



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE FARMÁCIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE ÓLEO DE
SEMENTE DE UVA EXTRAÍDO POR DIFERENTES
MÉTODOS: INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM
ULTRASSOM.**

RITA DE CÁSSIA DE SOUZA

SALVADOR – BA

2018

RITA DE CÁSSIA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE ÓLEO DE
SEMENTE DE UVA EXTRAÍDO POR DIFERENTES
MÉTODOS: INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM
ULTRASSOM.**

Orientador: Marcelo Andrés Umsza Guez

Co-orientador(es): Bruna Aparecida de Souza Machado

Jeancarlo Pereira dos Anjos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade
Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência de Alimentos.

SALVADOR – BA

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

de Souza, Rita de Cássia
Avaliação Físico-Química de Óleo de Semente de
Uva Extraído por Diferentes Métodos: Influência
do Pré-Tratamento com Ultrassom / Rita de Cássia
de Souza. -- Salvador, 2018.
103 f. : il

Orientador: Marcelo Andrés Umsza Guez.
Coorientadora: Bruna Aparecida de Souza Machado.
Dissertação (Mestrado - Ciências de Alimentos) --
Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia,
2018.

1. Vitis Vinifera. 2. Extração Supercrítica. 3.
Resíduos Agroindustriais. 4. Vitamina E. I. Andrés
Umsza Guez, Marcelo. II. Aparecida de Souza Machado,
Bruna . III. Título.



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

TERMO DE APROVAÇÃO

RITA DE CÁSSIA DE SOUZA

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA EXTRAÍDO POR DIFERENTES MÉTODOS: INFLUENCIADO PRÉ- TRATAMENTO COM ULTRASSOM

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 29 de novembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Marcelo Andrés Umsza Guez
Universidade Federal da Bahia
Orientador

Dr.ª Josiane Dantas Viana Barbosa
Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

Dr. Sérgio Eduardo Soares
Universidade Federal da Bahia

DEDICATÓRIA

A Deus e a Ssma. Virgem Maria,

por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

Aos meus queridos pais Ana e Amaro,

pelo amor, dedicação, por me mostrar a direção correta e me ensinar a ter fé.

A Andre e Aline, e toda minha família

pelas orações, carinho, confiança e motivação incondicional.

Dedico

“Sei que sou sustentada e aqui está a minha tranquilidade e segurança, não a segurança sábia do homem que está num terreno seguro com as próprias forças, mas a doce feliz segurança da criança sustentada por um braço forte.”

Santa Edith Stein

*“Nada te perturbe, Nada te amedronte,
Tudo passa, Deus não muda,
A paciência tudo alcança;
Quem a Deus tem, Nada lhe falta:
Só Deus basta.”*

Santa Tereza D’Avila)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, pois ter chegado aqui foi unicamente por ação de Seu Amor, Graça e Misericórdia. Agradeço à Materna e poderosa intercessão da Santíssima Virgem Maria, por me guardar sempre sobre o seu Manto Materno, e nunca desviar de mim os Seus olhos de Amor.

Agradeço aos meus pais, Ana e Amaro, pelo amor incondicional, orações, apoio e por sempre acreditarem e viverem comigo os meus sonhos. Ao meu irmão André e minha cunhada Aline, por me oferecem muito mais do que um lugar pra morar durante esses dois anos, me oferecerem um lar cheio do mais terno amor, além de apoio e incentivo sempre. Ao meu irmão Jean e minha cunhada Michele, por todo o apoio e carinho, e de maneira especial pelo grande presente que posso ter minha vida, minha sobrinha Bia.

Ao meu Orientador, Profº Drº Marcelo Umsza, por ter concedido a oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, pela confiança em mim depositada e pela compreensão ao longo destes dois anos. Aos meus co-orientadores, Profª Drª Bruna Machado, pela oportunidade, incentivo, por todos os ensinamentos e confiança depositada em mim, e ao Prof. Dr. Jeancarlo Anjos, pela prontidão, paciência, dedicação e ter sido um incentivador deste trabalho.

Aos professores do PGALI e a UFBA, pelos ensinamentos e estrutura disponibilizada.

Agradeço a Gabriele Abreu, por toda a ajuda no decorrer deste trabalho e pela linda amizade construída.

Agradeço grandemente (mais que palavras possam expressar) todos os amigos feitos no SENAI-CIMATEC, Ingrid, Jamile, Nanda, Kath, todo o grupo de pesquisa (7x1), a querida Eliete, a área de alimentos e ITS, por toda a ajuda, pelas alegrias e conhecimentos compartilhados.

Agradeço a minha turma de mestrado (2016.1), por serem sempre tão solícitos e por dividirmos juntos todas as alegrias e dores desse mestrado. De forma especial, agradeço a Renata e seu pai Sr. Luciano, Mara e Ivo, que desde a UEFS estamos caminhando juntos. E da UEFS ainda agradeço imensamente, a professora Marília Lordelo pelo apoio, incentivo e inspiração e a professora Geany Peruch pela disponibilidade e atenção.

Aos meus familiares, pelas orações, suporte, e amor. Muito obrigada pela presença constante em minha vida e por me encorajarem a continuar e, assim, vencer. Meu eterno amor e gratidão a vocês.

Agradeço ao Frei Paulo Maria, Pe. Marcus e Pe. Benedito por todos os conselhos e orações. Por me fazerem compreender que tudo é missão, e que a santificação do trabalho ordinário é como o eixo da verdadeira espiritualidade para que - imersos nas realidades temporais - estejamos decididos a ter uma vida de intimidade com Deus.

Agradeço a todos os meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, e àqueles com que fui presenteada ao longo dessa jornada. Vocês foram essenciais para que essa caminhada se tornasse mais leve.

A FAPESB pela bolsa concessão da bolsa.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desta dissertação, citados e não citados por nome, mais de igual importância.

Muito obrigada!

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
2.0 OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo Geral	20
2.2. Objetivos Específicos	20
Capítulo I	21
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
1.1. ASPECTOS RELEVANTE SOBRE A UVA: CARACTERÍSTICAS DO FRUTO, HISTÓRICO E PRODUÇÃO	22
1.1.2. Vale Submédio do São Francisco	23
1.1.3. A uva Syrah	24
1.2. A SEMENTE DE UVA	24
1.3. TOCOFEROIS	27
1.4. COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	31
1.5. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	32
1.6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO VEGETAL	33
1.6.1 Extração com sistema Soxhlet	34
1.6.2 Extração por Bligh e Dyer	35
1.6.3 Extração com Fluido Supercrítico	35
1.6.4 Ultrassom	38
Capítulo II	46
Artigo I- Estudo Prospectivo das Aplicações do Óleo De Semente de Uva a Partir de Mpeamento em Documentos de Patentes	46
INTRODUÇÃO	48
METODOLOGIA	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	55
Capítulo III	60
Efeito do pré-tratamento com ultrassom no rendimento e características químicas do óleo de semente de uva obtido por diferentes métodos.	61
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1. <i>Material</i>	64
2.2. <i>Amostras</i>	64

2.4. Extrações Soxhlet.....	66
2.5. Extração a Frio (Bligh & Dyer)	66
2.6. Determinação do rendimento do óleo	66
2.7. Análise de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa	66
2.8. Teor de Fenólicos Totais (Método de Folin-Ciocalteu).....	67
2.9. Extração com Fluido Supercrítico	67
2.10. Atividade Antioxidante	68
2.11. Análise Termogravimétrica	68
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.1 Determinação das condições de pré-tratamento.....	69
3.1.1. Rendimento dos óleos obtidos por Soxhlet e Bligh e Dyer em diferentes condições de pré-tratamento.....	69
3.1.2 Perfil de Ácidos Graxos	71
3.1.3. Determinação do Teor Fenólicos Totais	74
3.2 Comparação entre as metodologias de extração e pré-tratamento.....	75
3.2.1 Extração Supercrítica do óleo.....	75
3.2.2. Rendimento dos óleos obtidos por EFS com pré-tratamento por ultrassom e comparação com as metodologias Sox e BD.	76
3.2.3. Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante	77
3.2.4. Perfis de ácidos graxos obtidos por EFS e comparação com Sox e BD	80
3.2.5. Estabilidade Térmica.....	83
4.0 CONCLUSÃO.....	84
Capítulo IV.....	91
Artigo III- Quantificação de Vitamina E em óleo de semente uva: Efeito do ultrassom como pré-tratamento de extração.	91
Quantificação de Vitamina E em óleo de semente uva: Efeito do ultrassom como pré-tratamento de extração.....	92
1. INTRODUÇÃO	93
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	91
2.1. Material e Reagentes.....	95
2.2. Sementes de uva	95
2.3. Pré-tratamento da sementes de uva.....	95
2.4. Extração com Fluido Supercrítico	95
2.5. Extrações Soxhlet	96
2.6. Extração a Frio (Bligh & Dyer)	96

2.7. Análise de α -Tocoferol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	96
2.8. Análise Estatística	97
3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
4. CONCLUSÃO	100
Capítulo V	104
Conclusões Finais	104
ANEXO I Parâmetros selecionados para a análise de óleo de semente de uva por GC-MS.....	107

RESUMO

A indústria de processamento de uvas é responsável pela geração de 12 milhões de toneladas/ano de resíduos, dos quais aproximadamente 3 milhões corresponde a sementes, que podem causar sérios problemas ambientais, quando não devidamente descartados. No Brasil, a maior parte do bagaço de uva gerado em seu processamento, é tratado como resíduo com baixo valor ou descartado inadequadamente. No entanto, reaproveitar os resíduos da indústria do processamento de uva, particularmente as sementes de uva, é de grande interesse, pois da semente é possível extrair o óleo rico em ácidos graxos poli-insaturados, compostos fenólicos e antioxidantes naturais como a vitamina E. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do pré-tratamento por ultrassom em semente de uva, avaliando o rendimento e as características químicas e físicas do óleo obtido. O efeito das variáveis temperatura e tempo de aplicação do ultrassom nas sementes foi avaliado por meio de extrações por Soxhlet (Sox) e Bligh Dyer (BD). A Extração com Fluido Supercrítico (EFS) foi realizada de acordo com os parâmetros obtido nas extrações por Sox e BD, e os óleos obtidos pelas diferentes metodologias foram comparados. A técnica do ultrassom influenciou positivamente na extração do óleo, com aumento significativo de 32,1; 20,31; e 12,54% para rendimento e 311; 234; e 184% de fenólicos totais para os óleos obtidos por Sox, BD e EFS, respectivamente. A composição dos ácidos graxos obtidos por EFS apresentaram maiores proporções de ácidos graxos insaturados. A análise termogravimétrica indicou que o óleo obtido, para todos os métodos de extração avaliados, apresenta alta estabilidade térmica, sofrendo degradação em temperaturas acima de 370°C. A Vitamina E (expressa em α -tocoferol) foi separada e analisada usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detector UV. O pré-tratamento com ultrassom influenciou positivamente as amostras obtidas por EFS e BD contribuindo com um aumento de aproximadamente 56 e 99 %, respectivamente, no teor de α -tocoferol em comparação com a amostra sem tratamento. Este efeito positivo não foi observado na extração por Sox. O método EFS foi o mais eficiente na extração do α -tocoferol, sendo este 3,6 e 5,7 vezes (EFS: ST), e 11, 2 e 14,2 vezes (EFS:30-30) maiores em comparação as extrações por Sox e BD sem tratamento e com tratamento, respectivamente. Os resultados apresentados neste trabalho indicam que o pré-tratamento por ultrassom pode ser um meio viável para melhorar a eficiência da extração de óleo, obtenção de compostos fenólicos e Vitamina E a partir da semente de uva, válido para os três métodos estudados, desatacando a EFS que, além da eficiência, não necessita de solventes orgânicos.

Palavras-Chave: Vitis Vinifera. Extração Supercrítica. Resíduos Agroindustriais. Vitamina E.

ABSTRACT

The grapes processing industry is responsible for the generation of 12 million tonnes / year of waste, of which approximately 3 million corresponds to seeds, that can cause serious environmental problems when not properly discarded. In Brazil, most of the grape bagasse generated in its processing is treated as waste with low value or discarded inadequately. However, re-using waste from the grape processing industry, particularly grape seeds, is a great interest because from it is possible to extract the oil rich in polyunsaturated fatty acids, phenolic compounds and natural antioxidants such as vitamin E. The aim of this work was to study the effect of pre-treatment by ultrasound in grape seed and to evaluate not only the yield, but also the chemical and physical characteristics of the obtained oil. The effects of temperature and time of ultrasound on the seeds were evaluated by Soxhlet (Sox) and Bligh Dyer (BD) extractions. The Supercritical Fluid Extraction (SFE) was performed according to the parameter obtained by Sox and BD extractions, and the oils obtained by the different methodologies were compared. Ultrasound pretreatment was highly effective in the oil extraction, not only increasing significantly oil yield (32.1; 20.31; 12.54%), but also total phenolic content for the oils (311; 234; 184%) to the oils obtained by Sox, BD and SFE, respectively. The fatty acids composition by SFE showed higher proportions of unsaturated fatty acids. The gravimetric analysis indicated that the obtained oil, for all extraction methods evaluated, presents high thermal stability, suffering degradation at temperatures above 370 ° C. Vitamin E (expressed as α -tocopherol) was separated and analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with UV detector. The pre-treatment with ultrasound has positively influenced the samples obtained by EFS and BD contributing with an increase of approximately 56 and 99%, respectively, in the α -tocopherol content in comparison with the sample without treatment (WT). This positive effect was not observed in Sox extraction. The SFE method was the most effective in the extraction of α -tocopherol, being 3.6 and 5.7 times (SFE: WT), and 11, 2 and 14.2 times (SFE: 30-30) higher in comparison to extractions by Sox and BD without treatment and treatment, respectively. The results presented in this work indicate that the pre-treatment by ultrasound can be a viable means to improve the efficiency of the extraction of oil, obtaining of phenolic compounds and Vitamin E from the grape seed, valid for the three methods studied, it is EFS that, in addition to efficiency, does not require organic solvents.

Keywords: VitisVinifera. Supercritical Extraction. Agroindustrial Waste. Vitamin E

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Estruturas químicas dos ácidos graxos cis-linoléico (n-6) e α -linolênico (n-3)	26
Figura2. Estrutura química do tocoferol e tocotrienol	28
Figura 3. Esquema de um aparelho de extração Soxhlet indicando os trajetos de vapor e líquido de extração.....	34
Figura 4. Diagrama de fase de fluido.....	36
Figura 5. Estágios do Processo de Extração Supercrítica.....	37
Figura 6. Unidade de Extração Supercrítica. Equipa mento Piloto utilizado neste trabalho, STF-110.....	38
Figura 7. Representação esquemática da propagação das ondas ultrassônicas.....	39

Capítulo II

Figura 1. Número de patentes por Código de Classificação Internacional.....	50
Figura 2. Evolução anual de depósito de patentes.....	52
Figura 3. Principais países depositantes de patentes.....	53
Figura 4. Inventores com mais patentes depositadas.....	54
Figura 5. Principais depositantes referente e tecnologia estudada	54
Figura 6. Principais depositantes referente e tecnologia estudada.....	55
Figura 7. Principais aplicações do óleo de semente de uva	57

Capítulo III

Figura 1. Resultado do rendimento do óleo de semente de uva por (A) Soxhlet e (B) Bligh e Dyer em diferentes condições de tempo e temperatura com sonicação constante (50-60Hz)	69
Figura 2. Concentração de Fenólicos Totais em óleo de semente de uva (A) Soxhlet e (B)	

Bligh Dyer em diferentes tempos de exposição e temperatura, com sonicação constante (50-60Hz)73

Figura 3. Rendimento dos óleos de semente de uva para as extrações supercrítica (ESC), Soxhlet (sox) e Bligh Dyer (BD) da amostra controle (ST) e com pré-tratamento (30-30)77

Figura 4. Teor de Fenólicos Totais dos óleos obtidos por extrações supercrítica (ESC), Soxhlet (sox) e Bligh Dyer (BD) para amostra controle (ST) e com pré-tratamento (30-30).....78

Figura 5. Curvas de TGA e DTG do óleo de semente de uva.....83

CAPITULO IV

Figura 1. Cromatograma da solução padrão de α -tocoferol e óleo de sementes de uva obtido por HPLC-DAD.....97

Figura 2- Concentração de α -tocoferol (mg/100 g de óleo) obtida para o óleo de sementes de uva por diferentes métodos.....98

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Produção de uva nos estados brasileiros expresso em toneladas23

Tabela 2. Principais sobre o conteúdo de α -tocoferol em óleo de semente de uva.....30

Capítulo II

Quadro 1. Quadro 1 - Busca de patentes depositadas por códigos de classificação internacional de patentes ou por combinação com palavras-chave na base de dados Espacenet®.49

Quadro 2. Instituições depositantes e suas respectivas patentes.....55

Capítulo III

Tabela 1. Condições de pré-tratamento por ultrassom (Frequência de 50-60 Hz) empregadas nas sementes de uva (var. Syrah).....65

Tabela 2. Somatório dos Ácidos Graxos do óleo de semente de uva obtido por Soxhlet.....73

Tabela 3. Somatório dos Ácidos Graxos do óleo de semente de uva obtido por Bligh e Dyer.....73

Tabela 4. Teor de fenólicos totatis e atividade antioxidante para óleos de sementes de uva extraídos por Extração Supercrítica (ESC), Soxhlet (Sox) e Bligh e Dyer (BD), sem tratamento (ST) e com tratamento por ultrassom (30:30).....79

Tabela 5. Perfil de Ácidos Graxos majoritários dos óleos obtidos por ESC, Soxhlet e Bligh e Dyer.....82

1. INTRODUÇÃO

A viticultura é uma atividade economicamente importante em um mundo globalizado. A uva é uma das frutas mais consumidas no mundo, seja na forma in natura, seja na forma processada (EMBRAPA, 2014). Mundialmente, cerca de 70% da cultura de uva que é processada, é destinada especialmente para a produção de vinhos. Contudo, o processamento da uva gera grandes quantidades de resíduos (casca, pele e sementes), que embora seja biodegradável, requer tempo para mineralizar, constituindo assim uma potencial fonte de poluentes para o meio ambiente (ROKENBACH et al. 2011).

No Brasil, a maior parte do bagaço de uva gerado em seu processamento, é tratado como resíduo com baixo valor, sendo utilizado, por exemplo, para a ração animal ou descartados inadequadamente, podendo gerar problemas ambientais (ROKENBACH et al. 2011; SOUZA, 2013). A importância de se aprofundar em estudos voltados aos resíduos agroindustriais como fonte de compostos bioativos, está relacionado à valorização dos resíduos para obtenção de novos produtos de alto valor agregado. Reaproveitar os resíduos da indústria do processamento de uva, particularmente as sementes de uva, é de grande interesse, pois da semente é possível extrair o óleo rico em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (PUFAs), antioxidantes naturais como a vitamina E, compostos fenólicos, como ácido gálico, catequinas, epicatequinas e uma grande variedade de procianidinas, com possíveis efeitos benéficos à saúde humana (FREITAS et al., 2008; BERES et al., 2017; COELHO et al., 2018). O óleo de semente de uva corresponde de 10 a 20% do peso da semente, e possui um ponto de fumaça usualmente alto (entre 190–230°C) o que o torna apropriado para cocção a em temperaturas altas (BAIL et al., 2008). A utilização das sementes de uva na extração de óleos contribui para a produção de um óleo de alta qualidade, com potencial aplicação indústria de alimentos, farmacêutica, química ou de cosméticos, além de poder ampliar a disponibilidade de produtos e atender as necessidades emergentes de novas fontes de óleos (MAIER et al., 2009).

