymenko O.; Klymenko M. Trace metals in wine and vineyard environment in southern Ukraine. **Food Chemistry**. V.146, p.339-344. 2014.

CAPÍTULO II

**Avaliação de Bioativos e conteúdo de metais pesados em
resíduos de uvas tintas e brancas da produção vinícola do Vale
do Submédio São Francisco**

RESUMO

O cultivo de *Vitis vinifera* L. é um dos mais importantes do mundo e gera por ano grandes quantidades de resíduos, tais como peles, sementes e água. Indústria do vinho brasileiro gera por ano 54,9 milhões de quilos destes resíduos que têm grandes qualidades funcionais que não são usados corretamente e são submetidos a diversas fontes de contaminação. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil fenólico, atividade antioxidante e traçar contaminantes metálicos de vermelho da região de San Francisco Valley (*V. vinifera* L. var. *Alicante Bouschet*) e branco (*V. vinifera* L. var. *Moscatel*) extratos de uva. Os resultados mostraram uma boa capacidade antioxidante em DPPH e FRAP ensaios e conteúdo fenólico alta o que leva a uma boa atividade funcional. Não houve contaminação por oligoelementos como o Cd e Pb, mas os níveis de Cu e Mn foram maiores do que o esperado, provavelmente porque as uvas em teses região foram cultivados com uso de agrotóxicos.

PALAVRAS-CHAVE:: grape skins, phenolic compounds, antioxidant activity, metallic contaminants

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de *Vitis vinifera* L. é um dos mais importantes do mundo, sendo o vinho seu produto de maior representatividade na dieta humana desde a antiguidade (APOSTOLOU et al, 2013). A indústria vinícola mundial gera anualmente resíduos incluindo sementes, cascas, frutos, polpa e água de descarte, criando um descarte anual que se encontra entre 5 e 9 milhões de toneladas e pontualmente, a produção brasileira de vinho gera anualmente cerca de 59,4 mil toneladas de resíduos que são, na maioria das vezes, tratados como de pouca importância (DJILAS et al, 2009).

A vitivinicultura se apresenta como atividade economicamente importante do mundo globalizado gerando riquezas e agregando as pessoas de diversas formas. Nas últimas décadas, sua valorização por países não tradicionais na atividade se tornou evidente (MELLO, 2013) o que contribui para o aumento da produção mundial de uva em 25,10%.

Neste panorama, a produção brasileira se apresenta como 20ª mais expressiva do mundo com mais de 120 cultivares de espécies de *Vitis labrusca*, *Vitis vinifera* e *Vitis bourquina* e híbridas empregadas nos vinhedos que se difundem por áreas de grande diversidade ambiental por conta das diferenças

de altitude e latitude entre as zonas de clima temperado, subtropical e tropical (CAMARGO, 2011).

Extratos de uva e vinho têm ganhado muita atenção de inúmeros estudos que abordam seus benefícios para a saúde humana, especialmente suas fortes capacidades antioxidantes e de prevenção de danos ao material genético causados por espécies reativas de oxigênio. Tais danos podem levar ao desenvolvimento de câncer e doenças neurodegenerativas (BARTHOMEUF, 2006).

Além disso, devido à atividade antioxidante das cascas de uva, seus extratos podem ser utilizados em adição a bebidas e comidas visando retardar sua degradação. Grande parte da atividade antioxidante dessa matriz se deve a compostos como proantocianidinas oligoméricas e poliméricas e outros compostos fenólicos como flavan-3-óis, antocianinas, ácidos fenólicos e resveratrol e derivados (BENTIVEGNA e WHITNEY, 2002; GRIS et al, 2011; IVANOVA et al, 2011 e HARSHA et al, 2013).

Ácidos fenólicos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos como o clorogênico, o p-cumárico, o ferúlico e o cinâmico possuem grande capacidade antioxidante in vitro são compostos químicos presentes em plantas medicinais e alimentos funcionais como *Vitis vinifera* L. (ÂNGELO e JORGE, 2007).

O resveratrol é o estilbeno principal das uvas (TIMPERIO et al, 2012; BRAVO et al, 2008), tendo poder antioxidante pronunciado, além de ação anti-inflamatória e antifúngica.

Em paralelo, os compostos bioativos como flavonoides e resveratrol são reativos a íons metálicos o que pode ocasionar uma série de reações em cadeia responsáveis por alterar características sensoriais dos produtos derivados de uva como vinhos e sucos. Adicionalmente, a contaminação por elementos traço geralmente encontrados em fertilizantes e agrotóxicos como cádmio (Cd), manganês (Mn), chumbo (Pb) e cobre (Cu) traz riscos à saúde humana como distúrbios gastrintestinais, neurotoxicidade, necrose hepática, podendo levar a óbito (VYTAVSNA et al, 2014; HARRISON, 2001).