A qualidade e composição dos extratos de produtos naturais estão fundamentalmente relacionadas com a técnica de extração empregada na sua preparação. Os óleos vegetais na indústria são extraídos por prensagem a frio ou por extração com solvente orgânico. A extração por prensagem a frio é usada quando o conteúdo de óleo na matéria-prima supera 20% e há demanda de uma grande quantidade de energia. Quando o conteúdo de óleo não supera este valor, a extração com solvente orgânico se torna vantajosa, sendo a extração com hexano a mais usada, devido ao baixo ponto de ebulição desse solvente. No entanto, esta

tecnologia de extração demanda grande quantidade de energia para o processo de evaporação do solvente que, além disso, é caro e inflamável (RAMALHO; SUAREZ, 2013, BARRALES et al., 2015).

O alto consumo de energia e/ou o uso de solventes tóxicos são deficiências nas tecnologias de extração tradicionais que têm forçado as indústrias químicas e de alimentos a investigar novas técnicas de separação "verdes", que usem menor quantidade de solventes e energia (MACHADO et al., 2013). Entre as diversas técnicas destaca-se a Extração com Fluido Supercrítico (EFS), que vem sendo reportada como uma alternativa economicamente viável para a extração de compostos de produtos naturais e de alimentos e tem demonstrado eficiência na extração de óleos de sementes de frutas. Apresenta algumas vantagens em relação aos processos convencionais, como o menor consumo de solvente e reduzido tempo de extração, além de possibilitar o controle da seletividade do processo, que são aspectos relevantes para a produção de compostos específicos de interesse de determinado setor da indústria (MACHADO et al., 2013; PEREIRA et al., 2017).

Visando aprimorar o processo de extração, Barrales et al. (2015) relatam ter utilizado tecnologia de ultrassom, combinado com a EFS, no processo de obtenção de óleo de sementes advindos de resíduo agroindustrial. Um dos efeitos do ultrassom é proporcionar o aumento temporário da permeabilidade da membrana celular, facilitando a entrada do solvente na matriz, podendo esta ser aliada aos métodos convencionais de extração para um melhor rendimento dos componentes químicos de interesse na matriz avaliada (BARRALES et al., 2015; CHEMAT et al., 2017).

Na literatura, alguns trabalhos estudaram a extração do óleo de semente de uva e seus compostos fenólicos usando extração assistida por ultrassom (PALMA; BARROSO, 2002; FREITAS, 2007; DA PORTO et al., 2013). No entanto, não foi encontrado nenhum trabalho aplicando a técnica do ultrassom como um pré-tratamento combinado a outros métodos para a extração do óleo de semente de uva. Diante do exposto, o trabalho desenvolvido pretende avaliar a influência do pré-tratamento com ultrassom aplicado em sementes de uva, da variedade *Syrah*, submetidas a extração por Soxhlet, Blich Dyer e Extração com Fluido Supercrítico. Para isso, nos ensaios de extração foram avaliados: o efeito das variáveis (tempo e temperatura de ultrassom) sobre o rendimento total dos óleos, a composição em ácidos graxos do óleo de semente de uva obtido, de forma a se investigar a influência destes parâmetros na recuperação do componente majoritário, ou seja, o ácido linoléico, avaliação do teor de fenólicos totais, atividade antioxidante, análise termogravimétrica e Vitamina E.

REFERÊNCIA

- BAIL, S., STUEBIGER, G., KRIST, S., UNTERWEGER, H., BUCHBAUER, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1122-1132, 2008.
- BARRALES, F. M., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183-192, 2015.
- BERES, C., COSTA, G. N., CABEZUDO, I., DA SILVA-JAMES, N. K., TELES, A. S., CRUZ, A. P., FREITAS, S. P. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.
- CHEMAT, F., ROMBAUT, N., SICAIRE, A. G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A. S., ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.
- COELHO, J. P., FILIPE, R. M., ROBALO, M. P., STATEVA, R. P. Recovering value from organic waste materials: supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2017.
- DA PORTO, C., PORRETTO, E., DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076-1080, 2013.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA — EMBRAPA. **Bagaço de uva vira alimentos funcionais**. Brasília, 2014.
- FERNANDES, L., CASAL, S., CRUZ, R., PEREIRA, J. A., RAMALHOSA, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161-166, 2013
- FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração de óleo de sementes uva e caracterização química dos compostos extraídos**. Porto Alegre, 2007, 205 p. Tese (Doutora em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- FREITAS, L., DE OLIVEIRA, J. V., DARIVA, C., JACQUES, R. A., CARAMÃO, E. B. Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 2558-2564, 2008
- MACHADO, B. A. S., PEREIRA, C. G., NUNES, S. B., PADILHA, F. F., UMSZA-GUEZ, M. A. Supercritical fluid extraction using CO₂: main applications and future perspectives. **Separation Science and Technology**, v. 48, n. 18, p. 2741-2760, 2013.

MAIER, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., Carle, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 551-559, 2009.

PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. **Analytica Chimica Acta**, v. 458, n. 1, p. 119-130, 2002.

PARDO, J. E.; FERNÁNDEZ, E.; RUBIO, M.; ALVARRUIZ, A.; ALONSO, G. L. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). **Europe Journal of Lipid Science Technology**, v. 111, n. 2, p. 188-193, 2009

PASSOS, C. P., SILVA, R. M., DA SILVA, F. A., COIMBRA, M. A., SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitis vinifera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 2, p. 634-640, 2010.

PEREIRA, M. G., HAMERSKI, F., ANDRADE, E. F., SCHEER, A. D. P., CORAZZA, M. L. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338-348, 2017.

PINTADO, M. E.; TEIXEIRA, J. A. Valorização de subprodutos da indústria alimentar: obtenção de ingredientes de valor acrescentado. **Boletim de biotecnologia**, n. 6, p. 10-12, 2015.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2012.

ROCKENBACH, I. I., RODRIGUES, E., GONZAGA, L. V., CALIARI, V., GENOVESE, M. I., GONÇALVES, A. E. D. S. S., FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174-179, 2011.

SOUZA, V. B. **Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

2.0 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência da técnica de ultrassom no pré-tratamento de sementes de uva (var. *Syrah*), em diferentes condições, submetidas a diferentes métodos de extração (Soxhlet, Bligh e Dyer e EFS) verificando o rendimento e características físico-químicas do óleo obtido.

2.2. Objetivos Específicos

1. Realizar prospecção em documentos de patentes depositadas no mundo baseada nas aplicações do óleo de semente de uva;
2. Estabelecer a melhor condição (tempo, temperatura) da aplicação do ultrassom como pré-tratamento utilizando as metodologias de Soxhlet e Bligh Dyer avaliando:
 - a. Rendimento
 - b. Teor de fenólicos totais
 - c. Perfil de ácidos graxos.
3. Aplicar a melhor condição estabelecida pelo pré-tratamento do ultrassom na Extração com Fluido supercrítico.
4. Comparar as características químicas e físicas dos óleos obtidos com e sem pré-tratamento por EFS, Soxhlet e Bligh Dyer avaliando:
 - a. Rendimento
 - b. Teor de fenólicos totais,
 - c. Perfil de ácidos graxos,
 - d. Capacidade antioxidante
 - e. Análise termogravimétrica
5. Quantificar Vitamina E presente nos óleos por HPLC.

Capítulo I

Revisão Bibliográfica

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. ASPECTOS RELEVANTES SOBRE A UVA: CARACTERÍSTICAS DO FRUTO, HISTÓRICO E PRODUÇÃO.

A uva é um fruto não climatérico composto por água, açúcares (principalmente glicose, frutose e sacarose), ácidos orgânicos (tartárico, málico, ascórbico, cítrico e fosfórico), compostos nitrogenados, antocianinas, tanino, pectinas, vitaminas, sais minerais e substâncias aromáticas. Durante a maturação acontecem modificações na composição dos constituintes tais como: aumento nos teores de açúcares, diminuição de taninos e ácidos do fruto e consequentemente formação de aromas (AMORIM, 2016). O cacho de uva é composto basicamente das bagas e do talo ramificado. As bagas apresentam forma arredondada ou oval e a cor varia com as diversas classes de uvas entre um verde amarelado e um vermelho azulado escuro. Os pigmentos das bagas vermelhas ou azuis são encontrados somente nas células exteriores da pele da uva, enquanto a polpa da uva não é pigmentada da mesma forma (SOUZA, 2013).

Existem, no mundo, milhares de variedades de uvas, porém maioria delas pertence à espécie *Vitis vinifera*, originária do Cáucaso, de onde foi difundida por toda a costa mediterrânea há centenas de anos (CAMARGO et al. 2016). A viticultura brasileira começou a se consolidar apenas em meados do século XIX, com o cultivar de uva americana Isabel (*Vitis labrusca*) devido a sua característica rústicas e alta produtividade (CAMARGO et al. 2016). A partir do século XX com a chegada dos imigrantes italianos, a cultura passou a ter importância comercial (AMORIM, 2016).

O Brasil é o 13º maior produtor de uvas no mundo, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), ocupando em 2015 uma área cultivada com videiras de aproximadamente 79 mil hectares. Em 2017, o Brasil teve a maior produção de uvas da história vitícola brasileira, chegando a produzir mais de 1 milhão e 600 mil toneladas. O Rio Grande do Sul, em 2017 teve um aumento produção cresceu 128,75% em relação ao ano de 2016 e aumentou 9,21%, em relação ao ano de 2015. O estado de Pernambuco apresentou crescimento de 60,64% em relação ao ano de 2016, e o estado da Bahia, ano de 2017, produziu 18,57% inferior à produção verificada em 2016, mas ainda assim se destaca como o 6º maior produtor de uvas do Brasil (MELLO, 2017).

A produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 818.783 toneladas em 2017, representando 48,74% da produção nacional de uvas. O restante

da produção (51,26%) foi destinado ao consumo in natura. A tabela 1 mostra a produção brasileira de uva, nos últimos três anos, e as contribuições dos principais Estados produtores.

Tabela 1. Produção de uva nos estados brasileiros expresso em toneladas

Estado	2015	2016	2017
Rio Grande do Sul	876.286	413.640	956.913
Pernambuco	237.367	242.967	390.300
São Paulo	142.063	144.110	133.118
Santa Catarina	69.189	33.849	65.800
Paraná	69.035	66.000	56.295
Bahia	77.401	62.740	51.090
Minas Gerais	12.615	11.224	13.070
Goiás	3.492	2.566	1.974
Brasil	1.487.448	977.096	1.688.560

Fonte: Adaptado IBGE dados de 2017.

Embora presente em vários estados, a vinícola brasileira se concentra em poucas regiões, tais como: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Sul de Minas e vale do São Francisco (MELLO, 2016). O Estado do Rio Grande do Sul, responsável por quase 65% da produção de uvas brasileiras, destina quase toda a sua produção para a agroindústria do vinho e suco de uva (MELLO, 2016).

1.1.2. Vale Submédio do São Francisco

O Vale Submédio do São Francisco (VSF), no semiárido de Pernambuco e da Bahia, é uma região que tem se destacado devido aos investimentos em irrigação, pesquisa, produção, exportação de frutas, hortaliças e vinhos. Esse destaque pode ser explicado pela favorável condição de clima e solo da região, bem como a sua abundância de recursos hídricos (JULIÃO; BRANCO; LIMA, 2017).

O VSF é pioneiro na produção de uvas e vinhos de regiões tropicais no Brasil, e a produção regional de vinhos vem se desenvolvendo desde a década de 80, com base nas cultivares de uvas tintas *Syrah* e *Alicante Bouschet* e de uvas brancas *Chenin Blanc* e *Moscato Canelli* (CAMARGO, et al., 2010). O Vale vem se destacando como modelo desenvolvimento para o Nordeste, sendo responsável por 99 % das exportações nacionais de

uvas finas de mesa. A vinicultura pernambucano-baiana detém 15 % do mercado nacional vinhos, onde produzem as variedades: *Syrah* e *Cabernet Sauvignon*, apresentando vinhos com tipicidade própria, que devida às condições climáticas peculiares da região possibilita a elaboração de vinhos diferentes e de alta qualidade (PEREIRA et al., 2009). Essa diferenciação representa uma forma de agregar valor à matéria-prima e aos produtos advindos dela, bem como ampliar o potencial de aproveitamento de subprodutos do processo agroindustrial (LIMA et al., 2014).

1.1.3. A uva Syrah

A cultivar *Syrah* ou *Shiraz* é uma das principais variedades de uva utilizada na elaboração de vinhos. Esta variedade é originária do Vale do rio Rhône, na França. Embora a *Syrah* tenha ganhado força na região sul da França, atualmente, está presente em diversas vinícolas ao redor do mundo. Esta variedade possui um curto período de maturação, é muito vigorosa, produtiva, respondendo bem em regiões quentes. Nos últimos anos, ela se tornou uma das dez principais uvas cultivadas por hectare no mundo (GUERRA, et. al. 2013).

No Nordeste é bem cultivada, sendo a principal cultivar para elaboração de vinhos finos no VSF, sendo responsável por 65% da produção (CAMARGO et al., 2010; VASCONCELOS, 2017). Essa cultivar produz vinhos de características próprias, que são cada vez mais realçadas pelas condições climáticas locais. Aliado a isso, considera-se a possível produção diferenciada de compostos bioativos em suas bagas (VASCONSELOS, 2017).

1.2. A SEMENTE DE UVA

O bagaço de uva é um resíduo industrial composto por cascas, semente e engaços, obtido a partir do processo de fabricação de vinho e sucos (BERES et al., 2017). No bagaço da uva tem-se um co-produto de alto valor agregado: a semente de uva, que representam entre 2 e 5% do peso da uva e constituem aproximadamente de 38% a 52% dos resíduos sólidos gerados pelas indústrias vinícolas (BRENES et al., 2016). As sementes contêm uma variedade de substâncias biologicamente ativas e ricas em compostos fenólicos como catequina e epicatequina (MOHAMED et al., 2016; BOSO et al., 2018), além de possuírem uma considerável quantidade de óleo com potencial nutricional (ROMBAUT et al., 2014; DUBA; FIORI, 2015) baseado em seu alto nível de instaurações e alto conteúdo de tocoferóis (FREITAS et al., 2008).

O conteúdo lipídico de uma semente de uva gira em torno de 8 a 20 %, além de possuir 35 % de fibras, 11 % de proteínas, 3 % de minerais, 7 % de água e aproximadamente

29 % de compostos minoritários como fitosteróis, compostos fenólicos e tocoferóis (ROMBAUT et al., 2014; MAIER et al., 2009). Porém, as concentrações e composição química variam de acordo com a variedade e tipo de uva, regiões onde foram produzidas, safra, intensidade da prensagem sofrida no processo industrial e condições geoclimáticas (BERES et al., 2017).

1.2.1. Óleo de Semente de uva

Óleos são misturas complexas, não voláteis, de componentes lipídico insolúveis em água e obtidos geralmente de sementes (TEMELLI, 2009). Segundo a ANVISA, óleos e gorduras vegetais são "produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal(is). Podem conter pequenas quantidades de outros lipídios como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura". A diferença entre óleo e gordura está no estado físico à temperatura ambiente, sendo líquido para os óleos e sólido ou pastoso para as gorduras (BRASIL, 2005).

O óleo de semente de uva se destaca pelo seu conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), fontes de ácidos graxos essenciais (AGE) e costuma também conter substâncias antioxidantes, o que sugere um grande valor nutricional (OOMAH et al., 1998; BERES et al., 2017). Segundo Fernandes et al. (2013), o óleo de semente de uva possui elevado conteúdo de AGPI, na faixa de 85 a 90 %; dentre os quais, destaca-se o ácido linoléico (C18:2). O ácido linoléico está presente de forma abundante nos óleos vegetais, como o de girassol (cerca de 60 %), milho (aproximadamente 52 %), soja (em torno de 50 %) e também do açafrão geneticamente modificado (próximo de 70 %).

Este óleo possui um ponto de fumaça usualmente alto (entre 190-230°C) o que o torna apropriado para cocção a altas temperaturas (BAIL et al., 2008). O produto vem ganhando popularidade na culinária internacional, produzidos especialmente na Itália, Espanha e França, e estudado como uma possível fonte de lipídios especiais (LUTTEROT et al., 2011) sendo também fonte potencial componentes de grande importância biológica, devido ao seu teor de Vitamina E, antioxidante natural, e de compostos fenólicos com possíveis efeitos benéficos à saúde humana (MAIER et al., 2009; BERES et al., 2017).

1.2.2. Ácidos Graxos

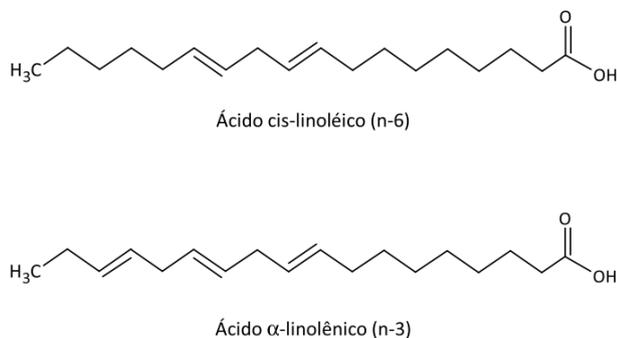
Óleo de sementes de uva é constituído principalmente de triglicerídeos e ácidos graxos (CAO; ITO, 2003). Estruturalmente, os lipídios são formados por uma molécula de glicerol na

qual estão esterificadas uma (monoacilglicerol), duas (diacilglicerol) ou três (triacilglicerol) moléculas de ácidos graxos. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos constituídos de cadeias de hidrocarbono com um grupo carboxila terminal. Eles se diferenciam pelo comprimento da cadeia e o número, posição e configuração das duplas ligações. São denominados ácidos graxos saturados na ausência de duplas ligações, ácidos graxos monoinsaturados pela presença de uma insaturação e ácidos graxos poli-insaturados pela presença de duas ou mais insaturações (YOUDIM; MARTIN; JOSEPH, 2000).

Na natureza, quatro ácidos graxos formam cerca de 95% dos ácidos que se encontram nos diversos tipos de lipídeos, sendo eles: ácido palmítico (C16), ácido esteárico (C18), ácido oléico (C18:1) e ácido linoléico (C18:2) (AGOSTINI, 2014). Estes os ácidos graxos são importantes não apenas por ser considerados uma efetiva fonte de energia, mas também pela relação de ácidos graxos saturados e insaturados que é muito importante. Enquanto altos níveis de ácidos graxos saturados são desejáveis para aumentar a estabilidade de óleos, por outro lado, nutricionalmente, eles são indesejáveis, porque a ingestão de altos níveis de ácidos graxos saturados é frequentemente associada a problemas cardiovasculares (KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016).

Alguns dos ácidos graxos insaturados produzem efeitos especiais no organismo vivo e são denominados ácidos graxos essenciais. Estes ácidos graxos não podem ser sintetizado pelo organismo humano e, desta forma, devem ser obtidos pela dieta uma vez que são essenciais à vida. Existem dois tipos de ácidos graxos essenciais, a série dos ácidos graxos n-6, derivada do ácido cis-linoléico (C18:2), e a série dos n-3, derivada do ácido α -linolênico (C18:3) (DUBOIS et al., 2007; SILVA, 2014). As estruturas químicas dos ácidos graxos n-6 e n-3 são apresentadas na Figura 1.

Figura 1. Estruturas químicas dos ácidos graxos cis-linoléico (n-6) e α -linolênico (n-3).



Fonte: Adptado Pereira, 2017.

Estes ácidos graxos são importantes para a prevenção de doenças cardiovasculares, são antitrombóticos, anti-inflamatórios e favorecem a estabilização das plaquetas. A indústria de alimentos tem procurado fontes alternativas de óleos contendo estes compostos para melhorar o perfil de ácidos graxos essenciais do produto final (DUBOIS et al., 2007).

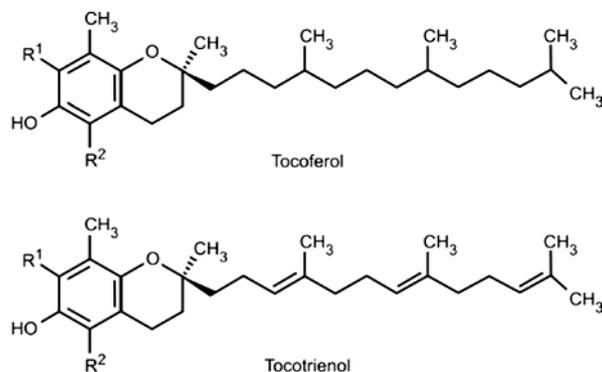
A composição de ácidos graxos do óleo de semente de uva pode apresentar diferenças entre as regiões de cultivo. Pardo et al. (2009) caracterizaram óleos de sementes de quatro variedades de uva cultivados na Espanha, extraída a frio, e obtiveram o ácido linoléico como ácido graxo majoritário em todas as amostras, variando entre 60,64% e 69,16%. O ácido oléico foi o segundo mais abundante, variando entre 16,07% e 24,88. Fernandes et al. (2013) avaliaram 10 variedades de uvas cultivados em Portugal, sendo os óleos compostos principalmente por ácido linoléico (entre 63% e 73,1%), seguido por ácido oléico, palmítico, esteárico dentre outros ácidos graxos minoritários.

Freitas et al. (2013); Da Porto et al. (2015), Coelho et al. (2018) também se referem ao ácido linoléico como o ácido graxo majoritário no óleo de semente de uva. Segundo os autores, o óleo de semente uva é um dos mais ricos em ácido linoléico, sendo comparável apenas ao óleo de semente de girassol.

1.3. TOCOFEROIS

A vitamina E natural é composta por oito substâncias diferentes. Estas substâncias pertencem a dois grupos de compostos: os tocoferóis e os tocotrienóis. Ambos são derivados do anel cromanol e possuem uma cadeia lateral constituída de 16 átomos de carbono, conferindo a característica lipossolúvel destes compostos. A diferença entre as duas classes está na presença de três duplas ligações na cadeia carbônica dos tocotrienóis, enquanto os tocoferóis apresentam cadeia alifática saturada. Tanto os tocoferóis quanto os tocotrienóis ocorrem em uma variedade de isômeros que são diferenciados de acordo com o número e localização dos grupos substituintes no anel cromanol e designados como alfa (α -), beta (β -), gama (γ -) e delta (δ -) (DUNFORD, 2001; MALACRIDA; JORGE, 2012), conforme a Figura 2.

Figura 2. Estrutura química do tocoferol e tocotrienol.



Isômeros	R1	R2
α	-CH ₃	-CH ₃
β	-H	-CH ₃
γ	-CH ₃	-H
δ	-H	-H

Fonte: DUNFORD, 2001.

Os óleos vegetais são a principal fonte de vitamina E da alimentação humana, que contém em média 70-1900 mg de tocoferóis totais por quilograma de óleo (FREIATS et al., 2008 ; PEREIRA et al., 2017). O α -tocoferol é a forma mais comum e a mais estudada da vitamina E, devido á elevada atividade biológica deste isômero e por ser o mais eficiente antioxidante in vivo, porém, apresenta fraca atividade antioxidante in vitro. A vitamina E apresenta-se como sendo α -tocoferol, pois é a forma mais absorvida pelo metabolismo humano, além disso, eventuais deficiências nesse nutriente são, normalmente, corrigidas com suplementação de desta vitamina (FREITAS et al., 2008). No corpo humano, a vitamina E previne a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados e de componentes lipídicos das células (CREWS et al., 2006). A presença desses compostos é importante para a estabilidade dos óleos bem como pelos benefícios nutricionais e possíveis efeitos a saúde relacionados ao consumo de óleos (SABIR; UNVERB; KARA 2012).

O óleo de semente de uva tem a vitamina E como um dos seus componentes básicos que o torna resistente à degradação oxidativa (FREITAS et al., 2008). A Tabela 2 apresenta os principais trabalhos com óleo de semente de uva relativo ao teor de Vitamina E, expressa como α -tocoferol. De acordo com a Tabela 2 foi observado que a quantidade de Vitamina E nos óleos varia de acordo com a variedade da uva, e sua metodologia de extração. Os óleos

extraídos por extração com Fluido Supercrítico e por Soxhlet, apresentam resultados com maiores quantidades de α -tocoferol. No entanto a variedade da uva e as condições de extração aplicada (pressão, temperatura, solvente, tempo de extração) influenciam diretamente no conteúdo de vitamina E.

Tabela 2. Principais trabalhos sobre o conteúdo de α -tocoferol em óleo de semente de uva.

Variedade da semente	Método de Extração	α- tocoferol (mg.100g⁻¹óleo)	Referência
Barbera Malbec, Gamay, Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Merlot e Cabernet Franc.	ESC-CO ₂ 37 MPa, 65 °C	7,67-30,9 mg/100g	Beveridge et al. (2005)
	Soxhlet- hexano	3,0- 27,2 mg/100g	
IBariño, Caíño Blanco e Loureira	Prensagem a Frio	2,9-5,5 mg/100g	Boso et al. (2018)
Merlot, Cabernet, Sauvignon, Cabernet Franc, Raboso, Prosecco Verduzzo, Pinot Grigio, Chardonnay e Pinot	ESC-CO ₂ , 25 MPA, 40-80 °C	3,6-26,5 mg/100g	Bravi et al. (2007)
30 variedades de uvas Europeias	Hexano	0,1- 22,9 mg/100g	Crews et al. (2006)
Aragonês, Cornifesto, Marufo, Periquita, Tinta Barroca, Tinta Carvalha, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional e Trincadeira Preta	Soxhlet-Éter de Petróleo	8,5-24, 4 mg/100g	Fernandes et al. (2013)
Isabel	Extração Líquido Pressurizado	0,61-5,67 mg/100g	Freitas et al. (2008)
Barbera , Chardonnay , Moscato, Muller Thurgau, Nebbiolo, e Pinot Noir	ESC-CO ₂ , 500 bar, 50°C	5,1-19,6 mg/100g	Fiori et al. (2014)
	Soxhle -hexano	2,7-10,6 mg/100g	
Cabernet Franc.	ESC- CO ₂ , 15 bar, 25°C	3,65 mg/100g	Jokic et al. (2016)
Barbera, Chardonnay , Muller, Thurgau, Muscat , Nebbiolo, e Pinot Noir	ESC-CO ₂ , 50 MPa, 50 °C	8,7-17,2 mg/100g	Mohamed et al.(2016)
Merlot	Éter de Petróleo	0,59-3,59 mg/100g	Oomah et al. (1998)
Merlot, Muscat e Bailey	Metanol e clorofórmio	10,8-36,1 mg/100g	Shiozaki; Murakami (2016)
Isabel	Bligh e Dyer	1,23 mg/100g	Silva; Jorge (2014)
17 variedades de Vitis vinifera L.	Soxhlet- hexano	13,51-26,05 mg/100g	Sabir, Unverb, Kara (2012)
Uvas Brasileiras	Prensagem a frio	1,33 a 1,76 mg/100 g	Shinagawa et al. (2015)

Fonte: Autoria Própria

1.4. COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os compostos fenólicos são quimicamente definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Estes compostos participam diretamente na composição qualitativa dos frutos e de seus derivados. A cor é o principal atributo originado dos polifenóis, porém, a adstringência, estabilidade e a acidez também estão relacionados aos mesmos, enquanto numerosos estudos também relataram seus benefícios relacionados à saúde (VILKHU et al., 2008; OLIVEIRA, 2010; HOGERVORST et al., 2017).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende da sua estrutura, particularmente do número da posição dos grupos hidroxila e da natureza das substituições nos anéis aromáticos (OLIVEIRA, 2010; ROCKENBACH et al., 2011). Existem cerca de 8.000 diferentes compostos fenólicos e a maior parte dos compostos fenólicos encontrados em uvas e vinhos pertence a dois grupos: flavonóides (antocianinas, flavonóis e flavanóis) e ou os não-flavonóides (estilbenos) (OLIVEIRA, 2010; SOUZA 2013).

Nas uvas, esses compostos são encontrados principalmente nas camadas internas de cascas e sementes de uva, sendo que seu conteúdo na polpa é usualmente muito baixo, apresentando a seguinte porcentagem de compostos fenólicos que podem ser extraídos de uvas: 10% ou menos na polpa, 60-70% nas sementes e 28-35% nas cascas (AGOSTINI et al., 2012).

Muitos trabalhos tem estudado os aspectos qualitativos e quantitativos destes compostos em subprodutos do processamento da uva, e esses estudos tendem a aumentar em posse do conhecimento de que os fenólicos foram incluídos na categoria de neutralizadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação (JAYPRAKASHA et al., 2001), além de possuírem atividade anti-inflamatória, anti-carcinogênica (GUERRERO et al., 2009) anti-úlceras, anti-mutagênica, bactericida, bem como, propriedades antioxidantes tanto para alimentos quanto para o organismo (FREITAS et al., 2008; GUERRERO et al., 2009; OLIVEIRA, 2010).

Os antioxidantes encontrados nos subprodutos da uva são compostos químicos que limitam os efeitos negativos ao organismo, pois possuem capacidade de reagir com os radicais livres (AMORIM, 2016). Dessa forma, a atividade antioxidante, pode ser entendida como a capacidade de certos compostos, em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, dificultar ou inibir as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, e também operar como agentes redutores e bloqueadores de radicais livres (DIAS et al., 2015).

Existem diversas substâncias com potencial antioxidante dificultando assim a padronização de um método para a quantificação do potencial antioxidante. No entanto para determinar a atividade antioxidante em subprodutos da uva, tem-se normalmente usado o método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), conforme a recomendação da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) que sugere o uso de um método colorimétrico sensível de captura de radicais livres usando o reagente DPPH. Este método baseia-se no princípio de que o radical DPPH, sendo um radical de coloração violeta, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de antioxidantes e adquirindo coloração amarela. Na literatura são encontrados estudos que avaliaram a capacidade de sequestro de radicais de vinhos, uvas e seus subprodutos através deste método (OLIVEIRA et al., 2010; DA PORTO et al., 2012; BURIM et al., 2013; JORGE; SILVA, 2014; LIMA et al.2014).

Bail et al. (2008) analisaram o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de 8 amostras de óleo de semente de uva produzidos na Áustria a partir de resíduos de diversas vinícolas. O teor de fenólicos totais, determinado pelo método Folin–Ciocalteu, nas amostras foi similar aos observados em óleos de oliva, variando entre 50,0 e 115,1 µg/g EAG (Equivalentes de Ácido Gálico). A capacidade antioxidante dos óleos, variou entre 0,09 e 1,16 µg/g. O teor de compostos fenólicos totais encontrados por Pardo et al. (2009) nos óleos variou entre 10,68 mg/kg (Monastrell) e 18,17 mg/kg (Petit Verdot). Quando os resíduos foram secos sob fluxo de ar forçado, o teor de fenólicos totais praticamente triplicou no óleo, sendo de 34,43 mg/kg para o varietal Monastrell, demonstrando que um pré-tratamento na semente antes da extração pode contribuir para o aumento no teor de fenólicos. Silva e Jorge (2014) avaliaram pelo método DPPH a atividade antioxidante do óleo de semente de uva Isabel, produzidas no Brasil e encontraram concentração de 47,01 mg/mL.

1.5. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A termogravimetria ou análise termogravimétrica é definida como um processo contínuo que mede uma variação de massa que ocorre na amostra em função do tempo (sob temperatura constante) ou em função da temperatura (SANTOS, 2002) . O estudo da variação de massa de uma amostra pode ser resultante de uma transformação física (sublimação, e vaporização,condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura (GONDIM, 2009). Já a termogravimétrica derivada (DTG), nada mais é que um arranjo matemático no qual a derivada da variação de massa em relação ao

tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo. Em outros termos, a DTG é a derivada primeira da TG (DENARI; CAVALHEIRO, 2012).

Dentre as muitas aplicações de análise térmica (TG, DTG), pode-se citar: estudo da decomposição térmica de compostos orgânicos, inorgânicos e de substâncias poliméricas; destilação e evaporação de líquidos; determinação da velocidade de evaporação e sublimação; estudo de cinética de reação e determinações de pressão de vapor e calor de vaporização (DENARI; CAVALHEIRO, 2012). Pode-se perceber, então, que a utilização dessa técnica abrange diversas atividades industriais como: de alimentos, cosmética, farmacêutica, química, petroquímica, entre outras.

No estudo realizado por Santos et al. (2002) foi avaliada a estabilidade térmica de oito tipos de óleos vegetais comerciais. De acordo com as curvas termogravimétricas a estabilidade observada foi: óleo de milho > girassol > soja > arroz > mistura de soja e oliva > mistura de girassol e oliva > canola > oliva. Estes autores concluíram que os resultados obtidos são dependentes da composição em ácidos graxos, e influenciados pela presença de antioxidantes naturais e artificiais nos óleos.

1.6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO VEGETAL

A extração é uma das operações unitárias mais usadas na indústria de alimentos. Os óleos vegetais são obtidos de partes de plantas através de diferentes processos de extração. O processo de extração tem papel fundamental na recuperação dos compostos bioativos, bem como afeta sua quantidade e qualidade do óleo obtido, sendo necessário a realização da extração com solventes com polaridade compatível às características dos fitocompostos de interesse (MAROUN et al., 2017).

Óleos vegetais comestíveis são convencionalmente extraídos usando processos de prensa mecânica ou solventes (OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013). Estas metodologias apresentam vários inconvenientes e limitações. A extração com prensa mecânica pode degradar compostos bioativos e reduzir a vida de prateleira do óleo devido à exposição ao oxigênio e a luz, além da taxa de extração ser baixa. A extração por solvente, requer um longo tempo de extração, envolve alto custo energético, alto consumo de solvente, muitas vezes tóxicos e existe a necessidade de recuperação do solvente após a extração devido a problemas econômicos, de segurança ambiental e a possibilidade de haver resíduo de solvente no produto final (BERES et al., 2017; PEREIRA, 2017). Essa técnica pode ainda utilizar altas

temperaturas de extração, porém, pode promover a perda de substâncias termicamente sensíveis.

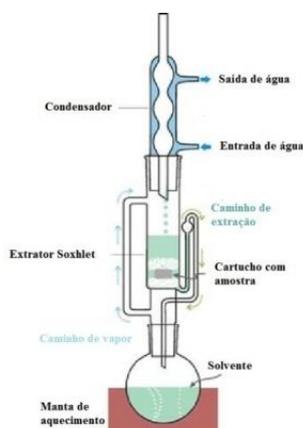
Atualmente, métodos de extração capazes de superar as desvantagens supracitadas têm sido estudados e propostos na literatura. Dentre os de métodos de extração não-convencionais que vêm sendo usados na área de produtos naturais destaca-se a Extração com Fluido Supercrítico (EFS), apresentando como principal vantagem, quando comparada aos convencionais, o aumento da eficiência da extração conduzindo a um aumento de rendimento e/ou redução nos tempos de extração (MACHADO et al., 2013). Assim, a tecnologia supercrítica está entre os mais promissores, quando comparado aos métodos convencionais de extração (DA PORTO et al., 2013; MACHADO et al., 2013 MELO; SILVESTRE; SILVA, 2014).

1.6.1 Extração com sistema Soxhlet

A extração de amostras sólidas por solventes é conhecida como "extração sólido-líquido", é uma das mais antigas técnicas de preparação da amostra sólida. Esta técnica é utilizada para remover e separar os componentes de interesse de frações insolúveis com alto peso molecular (CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

A extração soxhlet utiliza o refluxo de solvente em um processo intermitente, como mostra a Figura 3. A solubilização do óleo no solvente pode ocorrer por dois mecanismos, a dissolução pelo contato entre as células vegetais destruídas durante a redução de dimensões ou por difusão, onde o óleo atravessa lentamente as paredes semipermeáveis das células intactas para o meio líquido (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010)

Figura 3. Esquema de um aparelho de extração Soxhlet indicando os trajetos de vapor e líquido de extração.



Fonte: Adaptado DABBS; MULDER; AKSAY, 2006

Na extração de óleos vegetais por Soxhlet, normalmente as sementes são extraídas com solventes apolares com ponto de ebulição até 70°C. O aumento desta temperatura pode ser responsável pela formação de ácidos graxos livres, devido à quebra de ligações entre ácidos graxos e o glicerol (FREITAS, 2008). O solvente mais utilizado é o hexano, por um bom poder de solvatação para um grande número de sementes oleaginosas e fácil separação do óleo/gordura, simplificando a etapa de recuperação do solvente (COELHO et al., 2018).

A principal vantagem desta técnica é que é um método contínuo, amostra está sempre em contato com o solvente, possibilita a extração efetiva em termos de rendimento, portanto, muitas vezes usado como método de referência para novos métodos de extração. As principais desvantagens são a degradação de compostos termolábeis e também o solvente pode ser nocivo à saúde e ao meio ambiente, e pode levar a contaminação do produto por resíduos do solvente (SAHENA et al., 2009; AGOSTINI, 2011).

1.6.2 Extração por Bligh e Dyer

O método proposto por Bligh e Dyer (1959), é muito conhecido e utilizado para extração de lipídios totais, no qual a extração do óleo é realizada a frio, utilizando uma mistura de clorofórmio, metanol e água.

Esta metodologia permite a extração de todas as classes de lipídios da amostra, sejam estes polares ou apolares. Isto é possível porque o clorofórmio é um solvente orgânico para qualquer classe de lipídios, e o metanol tem a função dupla de facilitar a umectação da amostra e desfazer as fortes ligações entre os lipídios e as membranas celulares ou sua ligação com as proteínas (BLIGH; DYER, 1959).

Esta técnica apresenta vantagem quanto ao rendimento do processo, a qualidade do produto, a rapidez da técnica, utilização em matrizes úmidas ou secas, preservação dos lipídeos, pois não usa calor, pode ser usada em escala laboratorial e piloto, e também não demanda grandes volumes de solventes. A toxicidade dos solventes empregados e a extração de contaminantes não lipídicos da fase orgânica são desvantagens deste método (BRUM, 2009).