É importante abordar o fato de os metais apresentarem competição por sítios de ligação, como é posto em alguns estudos (FARINELLA et al. (2007) e FARINELLA et al. 2008) que revelam que metais como Cd e Pb possuem o mesmo sítio de ligação no bagaço de uva, porém a força de interação entre

estes metais e os sítios é distinta, tendo o chumbo, no caso, maior afinidade pelo por estruturas com grupamentos COOH, grupos carboxila, NH etc.

Os níveis de elementos traço como Cd e Pb em alguns produtos vitícolas são extremamente baixos e de difícil detecção, mas metais como Fe, Mn e Zn têm concentrações mais altas neste tipo de matriz alimentar e podem ser facilmente detectados por FAAS (ALKIŞ, 2014).

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar o perfil fenólico e atividade antioxidante de extratos hidroalcoólicos de cascas de uvas vermelhas e brancas da região do Vale do Rio São Francisco, que se caracterizem como resíduos da produção vinícola regional. E também determinar os teores de contaminantes metálicos (Cd, Pb, Cu e Mn) na busca de contribuir para a valorizações destes resíduos ainda sub aproveitados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Os resíduos de uva tintas e brancas foram coletadas na Vinícola Santa Maria, localizada na região do Vale do rio São Francisco em Junho/Julho de 2013. As variedades de uvas tintas e brancas são: Alicante Bouschet e Moscato branco, respectivamente. As amostras foram armazenadas sob refrigeração até o momento do tratamento. Os padrões de grau cromatográfico utilizados foram: Ácido Clorogênico, trans-Resveratrol and Ácido p-Cumárico (Sigma Aldrich) e os reagentes de grau cromatográfico: Metanol, Ácido Fosfórico (Merck).

2.2. MÉTODOS

2.2.1. PREPARO DAS AMOSTRAS

As cascas foram separadas das sementes e submetidas a secagem convectiva a 50°C por 12 horas. As cascas secas foram moídas e o pó foi utilizado para a confecção dos extratos com etanol 70% a 0,5% p/v. O pó restante foi armazenado em sacos e postos sob refrigeração para utilização posterior. O etanol 70% foi escolhido como solvente por conta da melhor

capacidade de extração de compostos fenólicos frente a outros solventes utilizados (água e éter) em triagem no laboratório.

2.2.2. CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS POR MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU

O teor de fenólicos totais (TPC) foi determinado por método espectrofotométrico de acordo com Harsha et al (2013) utilizando o método de Folin–Ciocalteu, com algumas modificações. Previamente, 200 µL dos extratos das cascas de uvas de Alicante Bouchet and Moscato branco foram misturados a 2,5 mL do reagente de Folin–Ciocalteu (1:10 v/v, em água tipo I), e então agitados brevemente. Depois de 3 minutos, 2,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio (7.5% w/v) foram adicionados. A mistura reativa foi mantida a 50°C por 30 min, a suas absorbâncias medidas a 760 nm em um espectrofotômetro (Biochrom). Uma curva de calibração foi plotada com soluções padrão de Ácido Gálico (GA, 12 a 148 mg/l, $y=0,0052x - 0,0094$; $r^2 = 0.9995$). As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalentes (GAE)/kg de massa seca.

2.2.3. COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE-UV-Vis

Para determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais e estabelecer o perfil fenólico por CLAE–UV/Vis, os compostos fenólicos das cascas secas foram extraídos utilizando solução de etanol (70%) para formação de 10 mL de extrato com 250 mg de amostra. Para injeção, os extratos foram filtrados em membranas de nylon (Alchrom) com 0,22 µm de poro.

A análise quantitativa dos compostos fenólicos foi conduzida de acordo com Perestrelo et al (2012), com algumas modificações, em um sistema de CLAE Perkin Elmer (Flexar, OVHF 100215082) equipado com bomba binária, detector UV-Vis, injeção manual e compartimento de coluna. O equipamento dispunha de uma coluna Brownlee Analytica C18 (250 mm, 4.6 mmi.d., 5 µm) fornecida pela Waters (Milford, Ma, USA) em temperatura controlada (30 °C). A eluição foi conduzida utilizando fase móvel A (1% phosphoric acid in aqueous solution), fase móvel B (100% CH₃OH). A taxa de fluxo 0.4 ml/min, e o