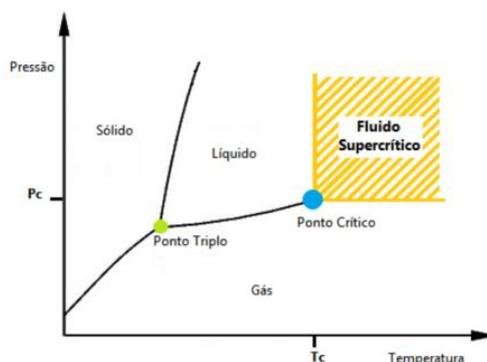
1.6.3 Extração com Fluido Supercrítico

A obtenção de produtos naturais com alto valor agregado é cada dia mais desejado, e estudos vêm demonstrando aumento do uso de fluidos supercríticos para a extração de matrizes de origem natural, e produtos com grandes quantidades de compostos bioativos,

como o óleo de semente de uva (ROMBAUT et al. 2014; DUBA; FIORI, 2015; MOHAMED et al., 2016).

A aplicação da EFS baseia-se nas propriedades do fluido supercrítico, que pode ser obtido empregando pressão e temperatura acima de sua temperatura e pressão críticas. No estado supercrítico, a substância não é líquida nem gasosa, mas apresenta as propriedades de ambas, se dispersam com a facilidade de um gás (quase instantaneamente) e têm propriedades solventes (MACHADO et al., 2013; ROMBAUT et al., 2014; BERES et al., 2017). A Figura 4 apresenta o diagrama de fases de um fluido supercrítico.

Figura 4. Diagrama de fase de fluido.



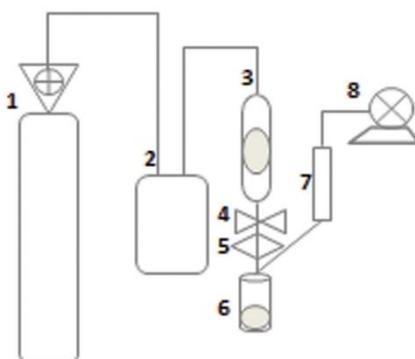
Fonte: Rosa et al., 2014.

O dióxido de carbono (CO_2) é o solvente supercrítico mais utilizado pois se comporta como um solvente lipofílico (não polar), possibilita uma fácil separação do extrato e permite o uso de temperaturas amenas, possibilitando a obtenção de produtos de alta pureza e consequentemente aumento de valor agregado. O CO_2 apresenta ainda as vantagens de não ser inflamável, não tóxico, de baixo custo, facilmente separado após a extração e dotado de uma grande capacidade de solvatação de moléculas apolares (SHARIF et al., 2014; BARRALES et al., 2015).

No estudo conduzido por Fiori et al. (2014) relataram que o óleo da semente extraído por EFS- CO_2 resultaram num rendimento de 10,9-15,0% dependendo do cultivar da uva, e os níveis bioativos encontrados nas sementes de uva apóia suas aplicações na indústria de alimentos, neutracêuticos e cosméticos. Bravi et al. (2007) extraíram α -tocoferol de sementes de uva (*Vitis Vinifera*) por EFS e Soxhlet. Os resultados obtidos para EFS foram comparados com a extração com n-hexano, onde a concentração de α -tocoferol no óleo extraído com CO_2

supercrítico foi muito superior àquela obtida pela extração com n-hexano; no entanto, a eficiência geral do óleo foi menor para EFS. A Figura 5 apresenta o processo de extração com fluido supercrítico, enquanto que a Figura 6 apresenta o equipamento utilizado nesse estudo.

Figura 5. Estágios do Processo de Extração Supercrítica. (1) cilindro de CO₂ com tubo pescador; (2) Bomba de alta pressão; (3) Célula de extração; (4) Válvula dinâmica/estática; (5) Válvula de restrição; (6) Vial coletor de amostra; (7) Medidor de fluxo; (8) Medidor de gás.



Fonte: Machado et al., 2015.

A EFS consiste de duas etapas: a extração do soluto e a separação do soluto do solvente. A célula, contendo a amostra, é acoplada dentro do forno, controlando a temperatura de operação. O CO₂ sai do cilindro em direção à bomba, onde o solvente líquido será comprimido para dentro da célula de extração, até a pressão programada, sendo absorvido pelo sólido, promovendo a dilatação das estruturas celulares e, conseqüentemente, diminui a resistência à transferência de massa. Simultaneamente, os compostos solúveis são dissolvidos pelo solvente e transferidos por difusão para a superfície do sólido e transportados pelo fluido supercrítico precipitando no *vial*. As condições para o processo de extração supercrítica são previamente estabelecidas de acordo com a matriz estudada (SOVOVÁ, 2005; MACHADO et al., 2015)

Figura 6. Unidade de Extração Supercrítica. Equipamento Piloto utilizado neste trabalho, STF-110.



Fonte: Autoria própria

A técnica EFS apresenta grandes vantagens, como: baixa viscosidade e alta difusividade do fluido supercrítico, permitindo-lhe penetrar nos poros dos materiais sólidos com mais eficiência que solventes líquidos, o que pode tornar mais eficaz a transferência de massa, resultando em extrações mais rápidas; a solubilidade do extrato no fluido pode aumentar por meio de modificação de pressão e temperatura, tornando o método de extração mais seletivo; devido ao uso de baixas temperaturas na extração SFE, esta técnica é ideal para a obtenção de compostos termoláveis. Outro aspecto muito explorado quando se trata das vantagens da extração em meio supercrítico é o seu status de tecnologia "limpa". A principal limitação da técnica de extração supercrítica é o alto custo com o investimento inicial do equipamento. Porém, a necessidade de desenvolvimento e otimização de métodos também podem ser considerados como um fator limitante (MACHADO et al., 2013; BARRALES et al., 2015; PEREIRA et al., 2017).

1.6.4 Ultrassom

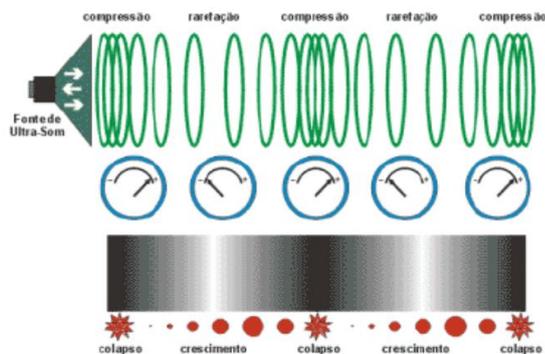
Recentemente, a utilização da técnica do ultrassom como uma metodologia de tratamento tem sido relatada como um meio atrativo na área de ciência e tecnologia de alimentos devido aos seus efeitos promissores na área de processamento e preservação (COMARELA et al., 2012).

A utilização do ultrassom para obtenção de compostos naturais é bastante relevante, uma vez que a extração completa pode ser concluída em minutos com alta reprodutibilidade, reduzindo o consumo de solvente e consumindo apenas uma fração da energia necessária para um método de extração convencional (CHEMAT et al., 2017). O uso de ultrassom representa

uma forma potencialmente eficiente de melhorar os processos de transferência de massa. No caso da EFS, essa é provavelmente a única maneira prática de gerar vibração e melhorar assim os coeficientes de transferência de massa (LUQUE-GÁRCIA; LUQUE DE CASTRO, 2003 ; BARRALES, 2016).

Este é um processo que consiste na aplicação de energia na forma de ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior aos limites audíveis pelo ouvido humano, que estão entre 20 kHz e 10 MHz (CHEMAT et al., 2017). Estas ondas provocam ciclos de expansão e compressão no meio (vibração mecânica), ou seja, as moléculas do meio se afastam e se aproximam inúmeras vezes causando uma variação na pressão no líquido, gerando cavitação que crescem durante a fase de rarefação e decrescem na fase de compressão, conforme mostra a Figura 7 (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003). Quando o tamanho das bolhas atinge um ponto crítico, elas colapsam sobre a superfície do material sólido, e alta pressão e temperatura envolvidas no processo destroem as paredes celulares do vegetal e o conteúdo é liberado ao meio (CHEMAT et al., 2017; BARRETO, 2017)

Figura 7. Representação esquemática da propagação das ondas ultrassônicas



FONTE: ARANHA et al. 2010

De forma geral, a aplicação do ultrassom representa uma tecnologia atrativa com grande potencial exploração comercial e tem sido incorporada a outras técnicas de extração, conforme relatado para aumentar a eficiência do sistema convencional, apresentando como principais vantagens: redução do tempo de extração; baixo consumo de energia; qualidade aprimorada do extrato e o uso de solvente pode ser drasticamente reduzido (CHEMAT et al., 2011; ROMBAUT et al., 2014; DROSOU et al., 2015). Vários trabalhos relataram a utilização da extração assistida por ultrassom para recuperação de fenóis a partir de cascas de

uva, alcançando altos rendimentos em períodos curtos de tempo (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015; DROSOU et al., 2015).

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, F. **Obtenção e análise de óleo e compostos fenólicos de sementes de diferentes variedades de uva** (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) cultivadas no Rio Grande do Sul. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de Caxias do Sul.

AGOSTINI, F.; BERTUSSI, R. A.; AGOSTINI, G.; DOS SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; VANDERLINDE, R. Supercritical Extraction from Vinification Residues: Fatty Acids, α -Tocopherol, and Phenolic Compounds in the Oil Seeds from Different Varieties of Grape. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-9, 2012.

AMORIM, F. L. **Avaliação de compostos bioativos presentes em produto a base de cascas de uva da variedade Syrah**. 2016. Dissertação (Mestrado em ciência de alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Analytical Methods: Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1122-1132, 2008

BERES, COSTA, G. N., CABEZUDO, I., DA SILVA-JAMES, N. K., TELES, A. S., CRUZ, A. P., ... FREITAS, S. P.. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste management**, v. 68, p. 581-594, 2018.

BEVERIDGE, T. H., GIRARD, B., KOPP, T., & DROVER, J. C.. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1799-1804, 2005.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification**. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOSO, S., GAGO, P., SANTIAGO, J. L., RODRÍGUEZ-CANAS, E., MARTÍNEZ, M. C. New monovarietal grape seed oils derived from white grape bagasse generated on an industrial scale at a winemaking plant. **LWT**, v. 92, p. 388-394, 2018.

BRASIL, RESOLUÇÃO ANVS/MS. N°270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 2005.

BRAVI, M., SPINOGLIO, F., VERDONE, N., ADAMI, M., ALIBONI, A., D'ANDREA, A., ... FERRI, D. Improving the extraction of α -tocopherol-enriched oil from grape seeds by supercritical CO₂. Optimisation of the extraction conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 2, p. 488-493, 2007.

BRENES, A., VIVEROS, A., CHAMORRO, S., & ARIJA, I. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 211, p. 1-17, 2016.

BRUM, A. A. S., ARRUDA, L. F. D.. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application of food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21-33, 2005.

BURIN, V. M., FERREIRA-LIMA, N. E., PANCERI, C. P., BORDIGNON-LUIZ, M. T et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 155-163, 2014.

CAMARGO, U. A., MAIA, J. D. G., RITSCHER, P. S. **Cultivares de videira para processamento. Embrapa Uva e Vinho**. 2016. (INFOTECA-E). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/152922/1/Manual-3-Capitulo-2.pdf> Acesso em: 08 Jul. 2017.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1021, n. 1, p. 117-124, 2003.

CASTRO, MD L.; GARCIA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica chimica acta**, v. 369, n. 1-2, p. 1-10, 1998.

CASTRO, MD L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383-2389, 2010.

CAMARGO, U. A.; PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C. **Wine grape cultivars adaptation and selection for Tropical regions**. In: II International Symposium on Tropical Wines 910. 2010. p. 121-129.

CHEMAT, F., ROMBAUT, N., SICAIRE, A. G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A. S., ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

COELHO, J. P., FILIPE, R. M., ROBALO, M. P., STATEVA, R. P. Recovering value from organic waste materials: supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2017.

COMARELLA, C. G. SAUTTER, C. K., EBERT, L. C., PENNA, N. G. Phenolic compounds and sensory evaluation of juice from Isabel grapes treated with ultrasound. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. SPE, p. 69-73, 2012.

CREWS, C., HOUGH, P., GODWARD, J., BRERETON, P., LEES, M., GUIET, S., WINKELMANN, W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6261-6265, 2006.

DA PORTO, C., PORRETTO, E., DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076-1080, 2013.

DABBS, Daniel M.; MULDER, Norbert; AKSAY, Ilhan A. Solvothermal removal of the organic template from L 3 (“sponge”) templated silica monoliths. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 8, n. 5, p. 603-614, 2006.

DENARI, Gabriela Bueno; CAVALHEIRO, Éder Tadeu Gomes. **Princípios e aplicações de análise térmica**. São Carlos: IQSC/USP, 2012, 40p.

DROSOU, C., KYRIAKOPOULOU, K., BIMPILAS, A., TSIMOGIANNIS, D., KROKIDA, M. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 141-149, 2015.

DUBA, K. S.; FIORI, L. Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 33-43, 2015.

DUBOIS, V., BRETON, S., LINDER, M., FANNI, J., PARMENTIER, M. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 7, p. 710-732, 2007.

DUNFORD, N. T. Health benefits and processing of lipid-based nutritionals. **Food Technology**, Chicago, v. 55, n. 11, p. 38-44, 2001.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOS, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161– 166, 2013.

FIORI, L., LAVELLI, V., DUBA, K. S., HARSHA, P. S. C. S., MOHAMED, H. B., GUELLA, G. Supercritical CO₂ extraction of oil from seeds of six grape cultivars: modeling of mass transfer kinetics and evaluation of lipid profiles and tocol contents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 71-80, 2014.

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Statistical Database. [online], 2016. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. (Acesso em 29.06.2018).

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras

FREITAS, L. S. L., JACQUES, R. A., RICHTER, M. F., DA SILVA, A. L., & CARAMÃO, E. B. Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1200, n. 1, p. 80-83, 2008.

GUERRA, C. C.; MANDELLI, F.; TONIETTO, J.; ZANUS, M. C.; CAMARGO, U. A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2009. p.69 (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 48).

GUERRA, N. B.; SILVEIRA, K. C.; LIMA, L. L. A.; ANDRADE, S. A. C.; PEREIRA, G. E.; CASTRO, R. Climatic conditions and rootstock influence on the phenolic composition of tropical Brazilian wines. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 28, p. 319-323, 2013.

GONDIM, A. D. **Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel de algodão e do efeito da adição de antioxidantes (α -tocoferol e BHT)**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

GUERRA, N. B.; SILVEIRA, K. C.; LIMA, L. L. A.; ANDRADE, S. A. C.; PEREIRA, G. E.; CASTRO, R. Climatic conditions and rootstock influence on the phenolic composition of tropical Brazilian wines. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 28, p. 319-323, 2013.

GUERRERO, R. F., LIAZID, A., PALMA, M., PUERTAS, B., GONZÁLEZ-BARRIO, R., GIL-IZQUIERDO, Á., ...nCANTOS-VILLAR, E. Phenolic characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 949-955, 2009.

HOGERVORST, J. C., MILJIĆ, U., PUŠKAŠ, V. Extraction of bioactive compounds from grape processing by-products. In: **Handbook of Grape Processing By-Products**. 2017. p. 105-135.

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.

JULIÃO, C. C. B; BRANCO, D. K. S; DE LIMA, J. E. Exportação de uva no Vale do São Francisco: uma análise a partir de vetores autorregressivos. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 48, n. 2, p. 75-83, 2017.

KUMAR, A.; SHARMA, A.; UPADHYAYA, K. C. Vegetable oil: nutritional and industrial perspective. **Current Genomics**, v. 17, p. 230-240, 2016.

LIMA, M.S et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, p. 94-103, 2014.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, MD Luque. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

LUTTERODT, H., SLAVIN, M., WHENT, M., TURNER, E., YU, L. L. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2, p. 391-399, 2011.

MACHADO, B. A. S., ABREU, B. G., COSTA, A. S., COSTA, S. S., SILVA, R. P. D., DA SILVA, D. F., ... PADILHA, F. F. Determination of parameters for the supercritical extraction of antioxidant compounds from green propolis using carbon dioxide and ethanol as co-solvent. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0134489, 2015.

MACHADO, B. A. S., PEREIRA, C. G., NUNES, S. B., PADILHA, F. F., UMSZA-GUEZ, M. A. Supercritical fluid extraction using CO₂: main applications and future perspectives. **Separation Science and Technology**, v. 48, n. 18, p. 2741-2760, 2013.

MAIER, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., Carle, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 551-559, 2009.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Yellow passion fruit oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, n. 1, p. 127-134, 2012.

- MAROUN, R. G., RAJHA, H. N., VOROBIEV, E., LOUKA, N.. **Emerging Technologies for the Recovery of Valuable Compounds From Grape Processing By-Products**. In: Handbook of Grape Processing By-Products. 2017. p. 155-181.
- MELLO, L. M. R. Panorama da Vitivinicultura brasileira 2014. **Embrapa Uva e Vinho**-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E), 2015.
- MELLO, L. M. R. Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015. **Embrapa Uva e Vinho**-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2016.
- MELLO, L. M. R. Panorama da produção de uvas e vinhos no Brasil. **Embrapa Uva e Vinho**-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2017.
- MOHAMED, H. B., DUBA, K. S., FIORI, L., ABDELGAWED, H., TLILI, I., TOUNEKTI, T., ZRIG, A. Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.) seed oils extracted by supercritical CO₂ and organic solvent. **LWT-Food Science and Technology**, v. 74, p. 557-562, 2016.
- MOYNA, P.; HEINZEN, H. **Lipídios: química y productos naturales que los contienen**. SIMÕES, CMO; SCHENKEL, EP; GOSMANN, G.; MELLO, JCP DE, p. 435-466, 2007.
- OOMAH, B. D., LIANG, J., GODFREY, D., & MAZZA, G. Microwave heating of grapeseed: Effect on oil quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4017-4021, 1998.
- OLIVEIRA, D. A. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah**. 2012. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina.
- PEREIRA, G. E., ARAÚJO, A. J. B., SANTOS DE O, J., OLIVEIRA S, V., NASCIMENTO, R. L., QUINTINO, C., ... LIMA, L. L. A. Chemical and aromatic characteristics of Brazilian tropical wines. In: **II International Symposium on Tropical Wines** 910. 2010. p. 135-140.
- PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C.; MANFROI, L. Viticultura e enologia. In: SOARES, J. M; LEÃO, P. C. de S (Eds.) **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina, PE: **Embrapa Semiárido**, 2009, p. 677-724.
- PEREIRA, M. G., HAMERSKI, F., ANDRADE, E. F., SCHEER, A. D. P., CORAZZA, M. L. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338-348, 2017.
- RIBEIRO, L. F. **Avaliação dos compostos bioativos e atividade, antioxidante in vitro e in vivo em bagaços de uvas** (*Vitis vinífera* E *Vitis labrusca*). 2016.
- ROMBAUT, N., SAVOIRE, R., THOMASSET, B., BÉLLIARD, T., CASTELLO, J., VAN HECKE, É., LANOISELLÉ, J. L. Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 284-292, 2014.
- ROSA, A. A. A. et al. **Uso da extração supercrítica na obtenção de produtos com valor agregado a partir de resíduos sólidos da indústria vinícola**. 2014.

SABIR, A.; UNVER, A.; KARA, Z.. The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1982-1987, 2012.

SAHENA, F., ZAIDUL, I. S. M., JINAP, S., KARIM, A. A., ABBAS, K. A., NORULAINI, N. A. N., & OMAR, A. K. M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction—A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 240-253, 2009.

SANTOS, J. C. O.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G.; PRASAD, S.; SANTOS, A. V. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. **Journal of Food Science**. V. 67, p. 1393-1398., 2002.

SHARIF, K. M. et al. Experimental design of supercritical fluid extraction—A review. **Journal of Food Engineering**, v. 124, p. 105-116, 2014.

SHIOZAKI, S.; MURAKAMI, K. Lipids in the seeds of wild grapes native to Japan: *Vitis coignetiae* and *Vitis ficifolia* var. *ganebu*. **Scientia horticulturae**, v. 201, p. 124-129, 2016.

SHINAGAWA, F. B., SANTANA, F. C. D., TORRES, L. R. O., MANCINI-FILHO, J. Grape seed oil: a potential functional food?. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 399-406, 2015.

SILVA, A. C. **Potencial de resíduos agroindustriais como fontes de compostos bioativos**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista.

SOUZA, V. B. **Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 1, p. 35-52, 2005.

TEMELLI, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 583-590, 2009.

VASCONCELOS, V.A. F de. **Qualidade e atividade antioxidante em uvas ‘Syrah’ em diferentes ciclos de produção, sistemas de condução e porta-enxertos**. 2017. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Vale do São Francisco

VILKHU, K., MAWSON, R., SIMONS, L., BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 161-169, 2008.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, p. 383-399, 2000.

Capítulo II

Artigo I- Estudo Prospectivo das Aplicações do Óleo De Semente de Uva a Partir de Mapeamento em Documentos de Patentes

ESTUDO PROSPECTIVO DAS APLICAÇÕES DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA A PARTIR DE MAPEAMENTO EM DOCUMENTOS DE PATENTES

Rita de Cassia De Souza^{1*}, Paulo Leonardo Ribeiro², Carolina Oliveira de Souza³, Janice Izabel Druzian⁴, Bruna Aparecida Machado⁵, Marcelo Andres Umsza-Guez⁶

^{1,2,3,4,6} Universidade Federal da Bahia, BA, Brasil.

⁵ SENAI/CIMATEC, BA, Brasil.

Rec.:15/07/2017.

Ace.:11/01/2018

RESUMO

A industrialização de uva gera resíduos agroindústrias como a semente de uva que possui um alto valor agregado. Da semente é possível extrair o óleo, rico em ácidos graxos, principalmente linoleico (C18:2) e oleico (C18:1), e vitamina E com propriedades potenciais para aplicação na indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. O objetivo do estudo foi realizar uma prospecção tecnológica sobre as aplicações do óleo de semente de uva. A busca foi realizada utilizando a base de dados *Espacenet*®, combinando palavras-chave e código de classificação internacional de patentes. Os resultados evidenciaram que a China se destaca como o maior detentor da tecnologia, com 64% do total de documentos de patentes encontrados, e também possui os principais inventores e depositantes. O óleo de semente de uva é grande potencial econômico, sendo as empresas, maiores detentoras de patentes e a pesquisa voltada a aplicação com fins medicinais a mais estudada.

Palavras-chave: Óleo de semente. Ácidos graxo. Prospecção tecnológica

ABSTRACT

The grapes industrialization generates agroindustrial waste like grape seed that has a high benefit. From the seed it is possible to extract the oil, rich in fatty acids, mainly linoleic (C18: 2) and oleic (C18: 1), and vitamin E with potential properties for application in the food, cosmetic and pharmaceutical industries. The objective of this study was to carry out a technological survey on the applications of grape seed oil. The search was performed using the *Espacenet*® database, combining keywords and international patent classification code. The results showed that China stands out as the largest owner of the technology, with 64% of the total patent documents found, and it has the main inventors and depositors. Grape seed oil is a great economic potential, with companies being the largest patent holders and the research focused on the medicinal purpose is the most studied currently.

Keywords:Seed oil. Fatty Acids. Technological Prospecting.

Área tecnológica: Ciência de Alimentos. Extração de Óleos.

INTRODUÇÃO

A uva é uma fruta muito nutritiva, e amplamente consumida em todo o mundo. Os bagaços provenientes da uva, na produção de vinho e de outros derivados, têm sido objeto de inúmeros estudos, em razão da grande quantidade de compostos fenólicos presentes nos mesmos, além da importância destes nas funções biológicas do ser humano. A utilização destes componentes tem um impacto importante na redução de resíduos e na possibilidade de criação de produtos com alto valor agregado (FERNANDES et al., 2013; FREITAS et al., 2013; CIQUEIRA et al., 2017). Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) estima-se que no Brasil o bagaço da uva corresponde a 16% da uva processada, o que é equivalente a 210 mil toneladas por ano. Em meio ao bagaço da uva há um coproduto de alto valor agregado: a semente de uva. Mundialmente tem-se mais de 3 milhões de toneladas de sementes de uva descartadas por ano, correspondendo a 38-52% da matéria seca (PASSOS et al., 2010; FERNANDES et al., 2013; ROMBAUT et al., 2014).

A semente da uva possui uma ampla variedade de metabólitos, dentre os quais se incluem taninos polifenólicos, sendo o ácido gálico e monômeros catequina e epicatequina os principais compostos fenólicos presentes na semente de uva. As sementes também possuem de 12-14% de óleo, que é um dos componentes de maior interesse na semente da uva (CAO; ITO, 2003; YILMAZ; TOLEDO, 2004; PASSOS et al., 2010; ROMBAUT, 2014). Este óleo possui características que o torna superior aos óleos comercialmente utilizados para consumo humano devido a sua composição, uma vez que ele é rico em tocoferol (vitamina E- antioxidante) principalmente sob a forma de alfa- tocoferol, e se destaca por ser uma fonte de ácido linoleico (C18:2) e oleico (C18:1), contendo traços de linolênico (C18:3) e palmitoleico (C16: 1). O ácido linoleico e ácido linolênico, são essenciais para o bom funcionamento de vários órgãos e por não serem produzidos pelo organismo devem estar presentes na alimentação (CHOI; LEE, 2009; MEDINA et al., 2015). Ainda é possível destacar outros efeitos benéficos dos extratos obtidos da semente, como: modulação da expressão de enzimas antioxidantes (PUIGGRÒS et al., 2005); proteção contra danos oxidativos nas células do cérebro de ratos (GUO et al., 2007); aterosclerose em hamster (VINSON et al., 2002); inibição de metástase em tumor mamário (MANTENA; BALIGA; KATIYAR, 2006) e alguns efeitos anti- inflamatórios (WANG et al., 2009).

Devido aos importantes efeitos benéficos obtidos a partir da aplicação do óleo de semente de uva, sua produção e utilização em aplicações industriais tem aumentado, facilitando o acesso da população a esse produto. É importante destacar que o processo de extração tradicional utilizado na obtenção de óleo de sementes de uva é a extração com n-hexano. No entanto, a tecnologia de extração de CO₂ supercrítico (SC-CO₂) tem se apresentado como uma excelente e eficaz alternativa na extração de óleo de semente, pois não empregam grandes quantidades de solventes, garantam curto tempo de extração, melhor do rendimento e uma boa qualidade dos extratos (FRIORI et al., 2014).

Com o crescente volume de informações e a maior facilidade de acesso às tendências tecnológicas, é necessário utilizar estratégias que auxiliem no monitoramento e desenvolvimento científico e tecnológico atual e futuro. A utilização de prospecção tecnológica, que engloba a análise de patentes, é extremamente importante pela disponibilidade de bases de dados eletrônicas públicas de abrangência mundial, pela grande retrospectiva temporal, e pelas patentes conterem detalhes sobre as invenções e sobre as tecnologias descritas (SCOPEL; GREGOLIN; FARIA, 2013). A patente é um título de proteção legal temporária sobre uma invenção ou modelo de utilidade, outorgado pelo Estado aos inventores ou autores ou outras pessoas físicas ou jurídicas detentoras de direitos sobre a criação, permitindo a exploração da sua inovação em troca da informação detalhada sobre parte substancial do conteúdo técnico contido naquela matéria protegida por lei (CLOSS et al., 2012).

SOUZA, R. de C. de. Estudo prospectivo das aplicações do óleo de semente de uva a partir de mapeamento em documentos de patentes.

Este estudo teve o objetivo de realizar uma prospecção tecnológica baseada em documentos de patentes sobre a utilização e extração do óleo de semente de uva, com a finalidade de verificar a existência de pesquisas e tecnologias relacionadas, além de mapear as possíveis áreas de inserção e aplicação do óleo da semente de uva.

METODOLOGIA

A prospecção tecnológica em questão foi realizada durante os meses de janeiro a março de 2017, utilizando a base de patentes europeia, *European Patent Office* (ESPACENET), que fornece aos usuários alta qualidade de dados de patentes on-line de mais de 90 países diferentes com mais de 90 milhões de documentos de patentes em todo o mundo. A metodologia adotada para a busca de documentos de patentes fundamentou-se em palavras-chave contidas no título ou resumo do documento para identificação da matriz estudada, combinada com o campo da Classificação Internacional de Patentes (IPC) que especifica a categoria em que o assunto de interesse está classificado. As patentes foram compactadas e exportadas para o software Microsoft Office Excel 2007, através do aplicativo CSVed.exe (Comma separated values, em português: valores separados por vírgulas). Os dados obtidos da busca na base de patentes foram analisados priorizando a identificação do número de patentes encontradas, os códigos de classificação internacional, o ano de depósito, os inventores, os principais depositantes e o país de origem. Os resultados encontrados foram apresentados na forma de gráficos para discussão das possibilidades tecnológicas apresentadas pela pesquisa.

Na base Espacenet®, utilizou-se, inicialmente, as palavras-chave semente de uva (em inglês, grape seed) resultando em mais de 10 mil documentos. Essas patentes foram utilizadas para investigar os códigos internacionais de classificação de patentes. Ao combinar a palavra-chave com diferentes códigos de classificação foi possível filtrar e reduzir a quantidade de documentos. Após algumas análises e combinações entre as palavras-chave e os códigos (IPC) selecionou-se a combinação das palavras-chaves “uva e óleo de semente*” (em inglês, “grape and seed oil*”) e os códigos C11B, que se refere a produção (pressão e extração), refino e preservação de gorduras, matéria gorda (ex. Lanolina), ácidos graxos e ceras, incluindo extração a partir resíduos, e A23D, que se refere a óleos e gorduras comestíveis, recuperando 142 documentos de patentes, dos quais 132 estavam disponíveis para análise. No Quadro 1 podem ser observados os códigos das patentes que foram investigados e o total de depósitos de patentes recuperados.

Quadro 1 - Busca de patentes depositadas por códigos de classificação internacional de patentes ou por combinação com palavras-chave na base de dados *Espacenet*®.

Grape and Seed oil*	C11B/10	A23D9/02	B01D11/00	C11B1/00	A23D9	Total
X						>10000
X	X					10
X				X		26
X		X				18
	X					5076
X			X			1

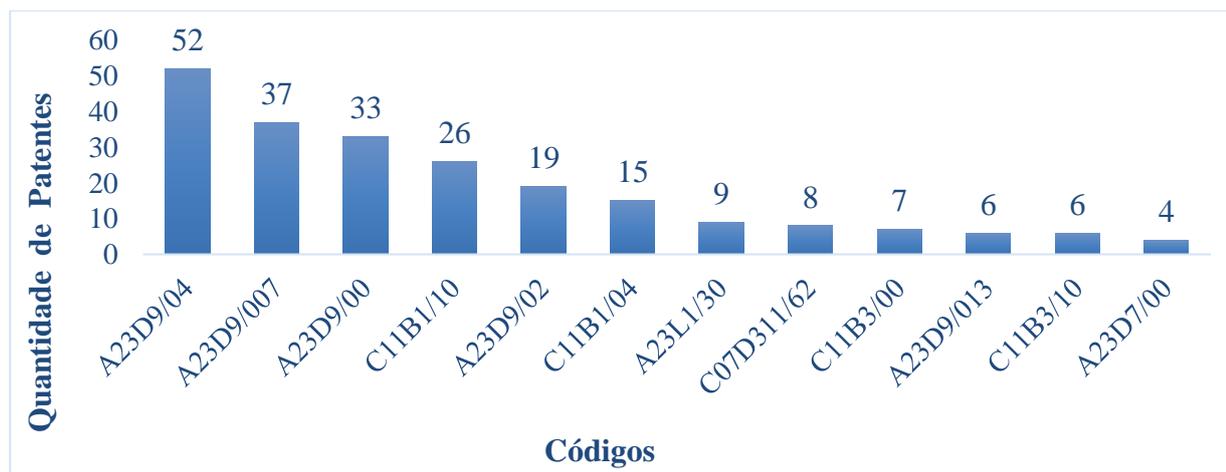
X					X	18
X	X				X	142
X	X	X				21
X			X		X	130
	X	X				1555

Fonte: Autoria própria (2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra o número de patentes recuperadas, por código de classificação internacional, resultantes da estratégia de busca usando a combinação das palavras-chaves “uva e óleo de semente*” (em inglês, “grape and seed oil*”) e os códigos A23D e C11B. O código de classificação majoritário dentre os documentos de patentes estudados foi o da classe A23D9/04 (Produção de gorduras ou óleos a partir de matérias-primas), seguido de A23D9/007 (Óleos e gorduras comestíveis caracterizados por ingredientes diferentes dos triglicérides de ácidos graxos), e C11B1/10 (produção, p. ex. por compressão de matérias-primas ou por extração a partir de substâncias de rejeitos, refinação ou preservação de óleos, substâncias graxas, por extração), indicando assim que a maioria dos documentos de patentes selecionados está relacionada com a Seção A (Necessidades Humanas) e Seção C (Química) da IPC. Sendo assim, percebe-se que o óleo de uva e seus respectivos co-produtos são utilizados de modo a conferir características benéficas à saúde. Este fato é decorrente da presença dos ácidos graxos insaturados presentes no óleo, que devem fazer parte diariamente da alimentação (MEDINA et al., 2015) Desta forma o óleo de semente de uva pode ser utilizado de forma direta como óleo vegetal comestível, ou aplicado em algum produto devido a suas características benéficas, tendo consequentemente a destinação majoritária do óleo de semente de uva, é para fins medicinais e alimentícios.

Figura 1-Número de patentes por Código de Classificação Internacional.

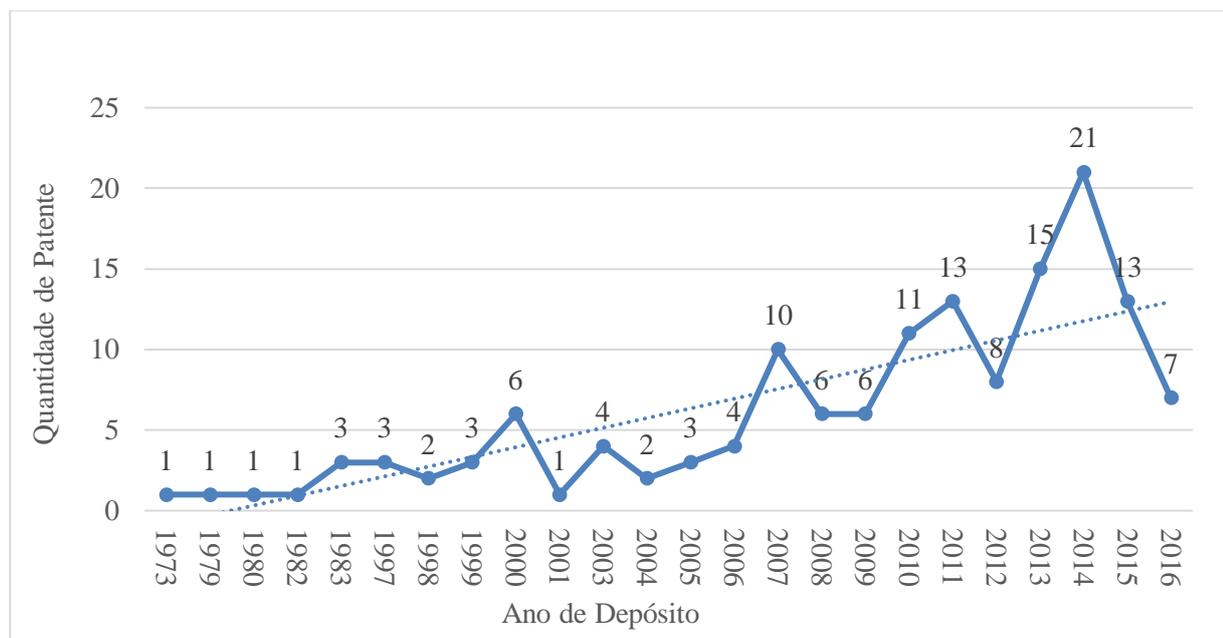


Fonte: Autoria própria (2017).

Na Figura 2 tem-se a evolução anual do número de depósitos de patentes. A primeira patente sobre a utilização do objeto desse estudo foi depositada em 1973, com número GB1455416 (A) pela empresa UNILEVER© do Reino Unido. Esta patente descreve a utilização do óleo de semente de uva e outras fontes de óleo vegetal para uma mistura de gorduras para utilização em margarinas ou pastas de mesa. Em 1980, o inventor Harold W. Hanson (EUA), depositou a

patente US4420496 (A) sobre a utilização de óleo de semente de uva com mistura de outros óleos, descrevendo um processo para conservação de alimentos congelados. Os depósitos de patentes sobre a utilização do óleo de semente de uva mantiveram-se baixo e constata-se até o início dos anos 2000. Entre os anos de 2000 a 2010, houve um aumento nos depósitos de patentes sobre o tema, e as tecnologias foram protegidas por meio de patentes depositadas em 6 países diferentes (China, Japão, Estados Unidos, Alemanha e Coreia).

A primeira patente depositada pela China se deu no ano de 1999, o que demonstra um interesse mais recente do país no estudo da área de estudo. Essa primeira patente depositada na China possui número de publicação CN1107110 e se refere a um método de extração do óleo de semente de uva utilizando um fluido supercrítico. O interesse da China em obter o óleo de semente de uva por Extração por Fluido Supercrítico (EFS) apresenta uma opção para substituir as metodologias convencionais por novas metodologias, devido às limitações legais de solventes e resíduos de solventes que podem ser usados na indústria de alimentos, cosmética e na indústria farmacêutica, e também a EFS é uma eficaz alternativa de extração sendo altamente seletiva na obtenção de componentes de alto valor agregado (CAO; ITO, 2003; PASSOS et al., 2010). A China, em especial, apresentou um grande número de depósitos de patentes ao longo dos anos. Consequentemente esse maior aprofundamento nos estudos relativos ao uso do óleo de semente de uva refletiu no crescimento de depósitos de patentes a partir 2007 em âmbito global (Figura 2). Isto pode estar relacionado a busca de novas fontes de óleos vegetais, uma vez que existe uma preferência para substituir a ingestão de gorduras animais (manteiga e banha), bem como a tendência mundial voltada para novas fontes de pesquisa de óleo vegetal (PARRY et al., 2006; CHOUGUI et al., 2013), destacando que há um interesse considerável na produção do óleo de semente de uva, devido este ser uma promissora fonte composta com boas propriedades nutricionais, além de ser um óleo com rica e variada composição química (PEIRETTI; MASOERO; TASSONE, 2017). Devido ao aumento significativo da procura e consumo de produtos naturais, os produtos inseridos nesse mercado também apresentaram um aumento expressivo, registrando o depósito de 21 patentes associadas a tecnologia pesquisada no ano de 2014. Segundo o Departamento de Estudos Socioeconômicos Rurais (DESAR) houve um significativo deslocamento no consumo mundial de matérias graxas animais em favor dos óleos vegetais, em decorrência de fatores ligados à saúde, custos de produção, desenvolvimento industrial e versatilidade desse tipo de matéria-prima, isso permitiu a elevação do consumo mundial de óleos vegetais (NUNUES, 2014). E o óleo de semente de uva tem se destacado pelo seu elevado teor de ácidos graxos mono e poli-insaturados, em torno de 85 a 90%; entre eles, o ácido linoleico (C18:2) e oleico (C18:1) (CHOI; LEE, 2009; SHINAGAWA, 2015). No entanto, é possível observar nos últimos anos, 2015 a 2017, uma redução no depósito de patentes, que pode ser explicado devido ao período de sigilo de 18 meses dos documentos de patentes antes de serem publicadas nas bases de dados.