comprimento de onda de detecção de 280 nm. O gradient foi conduzido como a seguir: 0 min 100% A; 7 min 100% A; 10 min 90% A; 15 min 80% A; 20 min 75% A; 30 min 50% A; 45 min 20% A; 55 min 50%A; 75 min 100% A, com volume de injeção de 20 µl dos extratos de soluções padrão. Como nem todos os compostos fenólicos de uvas estavam disponíveis comercialmente, três padrões, representativos das classes químicas principais foram selecionados: Ácido Clorogênico, Ácido p-Cumárico e t-Resveratrol (Sigma Aldrich). Os padrões selecionados foram utilizados para confecção de curvas padrão e os resultados foram expressos em equivalentes dos padrões utilizados. Para cada um dos tres padrões foram preparadas soluções estoque em etanol 70% (500 µg/ml). Todas as soluções foram armazenadas a 20°C. As soluções de trabalho foram preparadas por diluição de alíquotas adequadas de cada solução estoque na fase móvel A. Sete níveis diferentes, cobrindo o intervalo de concentração esperado para cada composto fenólico foram preparados. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.1. CAPTURA DE RADICAL LIVRE DPPH

O ensaio de DPPH foi realizado de acordo com Bekhit et al (2011) com algumas modificações. A solução estoque foi preparada pela dissolução de 2,4 mg de DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazil) em 100mL de metanol e armazenada a 20 °C. Diluições dos extratos de cascas de uvas (1:1, 1:3 e 1:5, cada um em triplicata) foram postos para reagir com 3900 µL da solução de DPPH por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 515 nm. A curva padrão foi linear entre 20 e 60 mM DPPH. Resultados foram expressos em g fruit/ g DPPH em massa seca. As determinações foram realizadas em triplicata.

3.2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE FRAP (*ferric ion reducing antioxidant power*).

O ensaio de FRAP foi realizado de acordo com Harsha et al (2013) com algumas modificações. As soluções estoque incluíam 300mM de solução

tampão acetato (3.1 gC₂H₃NaO₂.3H₂O and 16mL C₂H₄O₂), pH 3.6, solução 10mM TPTZ (2, 4, 6- tripyridyl-s-triazine) em HCl 40mM, e uma solução de 20mM FeCl₃.6H₂O. A solução de trabalho foi preparado no momento da análise pela mistura de 50mL de tampão acetato, 5mL da solução de TPTZ, e 5mL da solução de FeCl₃.6H₂O e então aquecida a 37 °C por 30 minutos antes de ser utilizada. As diluições dos extratos de cascas de uva (90µL) foram adicionadas de 2700 µL da solução FRAP for 30 min em abrigo da luz. As leituras dos complexos coloridos [complexo ferroso tripyridyltriazine] foram realizadas a 595 nm. A curva padrão foi linear entre 500 e 2000mM FeSO₄ . Resultados foram expressos em mg.L⁻¹ de equivalentes a 1.000µmo.L⁻¹ FeSO₄ de massa seca. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO β-CAROTENE/LINOLEIC

O método β-caroteno/ácido linoleico foi executado de acordo com Melo et al (2013) com algumas modificações preparando previamente uma solução de β-caroteno (1%) e misturando 1mL dessa solução com 20µL de ácido linoléico, 100 µL de TWEEN 40 e uma pequena alíquota de clorofórmio (CH₃Cl). Ao fim da evaporação do clorofórmio, 50mL de água foram adicionados para originar a solução de trabalho. Uma alíquota de 5 mL da solução de trabalho foram adicionados a alíquotas de 200 µL dos extratos de cascas de uvas (0,5% p/v). As medidas foram realizadas a 470 nm e os resultados foram expressos em % de proteção. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4. DETERMINAÇÃO DOS METAIS

4.1. DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO

A detecção e quantificação de elementos traço foram estabelecidas com a metodologia de espectrometria de absorção atômica no modo chama (EAA) e EAA com forno de grafite (EAAFV) adaptado do método descrito por Guntiñas et al (2009). Os metais traço analisados foram Cu, Cd, Pb and Mn.

4.1.1. TRATAMENTO DA AMOSTRA

A abertura das amostras foi semelhante ao método descrito por Menezes-Filho et al., (2009). A mineralização foi realizada em triplicata, após pesagem, em balança analítica (Sartorius CP 2245 - São Paulo, Brasil), de aproximadamente 100 mg de cada amostra, com registro da massa com quatro casas decimais, diretamente em béqueres de 50 mL. Na capela de exaustão, foram acrescentados 2 mL de HNO₃ concentrado e em seguida cobertos com vidro de relógio e levados à chapa de aquecimento (Nova ética, modelo 208D) a 100°C, refluxando por cerca de 2 horas. Foi finalizada a abertura quando apresentavam aspecto claro e sem evolução do gás castanho (dióxido de nitrogênio). Controles em branco de reagente e material de referência certificado (Tecido de ostra NIST-1566b, National Institute of Standard Material) foram preparados da mesma maneira em cada bateria. Após resfriar a temperatura ambiente, as amostras foram volumetricamente transferidas para tubos de centrífuga de polipropileno graduados de 15 mL (Corning CentriStar™) e avolumadas para 10 mL com água pura Tipo I.

4.1.2. QUANTIFICAÇÃO DOS METAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Para realização das análises de metais Mn, Cd e Pb foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (AAS - Varian Spectra AA 240FGZ, Mulgrave Victoria, AU). As análises de Cu foram realizadas no espectrômetro Spectra 55B (Varian) no modo chama.

A curva de calibração do Cd foi preparada por meio de diluição na amostra da solução padrão estoque de cádmio 1000 mg.L⁻¹ em HNO₃ 0,2%, nas concentrações de 0 a 4,0 µg.L⁻¹ em faixa linear. A solução de dihidrogenofosfato de amônio a 0,5% foi utilizado como modificador de matriz. A curva de calibração do Pb foi preparada após diluição da amostra da solução intermediária de chumbo à 10 µg.mL⁻¹, obtida da mistura de solução padrão estoque de Pb 1000 µg.mL⁻¹ e HNO₃ 0,2%, nas concentrações 0 a 20 µg.L⁻¹.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão (SD). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico Minitab versão 17 (Minitab). Diferenças entre as médias foram analisadas utilizando o teste Mann-Whitney ($p > 0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise fenólicos totais e HPLC/UV-Vis estão expressos nas tabelas 1 e 2 e figuras 1 e 2.

Tabela 1. Compostos fenólicos de cascas de uvas tintas e brancas por HPLC UV-Vis

Compostos fenólicos	Concentração ($\mu\text{g/g}$)	
	Cascas de uvas tintas	Cascas de uvas brancas
<i>Trans-reveratrol</i>	$0,77 \pm 0,07$	-
<i>Ácido p-Cumarico</i>	$0,46 \pm 0,03$	-
<i>Ácido Clorogenico</i>	$11,00 \pm 0,67$	$3,02 \pm 0,18$

Figura 1. cromatograma dos compostos fenólicos de extrato de cascas de uvas tintas

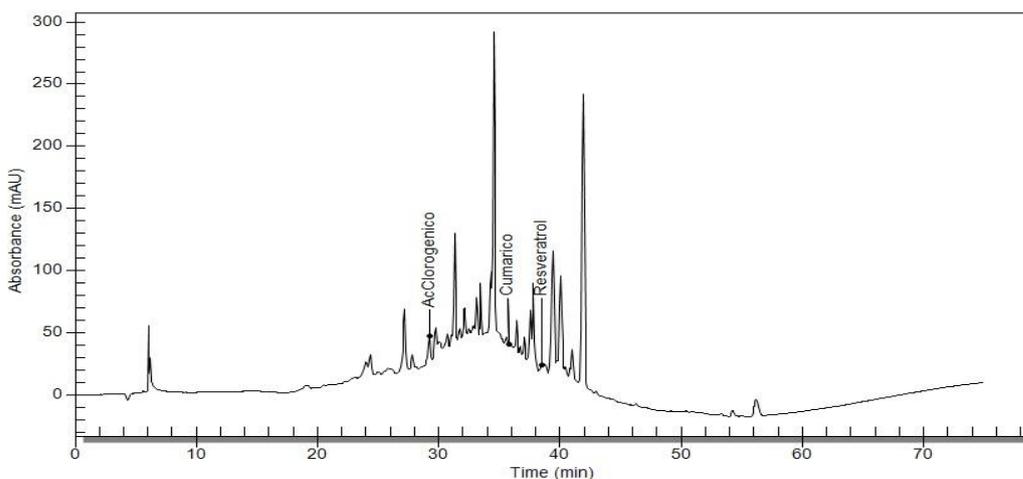
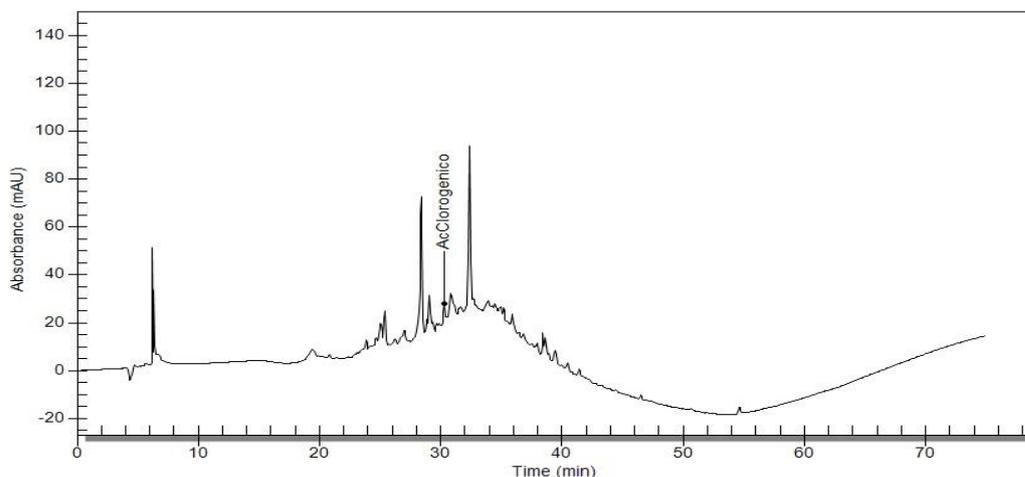