Figura 2- Evolução anual de depósito de patentes.

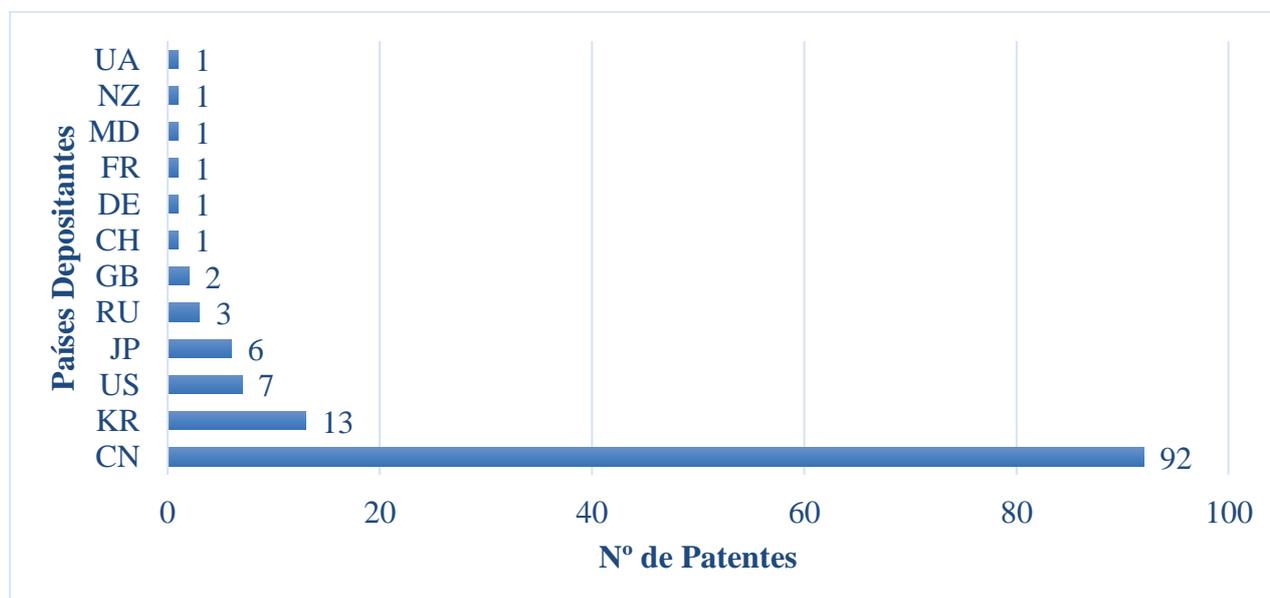
Fonte: Autoria própria (2017).

A uva é um dos produtos mais cultivados no mundo, sendo a China líder na produção, com mais de 12 milhões de toneladas produzidas em 2014, seguida dos Estados Unidos e da Itália (FAOSTAT, 2014). Segundo a FAOSTAT (2014) uma das principais destinações da uva é a fabricação de vinho e suco, sendo que no ano de 2014 o continente europeu reservou mais de 60% de toda a produção vinho, e a França foi na líder produção de vinho com 4,8 milhões de toneladas em 2013, seguida da Itália e da Espanha. Embora a Europa se destaque na produção de vinhos a nível mundial, os países que mais depositaram patentes associados ao uso do óleo da semente de uva não fazem parte da União Europeia. A China foi o país que apresentou o maior número de patentes depositadas, com 77 patentes a mais que a República da Coreia, país que ocupa o segundo lugar em número de depósitos de patente (Figura 3). É importante ressaltar que, de acordo com os dados da FAOSTAT (2014), os países com maior geração de resíduo agroindustriais da produção vinícola, consequentemente de sementes de uva, seriam os países europeus (Itália e França), no entanto a França possui apenas 1 patente depositada e a Itália não possui nenhum depósito de patente no tema, demonstrando um maior interesse dos países asiáticos por essa tecnologia.

Foi notada a ausência do Brasil como país depositante até o ano de 2016. O país já investe em pesquisas relacionadas ao aproveitamento de subprodutos da uva, principalmente nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul, (ROTAVA et al., 2009; FERRARI; KÖCHE, 2010; RIBEIRO et al., 2015) e também pesquisas como as feitas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (RITSCHER; SEBEN, 2010). O não depósito de patentes evidencia a ausência de proteção do conhecimento nesta área, e pode ser justificado pelo fato do país ainda não apresentar uma parceria eficiente entre o governo, empresas e universidades que auxiliem no avanço da Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação, apesar de todos os esforços efetuados na área de Propriedade Intelectual (GARNICA, OLIVEIRA; TORKOMIAN, 2006). Assim, a falta de proteção reflete também a falta de interação da pesquisa acadêmica com o setor empresarial, uma vez que a inovação tecnológica deve ser resultado de um ambiente que produz ciência de ponta e influencia direta e indiretamente o setor produtivo. Com o intuito de incentivar a inovação tecnológica no Brasil foi sancionada a Lei do Marco Legal (Lei 13.243 / 2016) com o principal objetivo de desburocratizar, flexibilizar e integrar o esforço dos agentes que participam do trinômio ciência – tecnologia – inovação no Brasil, buscando corrigir os entraves existentes

na Lei de Inovação Tecnológica (Lei Federal n. 10.973 de 12/2004) (RAUEN, 2016).

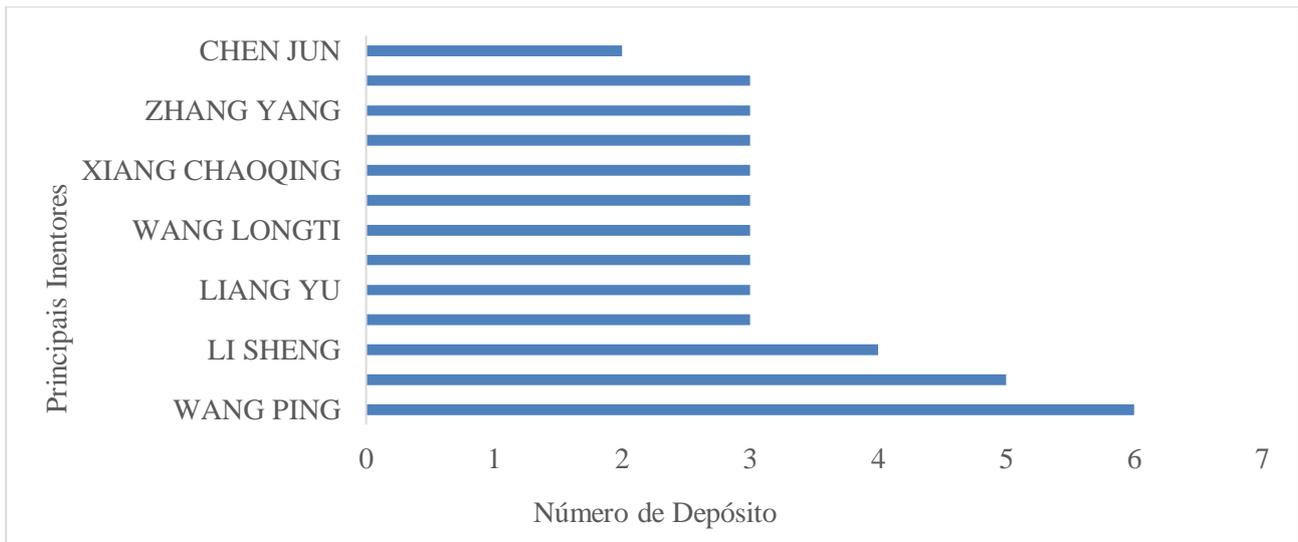
Figura 3 - Principais países depositantes de patentes.



Fonte: Autoria própria (2017). Sendo: CN: China;KR: República da Coreia; US: Estados Unidos;JP: Japão; RU: Rússia; GB: Reino Unido; CH: Suíça;DE: Alemanha;; FR: França; MD: República Moldova; UA: Ucrânia; NZ: Nova Zelândia.

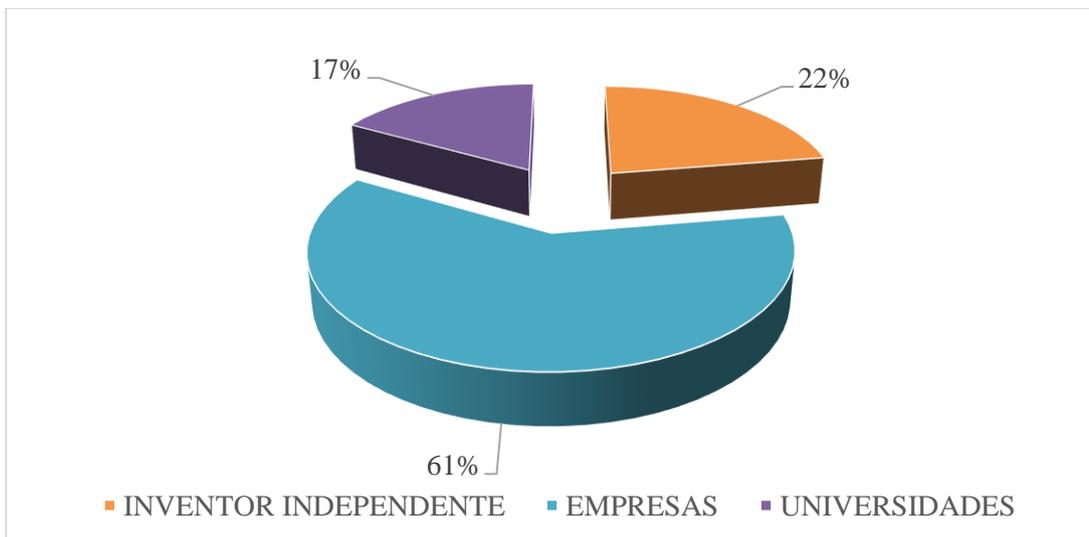
Na Figura 4 observa-se que o inventor com maior número de depósito patentes foi Wang Ping (China) que depositou 6 patentes relacionadas a produção e utilização do óleo de semente de uva em um óleo comestível, com finalidade medicinal. Na patente CN105638926 (A) o inventor descreve uma nova metodologia para a extração do óleo e obtenção de um produto rico nutricionalmente e com efeito benéfico para a saúde. As patentes CN105494684 (A), CN103891924 (A), CN103859068 (A), CN103549037 (A); CN103549037 (B), CN102146317 (B); CN102146317

(A) descrevem o *blend* da matriz (óleo de semente de uva) com outras fontes de óleo vegetal objetivando a combinação de nutrientes para potencializar os efeitos benéficos na saúde. Dentre os principais inventores pesquisados, apenas o inventor de Choi Eun-Miâe (Republica da Coreia), não era chinês. Os demais inventores são da China, país que mais deposita patentes sobre a tecnologia em análise.

Figura 4 -Inventores com mais patentes depositadas.

Fonte: Autoria própria (2017).

Outra análise realizada foi relativa aos principais depositantes. As empresas privadas destacam-se como os maiores detentores da tecnologia pesquisada, seguida das instituições públicas e pessoas independentes. Conforme a Figura 5, as empresas são titulares de 61 % dos documentos de patente depositados relativos a óleo de semente de uva.

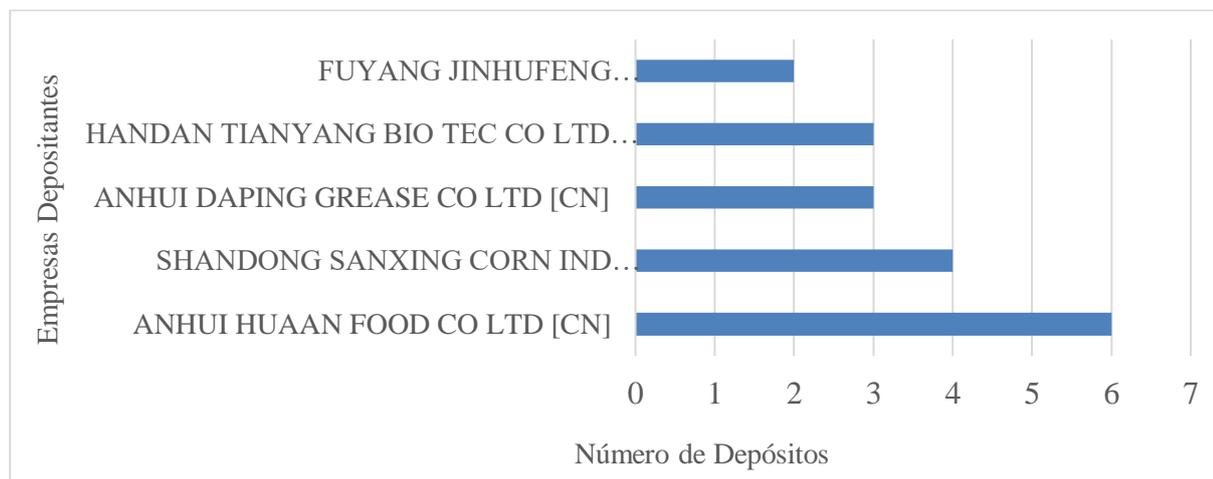
Figura 5- Principais depositantes referente e tecnologia estudada

Fonte: Autoria própria (2017).

A Figura 6 e o Quadro 2 mostram os principais depositantes de patentes, que foram separados em empresas e universidades, respectivamente. Observa-se que, em ambos os casos, os principais depositantes são chineses, o que demonstra o grande interesse do país como um todo na área em questão, visto que a grande maioria das empresas, universidade e

também os inventores independentes depositantes das patentes são deste país. Dentre as empresas, *ANHUI HUAAN FOOD CO LTD*, empresa Chinesa que trabalha com a produção de diferentes matrizes vegetais para extração de óleos, foi a que mais depositou patentes, 6, seguida das empresas *SHANDONG SANXING CORN IND TECH*, também empresa chinesa que produz principalmente óleo de milho e girassol, com 4 depósitos. O incentivo político e governamental para estimular a parceria entre universidades e empresas privadas, na China, é responsável pelo cenário de patentes depositadas na área pesquisada.

Figura 6 - Principais depositantes referente e tecnologia estudada



Fonte: Autoria própria (2017).

As patentes depositadas pela empresa *Anhui Huaan Food Co LTD* descreve a produção óleo de semente de uva, e *blend* com outros óleos, com a finalidade de obter um óleo com características saudáveis, antioxidantes e com efeitos benéficos a saúde (exceto pela patente CN105779115 (A) que apresenta uma tecnologia para extração a frio do óleo de semente de uva). As patentes depositadas pela empresa *Shandong Sanxing Corn Ind Tech*, apresentam a particularidade de utilizar o óleo de milho juntamente com o óleo de semente de uva, ou uma mistura de óleos vegetais, para a obtenção de um óleo comestível de alto valor agregado.

Quadro 2-Instituições depositantes e suas respectivas patentes.

INSTITUIÇÕES	PATENTE
Botan Oil Innovations Inc[Us]	Combinações de óleo botânico e antioxidantes sinergistas super potentes
Evolva Nutrition Inc,[Us]	Gorduras ricas em diacilglicerol, óleos e alimentos funcionais
Inst Publica InstStiintificoPracticHorticultura [MD]	Produto funcional de alimentos na base de óleos vegetais
Liaoning Academy Of Microorganism [CN]	Alimentos saudáveis integrados para regular o equilíbrio imune do corpo humano
Luoyang Guohuafang Peony Biolog Science Institute	Método de extração supercrítica de óleo de semente de uva

Maharach Nat Inst Of Grape And Wine, [Ua]	Processo para a preparação de óleo da semente de uva
Oil Crops Res Inst Caas	Fórmula balanceada de óleo e método de preparação
Sanglin Biolog Science Technol, [Cn]	Método para extração de óleo de semente de uva espinha
Univ Changsha Science [CN]	Óleo comestível de cuidados de saúde para o outono e método de preparação de alimentos comestíveis
Univ Gansu Agricultural [CN]	Método para extração e purificação de óleo de semente de uva a partir de sementes de uva
Univ Henan Science & Tech [CN]	Óleo de blendas de semente com redução de lipídios e efeitos de redução de glicose no sangue
Univ Jishou [CN]	Método para a extração contínua de ingredientes ativos a partir de sementes de uva
Univ Kubanská, [RU]	Óleo combinado
Univ Massey [CN]	Emulsão compreendendo lípido de núcleo revestido com nanoemulsão
Univ Nanchang [CN]	Método de modificação de amido poroso e aplicação em óleo em pó
Univ Northwest A&F [CN]	Método de extração a frio do óleo de semente de uva
Wuxi Scient Res & Design Inst, [Cn]	Método para extração de óleo de semente de uva e procianidina a partir de sementes de uva

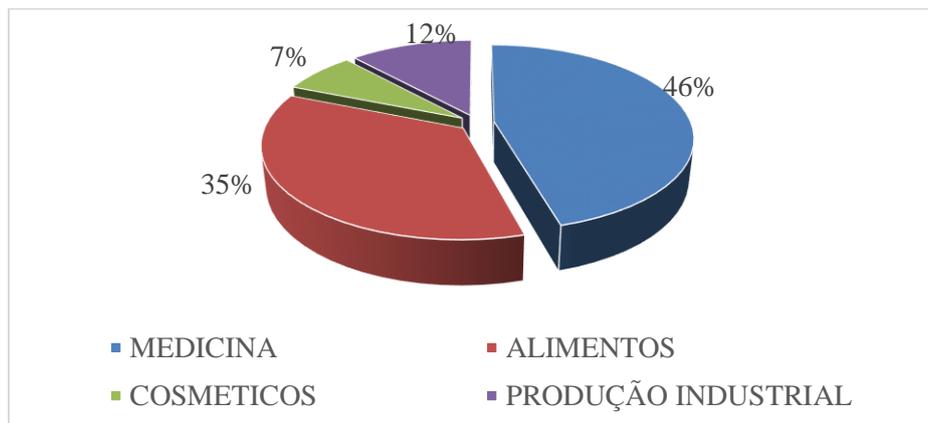
Fonte: A autoria própria (2017).

Entre as instituições depositantes foi observado que dentre as universidades, cada uma delas depositou apenas uma patente. As patentes envolvem os métodos de extração de óleo de semente de uva, e descreve a tecnologia para utilização deste como um óleo de potencial benéfico. Se comparadas com as empresas, é possível notar um menor empenho das universidades/instituições, e inventores independentes para o desenvolvimento de novas tecnologias para o aproveitamento do óleo de semente de uva. Deixando nítido, então, que os desenvolvimentos de tecnologias aplicadas para óleo de semente de uva são de grande potencial econômico.