Figura 2. cromatograma dos compostos fenólicos de extrato de cascas de uvas brancas



Os perfis fenólicos de extratos de cascas de regiões como Brasil, Croácia, Espanha e Portugal (Gris et al. 2011; Rockenbach et al. 2011; Perestrelo et al. 2012; Curcko et al. 2014) são distintos, uma vez que este parâmetro é influenciado por fatores climáticos, de solo e varietais. Regiões distintas de cultivo demandam variedades de *V.vinifera* L. adaptáveis à suas condições ambientais.

Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos totais de cascas de uvas tintas e brancas.

Amostras	Conteúdo fenólico ($\mu\text{g GAE/g DM}$)
Cascas de uvas tintas	$164,12 \pm 18,77^a$
Cascas de uvas brancas	$120,78 \pm 15,95^a$

Comparação de médias realizada por teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos ($p > 0,05$).

Apesar de as concentrações de compostos fenólicos totais não diferirem significativamente entre as amostras neste estudo (tabela 2), a composição fenólica, porém demonstra ter influência sobre a atividade antioxidante.

Uma correlação entre a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante é fortemente possível. As concentrações de compostos fenólicos nas amostras estudadas neste trabalho (tabela 2) refletem a alta capacidade antioxidante que se observa em dois tipos de mecanismos: capacidade de captura de espécie radicalar (DPPH) (tabela 3) e capacidade de redução férrica (FRAP) (tabela 4), havendo forte correlação linear entre a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante encontrada com utilização do método de captura do radical DPPH ($r = -0,788$).

Isto se justifica pelo fato de as espécies fenólicas presentes nas amostras de estudo se configurarem como antioxidantes que agem por captura de elétron livre e sua acomodação por ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado (ÂNGELO e JORGE, 2007).

Tabela 3. Atividade Antioxidante por captura de radical DPPH.

<i>Amostras</i>	<i>g fruta /g DPPH (EC₅₀) de massa seca</i>
<i>Cascas de Uvas Tintas</i>	<i>0.034± 0,0007^a</i>
<i>Cascas de Uvas Brancas</i>	<i>0.036± 0,0007^b</i>

Comparação de médias realizada por teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos ($p > 0,05$)

As correlações entre a concentração fenólica a atividade antioxidante por FRAP e sistema β -caroteno/ácido Linoléico ($r = 0,032$ e $r = 0,028$ respectivamente, $p > 0,05$), no entanto, não apresentaram comportamento linear neste estudo, o que evidencia a possibilidade de uma relação de comportamento não linear entre a concentração de compostos fenólicos e esses dois tipos de mecanismos antioxidantes, evidenciando que mecanismo de ação principal dos componentes antioxidantes das amostras não corresponde aos analisados nestes métodos. Porém, valores de FRAP semelhantes foram encontrados por Rockenbach et al (2011) e Harsha et al (2013) para diversas variedades de *Vitis vinífera* L. e *Vitis labrusca* L. (tabela 5) sendo considerados como representantes de alta atividade antioxidante.

Tabela 4. Atividade antioxidante por FRAP.

Samples	1.000 $\mu\text{mol.L}^{-1}\text{FeSO}_4$ equivalentes/g massa seca
Red grape skins	360,13 \pm 4,88 ^a
White grape skins	327,87 \pm 18,32 ^b

Comparação de médias realizada por teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos ($p>0,05$)

Tabela 5. Comparação entre valores encontrados de FRAP para este estudo e os encontrados por outros autores.

Variedades	Frap (1.000 $\mu\text{mol.L}^{-1}\text{FeSO}_4$ equivalentes/g massa seca)	Referencias
Barbera	281 \pm 2	Harsha et al (2013)
Croatina	404 \pm 1	Harsha et al (2013)
Freisa	511 \pm 15	Harsha et al (2013)
Dolcetto	353 \pm 5	Harsha et al (2013)
Primitivo	145,4 \pm 4	Rockenbach et al (2011)
Sangiovese	436,2 \pm 17	Rockenbach et al (2011)
Pinot Noir	178,5 \pm 11	Rockenbach et al (2011)
Negro Amaro	162,7 \pm 11	Rockenbach et al (2011)
Cabernet Sauvignon	244,1 \pm 9	Rockenbach et al (2011)
Isabel	347,4 \pm 12	Rockenbach et al (2011)
Alicante Bouschet	360,13 \pm 4,88	Resultados encontrados
Moscato Branco	327,87 \pm 18,32	Resultados encontrados

Cascas de uvas tintas brasileiras analisadas por Rockenbach et al. (2011) demonstraram atividades antioxidantes relevantes fortemente correlacionadas com o alto teor de compostos fenólicos ($p > 0,05$).

Ainda que as amostras, tanto de cascas de uvas tintas quanto de cascas de uvas brancas, possuam valores de atividade antioxidantes próximos, estas possuem perfis cromatográficos diferentes como evidenciado nas figuras 1 e 2, mostrando assim que um conjunto diferente de compostos é responsável pela inativação dos radicais livres nas diferentes variedades. Tal comportamento foi reportado por Jayaprakasha et al. (2001) que afirmou o condicionamento de diferentes capacidades antioxidantes dos extratos de *V. vinifera* L. var. Bangalore à composição fenólica apresentada por cada extrato (extratos em acetona, metanol e acetato de etila).

Tabela 6. Atividade Antioxidante por Sistema β -carotene/Ácido Linoléico.

<i>Amostras</i>	<i>% de proteção</i>
<i>Cascas de Uvas Tintas</i>	$15,60 \pm 3,44^a$
<i>Cascas de Uvas Brancas</i>	$10,74 \pm 7,23^b$

Comparação de médias realizada por teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos ($p > 0,05$)

O mecanismo de inibição de oxidação do β -caroteno neste trabalho não corresponde a uma forma eficaz de proteção oxidativa (tabela 7), o que reflete na baixa atividade antioxidante dos compostos das amostras frente a condições de oxidação lipídica nas concentrações utilizadas, podendo indicar que a inibição oxidativa ocorra como consequência da concentração do extrato. Melo et al (2013), no entanto, citam que o processo de oxidação lipídica é muito complexo sendo constituído de muitos tipos de espécies radicalares, e a atividade antioxidante de um composto depende do substrato lipídico, da sua solubilidade e do seu mecanismo de ação. Assim, em ensaios que contêm lipídios como substrato oxidável, a proteção conferida pelos antioxidantes depende da sua solubilidade que determina sua distribuição na fase do sistema. Ressalta-se ainda, que a composição complexa de extratos vegetais pode favorecer uma interação sinérgica ou antagônica entre os compostos presentes podendo afetar sua distribuição no meio e consequentemente sua atividade antioxidante.

Tabela 7. Concentração de elementos traço em amostras de cascas de uvas tintas e brancas.

Elementos traço	Concentração ($\mu\text{g/g} \pm \text{desvio padrão}$)	
	Cascas de uvas tintas	Cascas de uvas brancas
Mn	1.69 ± 0.004	1.76 ± 0.071
Cd	< LOD	< LOD
Pb	< LOD	< LOD
Cu	9.19 ± 0.72	13.47 ± 0.18

LOD (Limit of Detection) for Cd and Pb: $0.02 \mu\text{g/g}$.

As concentrações de manganês e cobre encontradas neste estudo são menores do que as de outros estudos (Esparza et al. 2004; Provenzano et al. 2010) porém, seus níveis encontram-se acima dos preconizados pela FAO/OMS de $0,2$ e $0,9 \mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente, denotando influência de fatores externos tais como uso de fertilizantes e agrotóxicos cujas formulações contém tais metais (Amin et al., 2013) . Esparza et al. (2004) afirmam que o cobre tende a se distribuir igualmente nas três partes do fruto (casca, polpa e sementes) enquanto que o manganês tende a estar mais presente nas sementes, o que pode justificar o fato de a concentração de manganês ser mais baixa que a do cobre neste caso.

Matrizes vegetais em geral se expõem a contaminação por diversos fatores incluindo salinidade do solo e influência das atividades urbanas (Sharma et al, 2008; Li et al, 2010).