Na Figura 7 retratam-se as principais aplicações industriais e tecnológicas. De acordo com o visualizado existe uma maior ocorrência de sua utilização para área medicinal. Segundo estudo feito por Shingawa e colaboradores (2015), a utilização de óleo de semente de uva na área medicinal pode ser explicada pelo o crescimento do mercado para produtos naturais, e suas diversas formas de aplicabilidade, principalmente pelos componentes químicos de grande importância biológica deste óleo que desempenha atividade antioxidante, que inclui diversos metabólitos: fitoesteróis, tocoferóis, tocotrienóis, flavonóides, ácidos fenólicos e carotenóides e vitaminas E. Cirqueira e colaboradores (2017) afirmam que devido as funções bioativas em que se insere as matrizes de alimentos, estes estão sendo reportados profusamente na área científica como

benéficos a saúde.

Figura 7-Principais aplicações do óleo de semente de uva



Fonte: Autoria própria (2017).

O percentual majoritário para a produção dos óleos de semente de uva existentes hoje no mercado tem o objetivo de conferir características benéficas à saúde. Esta aplicação é principalmente associada a prevenir e combater doenças cardiovasculares. O que está de acordo com os estudos de Cao e Ito (2003), que destacam a função cardioprotetor do óleo de semente devido as suas propriedades contra a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDLs); redução do colesterol; dilatação dos vasos sanguíneos, e regulação do sistema nervoso autônomo.

CONCLUSÃO

A partir da busca de dados foi possível concluir que a China é o país que mais tem desenvolvido e protegido a tecnologia estudada, detendo 69% de todas as patentes encontradas. E mesmo que a China não se encontre entre os países maiores produtores de vinho, é atualmente o maior produtor de uvas do mundo e possui um alto desenvolvimento tecnológico aplicado.

A metodologia de análise de patentes utilizada se mostrou uma importante ferramenta para a análise e acompanhamento da evolução de tecnologia e de interesses de mercado de empresas e instituições em relação a produção do óleo de semente de uva.

O óleo de semente de uva apresenta grande potencial econômico, sendo as empresas privadas as maiores detentoras de patentes, e a pesquisa voltada a aplicação com fins medicinais, a mais estudada. Na base de dados pesquisada, o Brasil, até o ano de 2016, não apresentou nenhuma patente para aproveitamento de sementes de uvas para a produção de óleo. Porém, se estes setores (academia-Empresa) estivessem trabalhando de forma integrada, acredita-se que a proteção do conhecimento gerado seria uma consequência natural. Portanto, é importante a compreensão por parte do setor industrial, centros de pesquisas e desenvolvimento, universidade e governo que a proteção de suas atividades e tecnologias por meio do depósito de patentes é fundamental para a competitividade, notoriedade e desenvolvimento do país.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Lei N. 10.973, de 2 de dezembro de 2004. **Dispõe sobre Incentivos à Inovação e à Pesquisa Científica e Tecnológica no Ambiente Produtivo.**

CAMARGO, U. A. Impacto das cultivares brasileiras de uva no mercado interno e potencial no mercado internacional. In: **Anais do XI congresso brasileiro de viticultura e enologia. Embrapa-CNPUV, Bento Gonçalves.** 2008. p. 37-42.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1021, n. 1, p. 117-124, 2003.

CHOI, Y.; LEE, J. Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction from grape seeds. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1386-1390, 2009.

CHOUGUI, Nadia et al. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. **Food chemistry**, v. 139, n. 1, p. 796-803, 2013.

CIRQUEIRA, Marina Gonçalves et al. Phytochemical importance and utilization potential of grape residue from wine production. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 5, p. 179-192, 2017.

CLOSS, L. et al. Intervenientes na transferência de tecnologia universidade-empresa: o caso PUCRS. **Revista de Administração Contemporânea**, v. 16, n. 1, p. 59-78, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA — EMBRAPA. Bagaço de uva vira alimentos funcionais. Brasília, 2014.

FAOSTAT. © FAO Statistics Division 2014, production-crops. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 09 Fev. 2017.

FAOSTAT. © FAO Statistics Division 2014. Crops processed- Wine- 2000-2014. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QD/E>>. Acesso em 09. Fev. 2017.

FERNANDES, L. et al. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161-166, 2013.

FREITAS, L. S. et al. Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2558-2564, 2008.

GUO, Lei et al. Direct in vivo evidence of protective effects of grape seed procyanidin fractions and other antioxidants against ethanol-induced oxidative DNA damage in mouse brain cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5881-5891, 2007.

HANSON JR, HAROLD W.; MUNHOFEN, C.. **Low temperature release agent compositions particularly useful for frozen food products.** U.S. Patent n. 4,420,496, 13 dez. 1983.

MANTENA, S. K.; BALIGA, M. S.; KATIYAR, S. K. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1682-1691, 2006.

SOUZA, R. de C. de. Estudo prospectivo das aplicações do óleo de semente de uva a partir de mapeamento em documentos de patentes.

NUNES, S. Produção e consumo de óleos vegetais no Brasil. **Boletim Eletrônico do Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais**, v. 159, p. 1-10, 2014.

PARRY, J. et al. Chemical compositions, antioxidant capacities, and antiproliferative activities of selected fruit seed flours. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 11, p. 3773-3778, 2006.

PASSOS, C. P. et al. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitisvinifera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 2, p. 634-640, 2010.

PUIGGRÒS, F. et al. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6080-6086, 2005.

ROMBAUT, N. et al. Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. **ComptesRendusChimie**, v. 17, n. 3, p. 284-292, 2014.

SCOPEL, F.; GREGOLIN, J. A. R.; FARIA, L. de. Tendências tecnológicas do uso do sisal em compósitos a partir da prospecção em documentos de patentes. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 514-520, 2013.

SHINAGAWA, F. B. et al. Efeito do óleo de semente de uva prensado a frio nos marcadores bioquímicos e perfil inflamatório de ratos. **Rev. nutr**, v. 28, n. 1, p. 65-76, 2015.

VINSON, J. A. et al. Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidinextract and a niacin-bound chromium in a hamster atherosclerosismodel. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v 240, n. 1-2, 99-103,2002.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 255-260, 2004.

WANG, Y. J. et al. Consumption of grape seed extract prevents amyloid- β deposition and attenuates inflammation in brain of an Alzheimer's disease mouse. **Neurotoxicity research**, v. 15, n. 1, p. 3-14, 2009.

Capítulo III

Artigo II- Efeito do pré-tratamento com ultrassom no rendimento e características químicas do óleo de semente de uva obtido por diferentes métodos.

Efeito do pré-tratamento com ultrassom no rendimento e características químicas do óleo de semente de uva obtido por diferentes métodos.

The Effect of Ultrasound Pretreatment on Yield and Chemical Characteristics of Seed Grape Oil Obtained by Different Methods.

Rita de Cássia de Souza¹, Gabriele Abreu Barreto², Ingrid Lessa Leal², Jeancarlo Pereira dos Anjos², Bruna Aparecida Souza Machado², Marcelo Andres Umsza-Guez¹

¹Programa de Pós-Graduação de Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Campus Ondina, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.

²Faculdade de Tecnologia, SENAI / CIMATEC, Salvador-BA,

Resumo

A indústria de processamento de uvas é responsável pela geração de 12 milhões de toneladas/ano de resíduos, dos quais aproximadamente 3 milhões corresponde a sementes, que podem causar sérios problemas ambientais, quando não devidamente descartados. No entanto, as sementes são fonte de óleo podendo ser aproveitados como subprodutos com aplicações nutricionais, cosméticas e farmacêuticas. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do pré-tratamento por ultrassom em semente de uva e avaliar o rendimento e as características químicas do óleo obtido. O efeito das variáveis temperatura e tempo de aplicação do ultrassom nas sementes foi avaliado por meio de extrações por Soxhlet (Sox) e Bligh Dyer (BD). A Extração Supercrítica (EFS) foi realizada de acordo com os parâmetros obtido nas extrações por Sox e BD e os óleos obtidos pelas diferentes metodologias foram comparados. O ultrassom influenciou positivamente na extração do óleo, com aumento significativo de 32,1; 20,31; e 12,54% para rendimento e 311; 234; e 184% de fenólicos totais para os óleos obtidos por Sox, BD e EFS, respectivamente. A composição dos ácidos graxos obtidos por EFS apresentaram maiores proporções de ácidos graxos insaturados. A análise gravimétrica indicou que o óleo obtido, para todos os métodos de extração avaliados, apresenta alta estabilidade térmica, sofrendo degradação em temperaturas acima de 370°C. Os resultados apresentados neste trabalho indicam que o pré-tratamento por ultrassom pode ser um meio viável para melhorar a eficiência da extração de óleo e obtenção de compostos fenólicos a partir da semente de uva, válido para os três métodos estudados, desatacando-se EFS que, além da eficiência, não necessita de solventes orgânicos.

Palavras-chave: Vitis Vinifera. Extração Supercrítica; Resíduos Agroindustriais; Compostos Bioativos; Ácido Linoléico.

Abstract

The grapes processing industry is responsible for the generation of 12 million tons / year of waste, which approximately 3 million corresponds to seeds, that can cause serious environmental problems when not properly discarded. However, the grape seeds are a source

of oil, and it can be used as by-products with nutritional, cosmetic and pharmaceutical applications. The aim of this work was to evaluate the effect by ultrasound as pre-treatment on the grape seed, and to evaluate it in terms of extraction yield and physical-chemical characteristics of the oil obtained. The Supercritical Fluid Extraction (SFE) was performed according to the parameter obtained by Sox and BD extractions, and the oils obtained by the different methodologies were compared. Ultrasound pretreatment was highly effective in the oil extraction, not only increasing significantly oil yield (32.1; 20.31; 12.54%), but also total phenolic content for the oils (311; 234; 184%) to the oils obtained by Sox, BD and SFE, respectively. The fatty acids composition by SFE showed higher proportions of unsaturated fatty acids. The gravimetric analysis indicated that the obtained oil, for all extraction methods evaluated, presents high thermal stability, suffering degradation at temperatures above 370 ° C. The results presented in this work indicate that the ultrasonic as pretreatment of the seed would be a viable method to improve the efficiency of oils extractions, and also to obtain phenolic compounds in the three the extraction methods studied, highlighting the SFE that besides the good efficiency does not need to use organic solvents.

Keywords: Vitis Vinifera; Supercritical Extraction.; by product; Bioactive Compound; Linoleic Acid.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2016) a uva (*Vitis* spp.) é o alimento com a maior área dedicada para o seu cultivo, sendo consumidas *in natura*, bem como na forma de vinho, suco, geléias e outros (LIANG et al., 2014; CIRQUEIRA et al., 2017). Cerca de 70% da cultura de uva processada é destinada especialmente para a produção de vinhos, 27% é consumida como fruta fresca, e 2% consumida como frutos secos (MENEZES et al., 2018). Globalmente, no processo de produção de vinho são gerados aproximadamente 12 milhões toneladas/ano de bagaço (sementes, caules e cascas) (CIRQUEIRA et al., 2017), somente no Brasil são 210 mil toneladas/ano (EMBRAPA, 2014). As sementes representam aproximadamente 38% a 52% dos resíduos sólidos gerados pela indústria vinícola, sendo assim, a nível mundial, aproximadamente três milhões de toneladas são geradas por ano (FERNANDES et al., 2013; ROMBAUT et al., 2014; BRENES et al., 2016).

Atualmente, as questões ambientais, de sustentabilidade e eco eficiência têm chamado a atenção para aproveitamento de resíduos agroindustriais como uma potencial fonte de compostos de alto valor agregado para aplicação na indústria de alimentos (GARCIA-LOMILLO et al., 2017), cosméticos (GLAMPEDAKI; DUTSCHK, 2014), indústrias

farmacêuticas (RABRENOVIC et al., 2014; MENEZES et al., 2018), produção de biodiesel (FERNÁNDEZ et al., 2010; MANNA et al., 2015), entre outros setores.

A extração do óleo de semente de uva se apresenta como uma alternativa de utilização dos resíduos agroindustriais. A semente possui entre 8-20% de óleo, que é um dos componentes de maior interesse nessa matriz, pois contém ampla variedade de compostos fitoquímicos como taninos polifenólicos, sendo o ácido gálico e monómeros catequina e epicatequina os principais compostos deste grupo (FREITAS et al., 2013; ROMBAUT et al., 2014; HOGERVORST et al., 2017). Este subproduto da vinificação possui inúmeros benefícios para a saúde, principalmente pela presença de vitamina E (antioxidante natural), que tem propriedades cardioprotetoras capaz de diminuir os níveis de colesterol (FREITAS et al., 2008; BERES et al., 2017; DURDEVIC et al., 2018), além de possuir uma alta composição de ácidos graxos (cerca de 90%), especialmente os ácidos graxos poli-insaturados, nos quais se destacam o $\omega 6$ e $\omega 3$, derivados do ácido linoléico (C18: 2) e do ácido linolênico (C18: 3), respectivamente, que apresentam propriedades cardioprotetoras (Yi et al., 2009; FREITAS et al., 2013), e são essenciais para o metabolismo humano já que não podem ser sintetizados pelo organismo (LACHMAN et al., 2015; HADIAN, 2016).

As técnicas convencionais de extração com solventes orgânicos (metanol, hexano, clorofórmio, acetato de etilo, acetona, éter, etc), tais como o Soxhlet, são comumente aplicadas para obtenção de compostos bioativos pela indústria. Porém, estas técnicas não são *ecofriendly*, fato que impulsiona a investigação de novas técnicas de separação "verdes", que usem menor quantidade de solventes e energia. Como exemplos, tem-se a extração por fluido supercrítico (MACHADO et al., 2013; COELHO et al., 2018) micro-ondas (JACOTET-NAVARRO, et al., 2016) ultrassom (BARRALES et al., 2015) extração com água subcrítica (DUBA et al., 2015).

A tecnologia de Extração por Fluidos Supercríticos (EFS) favorece a obtenção de compostos bioativos e supera muitas limitações que existem em outras metodologias de extração. Devido às suas propriedades de transporte melhoradas, a EFS permite o controle da densidade do fluido alterando a sua pressão e/ou temperatura, proporcionando assim extrações mais rápidas (MACHADO et al., 2013; MELO; SILVESTRE & SILVA, 2014; DURDEVIC et al., 2017). A EFS com dióxido de carbono (CO₂) é particularmente vantajosa, devido este solvente não ser tóxico, apresenta pressão crítica moderada (73 atm) e temperatura crítica relativamente baixa (31 °C), que o torna ideal para a extração de compostos termicamente sensíveis. Após a extração, o solvente pode ser totalmente separado por descompressão, sendo que o CO₂ usado pode ser reciclado (MACHADO et al., 2013). Contudo, a EFS apresenta a

desvantagem de não permitir agitação, que poderia aumentar os coeficientes de transferência de massa, tornando o método ainda mais atraente. Uma forma de minimizar esta deficiência é aplicação de um pré-tratamento por ultrassom, que tem sido incorporada a outras técnicas de extração para aumentar a eficiência do sistema convencional (BARRALES et al., 2015; BERES et al., 2017). O pré-tratamento com ultrassom provoca a cavitação que é capaz de gerar ondas de choque que se propagam radialmente para fora, a partir do ponto de colapso no fluido circundante. Esse fenômeno contribui para o aumento dos coeficientes de transferência de massa. Além disso, a cavitação ajuda a romper as estruturas celulares de vegetais, facilitando a interação entre solventes e os compostos de interesse (SAMARAM, et al., 2015; CHEMAT et al, 2017). Portanto, a aplicação do pré-tratamento com ultrassom na matriz a ser extraída por EFS pode reduzir o tempo e incrementar o rendimento de extração, diminuindo assim os custos de produção dos extratos (REÁTEGUI et al., 2014; BARRALES et al., 2015). Diante do exposto, esse estudo teve como objetivo avaliar a influência do pré-tratamento com ultrassom em diferentes condições (tempo, temperatura), aplicado em sementes de uva submetidas a diferentes métodos de extração (Soxhlet, Bligh e Dyer e EFS-CO₂), por meio do cálculo do rendimento e determinação de características físico-químicas do óleo obtido.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Hexano, metanol e acetato de etila foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Germany). Metanol usado na esterificação com Trifluoreto de boro (BF₃) como catalizador foi comprado da Supelco (Supelco Park, PA, USA). Uma mistura de 14 Esteres Metílicos de Ácidos Graxos (FAMES) foi comprado da Sigma–Aldrich (Mix C8- C24, CRM 18918 Supelco).

2.2. Amostras

O resíduo da produção de vinho da variedade *Syrah* foi gentilmente cedido pelas vinícolas do Vale Submédio do São Francisco, Brasil. As sementes foram separadas manualmente das cascas e posteriormente lavadas em água destilada, secas por 20 horas em estufa de circulação (40 °C), embaladas a vácuo e mantidas em congelador a -18 °C até a sua utilização.

2.3. Determinação das condições de pré-tratamento da semente

Para escolha da melhor condição para o pré tratamento com ultrassom foram realizadas extrações pelas metodologias de Soxhlet e Bligh Dyer, utilizando sementes

previamente pré-tratadas com o ultrassom variando tempo e temperatura. Os óleos obtidos foram analisados, e as variáveis repostas para determinar a melhor condição foram: rendimento do óleo, perfil de ácidos graxos e teor de fenólicos totais.

O pré-tratamento da semente com ultrassom foi realizado em sonicador (50-60 Hz, 165W RMS – Quimis, Brasil), utilizando diferentes condições de tempo e temperatura conforme apresentado na Tabela 1. Em cada tratamento as sementes de uvas foram colocadas dentro de um saco de polietileno e dispostas cesto que compõe o equipamento, cobertas por uma tampa de metal, a fim de proporcionar a imersão total em água. Após o pré-tratamento com ultrassom, as sementes foram moídas num triturador (Di Grano, Cadence, Brasil) e tamizadas (Bertel, Tyler, Brasil) para se obter partículas de sementes com um diâmetro inferior a 0,5 mm. O pó obtido da semente foi usado para extração de óleo por Soxhlet (Sox) e Bligh e Dyer (BD). Para cada método foi realizada uma extração de óleo sem o pré-tratamento (ST) da amostra por ultrassom, utilizada nesse como controle estudo. Após a avaliação dos diferentes óleos obtidos, a melhor condição encontrada após avaliar as variáveis respostas os resultados para Sox e BD, foi aplicada para método de Extração por Fluido Supercrítico (EFS), seguindo os mesmos parâmetros de pré- tratamento e moagem da semente. Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

Tabela 1. Condições de pré-tratamento por ultrassom (Frequência de 50-60 Hz) empregadas nas sementes de uva (var. Syrah).

Código da amostra		Temperatura (°C)	Tempo de sonicação
BD:ST (controle)	Sox:ST (controle)	Ambiente (± 25 °C)	Não aplicado
BD:20-10	Sox:20-10	20	10
BD:20-30	Sox:20-30	20	30
BD:20-50	Sox:20-50	20	50
BD:30-10	Sox:30-10	30	10
BD:30-30	Sox:30-30	30	30
BD:30-50	Sox:30-50	30	50
BD:50-10	Sox:50-10	50	10
BD:50-30	Sox:50-30	50	30
BD:50-50	Sox:50-50	50	50
EFS: ST		Ambiente (± 25 °C)	Não aplicado
EFS:30-30		30	30

BD: Bligh & Dyer; Sox: Soxhlet; EFS: Extração com Fluido Supercrítico.; ST (sem tratamento)

2.4. Extrações Soxhlet

Amostras de 10 g de sementes de uva moídas foram colocadas no cartucho de extração e o balão de extração foi preenchido com 150 mL de hexano. As extrações foram realizadas de acordo com a metodologia adaptada de Fiori et al. (2014). A extração ocorreu com tempo total 6 horas, e a recuperação do solvente foi feita em evaporador rotativo com temperatura do banho de 40 °C e velocidade de rotação de 30 rpm. Os óleos obtidos foram armazenados em condições de atmosfera inerte (N₂) para evitar degradação e mantidos a -18 °C até o momento do seu uso.