A contaminação por metais pesados em geral, ocasiona um aumento da produção de compostos antioxidantes por parte dos vegetais no sentido de aumentar a proteção contra os danos da contaminação, sendo assim, existe uma menor disponibilidade de substâncias antioxidantes livres no vegetal por conta de seu recrutamento para a formação de fitoquelatinas que diminuem as injúrias causadas pela contaminação (Santos et al, 2011).

Tal fato pode contribuir para a menor atividade antioxidante das cascas de uvas brancas (tabelas 3, 4 e 6) que apresentaram maiores teores de Cu e Mn que as cascas de uvas tintas (tabelas 3, 4 e 6).

Para Cd e Pb, os valores estavam abaixo do limite de detecção do método, sendo de difícil detecção e quantificação, confirmando o que foi concluído por Akiş et al (2014), que determinou esses metais em cascas de uvas tintas e também não obteve a quantificação, concluindo que, nestes resíduos o Cd e

Pb têm difícil detecção por EAA. O que configura isenção, do ponto de vista legal, de contaminação por esses metais nas cascas de uvas tintas e brancas neste estudo. Para as amostras apresentadas, que estavam contaminadas por Cd e Pb, Khan et al, 2013 e Vytavsna et al. 2014 sugerem contaminação advinda dos lençóis freáticos e de água de irrigação advinda do reaproveitamento de água de descarte e por características do solo como pH e níveis de matéria orgânica, como a água utilizada para a irrigação das amostras que apresentaram contaminação por esse dois metais é advinda de poços, a contaminação do lençol freático é sua provável causa.

7. CONCLUSÕES

Os extratos de cascas de uvas tintas e brancas provenientes da região do vale do submédio São Francisco apresentaram boa capacidade antioxidante aliada a altas concentrações de compostos fenólicos. Quanto à contaminação por elementos traço, foram verificadas concentrações que ultrapassam os limites preconizados pela legislação de cobre e manganês. Os elementos chumbo e cádmio estão em níveis não detectáveis. Em linhas gerais, as cascas de uvas tintas e brancas se mostraram como boas fontes de substâncias funcionais, especialmente compostos fenólicos, que conferem a essas matrizes um bom potencial antioxidante, gerando respaldo para continuidade da pesquisa sobre seus compostos bioativos e para sua utilização na produção de uma vasta gama de artigos funcionais como cosméticos, nutracêuticos, aditivos alimentares, adsorventes naturais entre outros. Mais estudos, portanto, devem ser realizados para garantir a eficácia e segurança de utilização desta matriz alimentar.

8. AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo apoio financeiro.

9. REFERENCIAS

Št'ávikova L.,*, Polovka M., HohnovaaB., KarasekaP., RothM. Antioxidant activity of grape skin aqueous extracts from pressurized hot water extraction combined with electron paramagnetic resonance spectroscopy .**Talanta**. v.85, p. 2233-2240, 2011.

Alkıs İ. M, Sevi Ö'z,*, Atakol A., Yılmaz N., Anlı R. E., Atakol O. Investigation of heavy metal concentrations in some Turkish wines. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 33, p. 105–110, 2014.

Amin N., Hussain A. b, Alamzeb S.a, Begum S. Accumulation of heavy metals in edible parts of vegetables irrigated with waste water and their daily intake to adults and children, District Mardan, Pakistan. **Food Chemistry**. v.136, p. 1515–1523, 2013.

Angelo PM, Jorge N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p. 1-9, 2007.

Apostolou A., StagosD., Galitsiou E.,Spyrou A., Haroutounian S, Portesis N, Trizoglou I, Wallace Hayes A, TsatsakisA.Me, DimitriosKouretas.. Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection againstROS-induced DNA damage and anticancer activity of Vitisvinifera stem extracts. **Food and Chemical Toxicology**.2013

Arora M., Kiran B. , Rani S. , Rani A., Kaur B., Mittal N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. **Food Chemistry**. v.111, p. 811–815, 2008.

Bekhit A. E. A., Cheng V. J., McConnell M, Zhao J. H., Sedcole R., Harrison R..Antioxidantactivities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion **Food Chemistry**.v.129, p. 837-845, 2011.

Bentivegna S.S., Whitney K.M..Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape extracts.**Food and Chemical Toxicology** .v.40, p. 1731-1743, 2002.

Camargo U. A., Tonietto J., Hoffmann A. Progressos na Viticultura Brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, p. 144-149, 2011.

Corrales M., García A.F., Butz P., Tauscher B.. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure.**Journal of Food Engineering** .v.90, p. 415-421, 2009.

CYTED.Clima, Zonificación e Tipicidad del vino en regions vitivinícolasIberoamericanas. Madrid. 2012.

Djilas S., Canadanovic-Brunet J., Cetkovic G., By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**. v. 15, n.4, p. 191-202, 2009.

Esparza I., Salinas I., Caballero I., Santamaría C., Calvob I., García-Minac J.M., Fernández J.M. Evolution of metal and polyphenol content over a 1-year period of vinification: sample fractionation and correlation between metals and anthocyanins. **Analytica Chimica Acta**. v.524, p. 215–224, 2004.

Farinella N.V., Matos G.D., Lehmann E.L., Arruda M.A.Z.. Grape bagasse as an alternative natural adsorbent of cadmium and lead for effluent treatment. **Journal of Hazardous Materials**. v. 154, p. 1007–1012, 2008.

Farinella N.V., Matos G.D., Arruda M.A.Z. Grape bagasse as a potential biosorbent of metals in effluent treatments. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 1940–1946, 2007.

Fernández-Mar M.I., Mateos R., García-Parrilla M.C., Puertas B., Cantos-Villar E. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. **Food Chemistry**. v.30, p. 797–813, 2012.

Gris E. F., Mattivi F., Ferreira E. A., Vrhovsek U., Pedrosa R. C., Bordignon-Luiz M. T. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. **Food Chemistry**. v. 126, p. 213–220. 2011.

Harsha P.S.C. S., Gardana C., Simonetti P., Spigno G., Lavelli V. Characterization of phenolics, in vitro reducing capacity and anti-glycation activity of red grape skins recovered from winemaking by-products. **Bioresource Technology**. v.140, p. 263-268, 2013.

Ivanova V., Stefova M., Vojnoski B., Dörnyei A., Márk L., Dimovska V., Stafilov T., Kilár F. Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening. **Food Research International**. v.44, p. 2851-2860, 2011.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1999). Summary and conclusions. In 53rd Meeting, Rome, June 1–10.

Khan K., Lu Y., Khan H., Ishtiaq M., Khan S., Waqas M., Wei L., Wang T.. Heavy metals in agricultural soils and crops and their health risks in Swat District, northern Pakistan. **Food and Chemical Toxicology**. v.58, p. 449–458, 2013.

Li Q.S., Cai S.S., Mo C.H., Chu B., Peng L.H, Yang F.B.. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 73, p. 84–88, 2010.

Melo E. A; Maciel M.I.S; Lima V.L.A.G; Leal F.L.L; Caetano A.C.S; Nascimento R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos de Campinas**. v. 26, n. 3, p. 639-644, 2013.

Novakl., P. Janeiro, Seruga M., Oliveira-Brett A. M... Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical

detection. **Analytica Chimica Acta**. v.630, p. 107-115, 2008.

Ortuño J. a, Covas M.I., Farre M., Pujadas M., Fito M., Khymenets O., Andres-Lacueva C., Roset P., Joglar J., Lamuela-Raventós R.M., dela Torre R. Matrix effects on the bioavailability of resveratrol in humans. **Food Chemistry**. v.123, p. 1123-1130, 2010.

Perestrelo R., Lu Y., Santos S.A.O., Silvestre A.J.D., Neto C. P., Camara J. S., Rocha S. M.. Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra Vitisvinifera L. grape skins by HPLC–DAD–ESI–MSn Novel phenolic compounds in Vitisvinifera L. grape. **Food Chemistry**.v.135, p. 94-104, 2012.

Provenzano M. R., Bilali H.E., Simeone V., Baser N., Mondelli D., Cesari G. Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. **Food Chemistry**. v.122, p. 1338–1343, 2010.

Rockenbach I. I., Gonzaga L. V., Rizelio V. M., S Gonçalves A. E. de S, Genovese M. I., Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitisvinifera and Vitislabrusca) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**. v.44, p. 897-901, 2011.

Santos F. S. dos, Sobrinho N. M. B. A., Mazur N., Garbisu C., Barrutia O., Becerril J. M. Resposta Antioxidante, Formação de Fitoquelatinas e Composição de Pigmentos Fotoprotetores em Brachiaria decumbens Stapf Submetida à contaminação com Cd E Zn. **Quim. Nova**, v.34, n.1, p. 16-20, 2011.

Sharma R. K., Agrawal M., Marshall F. M. Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. **Environmental Pollution**. v.154, p. 254-263, 2008.

Vytavsna Y; Rushenko L.; Diadin D.; Klymenko O.; Klymenko M. Trace metals in wine and vineyard environment in southern Ukraine. **Food Chemistry**.v.146, ,p. 339-344, 2014.