2.5. Extração a Frio (Bligh & Dyer)

Foram pesadas aproximadamente 10 g de sementes de uva moída em frasco Erlenmeyer. A extração foi feita utilizando uma mistura de clorofórmio, metanol e água pelo método de Bligh e Dyer, no qual a extração do óleo é realizada a frio (BLIGH; DYER, 1959). Os óleos obtidos foram armazenados em condições de atmosfera inerte (N₂) para evitar degradação e mantidos a -18 °C até o momento do seu uso.

2.6. Determinação do rendimento do óleo

Após cada extração, a porcentagem de óleo extraído foi calculada conforme a Eq. (1):

$$\text{Óleo (\%)} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{semente}}} \times 100 \quad (1)$$

Onde $m_{\text{óleo}}$ é a massa de óleo extraída (g), e m_{semente} é a massa de semente de uva (g) usada em cada extração.

2.7. Análise de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa

Os perfis de ácidos graxos foram determinados para as amostras de óleos em todas as condições experimentais do planejamento da Tabela 1, pelo método de cromatografia em fase gasosa (CG) por FAMES (AOCS, Método Oficial Ce 2-66, 1998) utilizando cromatográfico a gás acoplado a um espectrômetro de massas (SHIMADZU, GCMS-2010 Plus), com um injetor *split/splitless* operando no modo *splitless* a uma temperatura de 310 °C, equipado com coluna capilar (CP Agilent J&W DB-5ms 30 m x 0,25 mm ID; 0,25 µm de espessura de filme) usando hélio como gás de arraste (White Martins S.A., P.A., grau cromatográfico). Foi realizada a seguinte programação: temperatura inicial de 70°C por 2 minutos, elevada para 200°C na taxa de 30°C min⁻¹ e finalizando a 300°C a 5°C min⁻¹ e vazão de hélio de 1,12 mL.min⁻¹. Para o detector de massas foram utilizadas as temperaturas da linha de transferência

a 280°C, fonte de íons a 250°C, e modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV. Após a reação de transesterificação catalisada com BF₃, a preparação da amostra foi feita através da injeção direta e posteriormente uma diluição do extrato em isoctano (grau cromatográfico). A identificação dos ácidos graxos foi feita no modo de monitoramento do íon seletivo (SIM - *Selected Ion Monitoring*), sendo escolhido um íon específico para cada analito. A quantificação dos componentes principais foi conduzida pelo método da normalização de áreas.

2.8. Teor de Fenólicos Totais (Método de Folin-Ciocalteu).

A determinação do Teor de Fenólicos Totais (TFT) foi realizada de acordo com o método utilizado por Capannesi et al. (2000), como se segue: 2,5 g de óleo de semente de uva foram diluídos com 2,5 ml de n-hexano e extraídos três vezes por 10 min de centrifugação (3000 rpm) com CH₃OH: H₂O 80:20 v/v. O extrato foi adicionado a 2,5 ml de reagente de Folin-Ciocalteu, 5 ml de Na₂CO₃ (7,5%), em um balão volumétrico de 50 ml, atingindo o volume final com água destilada. As amostras foram armazenadas *por 15 horas*, e a análise espectrofotométrica foi realizada em $\lambda=765$ nm. Ácido gálico foi usado como padrão ($R^2=0,999$), e os resultados foram expressos em miligramas de Equivalente de Ácido Gálico (EAG) por 100 grama de extrato.

2.9. Extração com Fluido Supercrítico

Após a escolha da melhor condição de pré-tratamento, conforme descrita no item 2.3, foi realizada a EFS do óleo de semente de uva para comparação com os óleos obtidos por Soxhlet e Bligh e Dyer.

Para obtenção do óleo a, foi usada a unidade piloto Supercritical Fluid Extractor SFT-110 (Supercritical Fluid Technologies, Inc.). Em cada experimento a célula de extração foi preenchida com 65 g de semente moída. As condições de extração foram: temperatura constante de 50 °C, pressão de 50 MPa e vazão de CO₂ de 6 g/min, e com duração de, aproximada, 1,5 h (DUBA; FIORI, 2015; MACHADO et al., 2015). Os óleos foram coletados em *vial* e armazenados em condição de atmosfera inerte (N₂) para evitar degradação. Os extratos foram mantidos a -18°C até o momento do uso. Para os óleos obtidos por EFS foram determinados: rendimento, perfil de ácidos graxos e fenólicos totais, conforme os itens 2,5, 2.6 e 2.7, respectivamente. Posteriormente foram realizadas para os três métodos de

extração (EFS, Sox e BD) as análises de atividade antioxidante e análise termogravimétrica descritas a seguir nos itens 2.10 e 2.11, respectivamente.

2.10. Atividade Antioxidante

A análise da atividade antioxidante de 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). A solução de DPPH (250 µM) foi preparada em acetato de etila, homogeneizada e mantida no escuro por 1 hora para permitir a formação de radicais livres. A amostra de óleo de semente uva foi pesada e diluída em acetato de etila. Foram coletados 1000 µL da solução e adicionados em um tubo de ensaio, e em seguida, 3000 µL de DPPH foram acrescentados. A leitura da absorbância foi realizada, após 30 min, em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 25, Perkin Elmer, EUA) a 517 nm. Para avaliar a atividade de eliminação de radicais, obteve-se a porcentagem de inibição, de acordo com a equação de Mensor et al. (2001):

$$AA(\%) = (A_a - A_b) \times 100 \div A_c \quad (2)$$

Onde: A_a = absorbância da solução de DPPH sem adição de amostra; A_b = absorbância da mistura de solução de DPPH e amostra; A_c = absorbância da solução em branco sem DPPH.

2.11. Análise Termogravimétrica

Curvas termogravimétricas (TGA) das amostras do óleo de uva sem tratamento e com pré-tratamento da melhor condição de sonicação. Cada amostra foi acondicionada em micro cadinhos de platina, pré-pesada em balança termométrica (Shimadzu, TGA 50 H, Brasil). As condições de análise foram: massa de amostra, 11,5 mg; vazão de gás nitrogênio de 50 mL/min; taxa de aquecimento de 10 °C/min; e faixa de temperatura de 25 a 600 °C (FERREIRA et al., 2015). A análise foi realizada em atmosfera de nitrogênio pois a degradação ocorrida é menor quando comparada à degradação em atmosfera de oxigênio. Isso ocorre, pois, o nitrogênio é um gás inerte que não reage com os triglicerídeos sendo a perda de massa relacionada somente com a degradação térmica (SOLÍS-FUENTES et al., 2010).

2.12. Análise Estatística

As determinações analíticas foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% de significância ($p > 0,05$), usando o programa *Statistica* (Statsoft Inc., Tusla, USA) versão 7.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação das condições de pré-tratamento.

3.1.1. Rendimento dos óleos obtidos por Soxhlet e Bligh e Dyer em diferentes condições de pré-tratamento.

Na Figura 1, são apresentados os rendimentos dos óleos obtidos pelos métodos de extração: Soxhlet e Bligh e Dyer em diferentes condições tempo e temperatura, com sonicação constante.

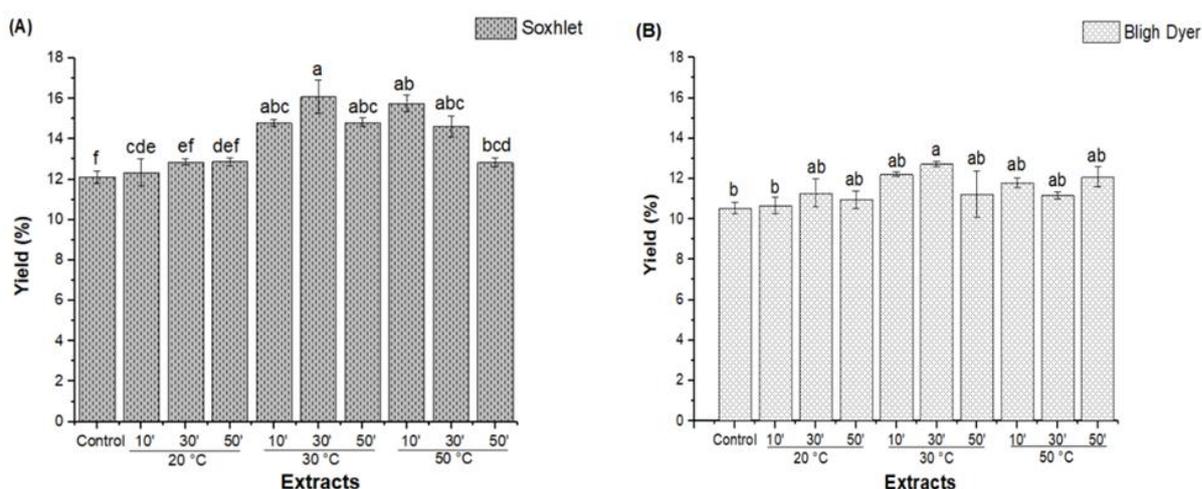


Figura 1- Resultado do rendimento do óleo de semente de uva por (A) Soxhlet e (B) Bligh e Dyer em diferentes condições de tempo e temperatura com sonicação constante (50-60Hz). As barras representam o erro padrão. As diferenças significativas do óleo para cada metodologia de extração (teste Tukey, $p < 0,05$) são indicadas por letras diferentes em cada figura

Conforme mostrado na Figura 1 (A), a extração por Sox apresentou valores de rendimento do óleo variando entre 12-16%. Pode-se observar que o rendimento do óleo de semente de uva sofreu influência da temperatura e tempo de sonicação. A condição de 30:30 apresentou o maior resultado de rendimento do óleo, com incremento de aproximadamente 33% em comparação com a amostra sem tratamento por ultrassom (Sox: ST). Comportamentos semelhantes em que o uso de ondas ultrassônicas aumentou o rendimento do óleo de semente de uva foi relatado por Da Porto et al., (2015) que obteve um incremento de 23%. Samaram et al. (2015) também relataram que o rendimento de extração do óleo de

semente de mamão papaia aumentou significativamente com o tempo de extração e temperatura utilizada na aplicação do ultrassom. Essa condição 30:30 foi significativamente diferente do controle e das amostras extraídas em temperatura de 20 °C. Porém, com exceção da amostra 50:50, não apresentou diferença significativa das extrações em 50 °C.

Em processos de extração, o controle da temperatura é importante e pode contribuir para a eficiência de extração (PALMA et al., 2013; CHEMAT et al., 2017). Nas extrações com pré-tratamento por ultrassom, isto pode ser explicado pelo fato de que o processo de ultrassom aliado ao aumento da temperatura poderia facilitar a transferência de óleo do pó de sementes para o meio aquecido devido ao aumento no número de bolhas de cavitação que irá permitir uma maior área de contato matriz-solvente. No entanto, é importante escolher uma temperatura de extração de acordo com o composto alvo de extração, pois a temperatura elevada pode afetar os compostos biologicamente ativos no óleo que são termicamente instáveis e/ou fotossensíveis. A otimização do parâmetro de temperatura pode ser realizada para obter o maior rendimento dos compostos alvo sem degradação, uma vez que este parâmetro pode variar dependendo do tipo de produto (SAMARAM et al., 2015; CHEMAT et al., 2017).

O rendimento da extração do óleo obtido por BD (Figura 1B) com as sementes pré-tratadas na condição 30°C e 30 min é significativamente maior ($p < 0,05$) do que sem pré-tratamento ultrassônico (BD:ST), com rendimento aumentado de 10% para aproximadamente 13%. O resultado obtido neste trabalho corrobora com um estudo de Araujo et al. (2013), que observaram que o pré-tratamento com ultrassom e posterior extração por BD resultou em uma maior extração de lipídios de microalgas quando comparada como controle (sem ultrassom). Para os óleos obtidos com mesmas condições de temperatura, independentemente do tempo de exposição ao ultrassom, não apresentaram diferenças significativas entre si em relação ao rendimento do óleo.

A tecnologia ultrassônica melhora em grande parte a eficiência de extração dentro de um determinado tempo (ZHANG et al., 2017). A maior eficiência no rendimento encontrada foi o período de 30 minutos, para ambas as metodologias, indicando que este tempo foi o suficiente para o fenômeno da cavitação promovido pela aplicação do ultrassom, alcançando em 30 minutos de sonicação o tempo ótimo de pré-tratamento.

Ao comparar os óleos obtidos pelo pré-tratamento por ultrassom, em ambos os métodos de extração, com a amostra controle é possível perceber a influência positiva do ultrassom no rendimento. Este fator é principalmente associado com as rupturas na estrutura

vegetal, promovendo a liberação de compostos que não estavam disponíveis anteriormente, além de permitir uma maior eficiência na penetração do solvente na matriz sólida, intensificando a transferência dos compostos (CHEMAT et al., 2017; PEREIRA et al., 2017).

3.1.2 Perfil de Ácidos Graxos

A fração lipídica das sementes de uva foi composta principalmente por ácido linoléico (C18: 2) (52,3-62,0%), palmítico (C16:0), (18,56-27,28%) esteárico (C18:0) (8,77-13,65%), oléico (C18:1) (4,49-7,48%) e linolênico (C18:3) (0,13-0,20%) que foram detectados em todas as amostras dos óleos, obtidos por Sox e BD (Dados não mostrados).

No estudo realizado por Fernandes et al. (2013) para o perfil de ácidos graxos do óleo de semente de uva (Tinta Barroca) foi encontrado 60,4-65,4% e 8,0-9,0% para o ácido linoléico e palmítico respectivamente. Em outros estudos, com sementes de diferentes variedades de uvas, Freitas et al. (2013); Da Porto et al. (2015), Coelho et al. (2018) encontraram 62,6- 69,1% e 6,55-9,81% (Herbemont e Isabel); 71,5-72,3% e 6,83-7,22% (Raboso Piave); 64,5-67,3% e 7,53-8,13% (Portuguesa) de ácido linoléico e palmítico respectivamente. Os resultados encontrados, neste estudo, para o ácido linoléico (52-62%) estão de acordo com os encontrados com os autores citados, que referem o ácido linoléico como o mais abundante ácido graxo no óleo de semente de uva. No entanto, a quantidade encontrada para o ácido palmítico (18-27%), neste estudo, foi muito superior as encontrados nos trabalhos citados. Não foi encontrado na literatura estudos sobre o perfil de ácidos graxos de óleo de uva da variedade *Syrah*, mas em estudo conduzido por este grupo de pesquisa Amorim et al. (2016) encontrou para um produto a base de casca de uva *Syrah*, uma concentração de ácido palmítico de 26,37%.

Além dos ácidos graxos principais, neste trabalho, outros ácidos graxos foram identificados e quantificados, como: mirístico (C14: 0), araquídico (C20: 0), behênico (C22: 0), palmitoleico (C16: 1) (Dados não mostrados). As Tabelas 2 e 3 apresentam o somatório dos ácidos graxos saturados (AGS), Ácidos Graxos Monoinsaturados (AGMI), Ácidos Graxos Poli-insaturados (AGPI), e a relação AGPI/AGS do óleo de semente de uva obtido por Sox e BD, respectivamente.

Ao considerar a classificação geral dos ácidos graxos obtidos para ambas as metodologias (Tabela 2 e 3), verificou-se que o óleo de semente de uva na sua composição apresentou maior valor de ácidos graxos poli-insaturados em todas as condições de pré-tratamento e também na amostra controle. Estes dados estão de acordo com os resultados de

outros trabalhos com óleo de semente de uva, extraído por Sox (SABIR; UNVER; KARA, 2012; DA PORTO et al., 2013; MOHAMED et al, 2016) e extração a frio (LUTTERODT et al. (2011); JORGE; SILVA, 2012) . Os resultados obtidos para a Sox:30-30 mostraram uma diferença significativa ($p < 0,05$) na fração de ácidos graxos poli-insaturados em comparação com todas as amostras de óleo obtidas nesta metodologia. Para BD, as condições BD:30-30, BD:30-10 e BD:20-50, não foram estatisticamente diferentes entre si quanto ao teor de AGPI, mas foram significativamente maiores que as outras condições de extração..

Ao comparar a condição 30:30 com amostra controle (ST), observa-se que o pré-tratamento da semente influenciou positivamente na fração de ácidos graxos essenciais obtendo, por Sox, um aumento 6,69% e 27,33% para os ácidos linoléico ($\omega 6$) e linolênico ($\omega 3$), respectivamente. Para BD houve 3,97% no aumento do ácido linoléico, e não apresentou diferença significativa para o linolênico. Estes resultados pode ser atribuído aos fenômenos de cavitação que ajuda a penetração do solvente, no momento da extração. É importante observar que durante o pré-tratamento a 30 °C e o tempo de sonicação 30 min percebe-se que esta condição induz a extração de maiores quantidades de AGPI no óleo, no entanto, ao aumentar a temperatura para 50 °C no mesmo tempo de sonicação, quantidade de ácido graxo é menor. Isso pode indicar que o ajuste das variáveis durante pré-tratamento pode influenciar na extração, permitindo o solvente alcançar os espaços da matriz que contém solutos com maior facilidade, solubilizando uma maior quantidade e aumentando o rendimento de alguns compostos (MARKON et al., 2007).

Os resultados de AGPI, para as melhores condições de extração, representam mais de 60% do total de ácidos graxos, confirmando a rica fonte de ácidos graxos essenciais no óleo da semente de uva.

Tabela 2. Somatório dos Ácidos Graxos do óleo de semente de uva obtido por Soxhlet.

Amostra	Σ AGS	Σ AGMI	Σ AGPI	Σ ω6	Σ ω3	AGPI/ AGS
Sox ST	34,54 ± 0,28 ^c	7,33 ± 0,16 ^{a,b}	57,84 ± 0,462 ^d	57,68 ± 0,46 ^d	0,16 ± 0,01 ^{b,d}	1,29
Sox 20-10	36,61 ± 0,31 ^b	7,13 ± 0,046 ^{bc}	56,21 ± 0,35 ^e	55,95 ± 0,34 ^e	0,16 ± 0,07 ^{bc}	1,53
Sox 20-30	33,62 ± 0,26 ^{cd}	6,83 ± 0,15 ^{cde}	59,493 ± 0,15 ^c	59,22 ± 0,15 ^c	0,17 ± 0,01 ^{cd}	1,76
Sox 20-50	33,03 ± 0,05 ^d	6,36 ± 0,14 ^{ef}	60,55 ± 0,18 ^b	60,28 ± 0,19 ^b	0,18 ± 0,01 ^{bc}	1,83
Sox 30-10	34,16 ± 0,19 ^c	6,49 ± 0,07 ^{ef}	59,29 ± 0,178 ^c	58,99 ± 0,18 ^c	0,19 ± 0,07 ^{ab}	1,73
Sox 30-30	30,83 ± 0,13 ^e	6,96 ± 0,084 ^{bcd}	62,16 ± 0,22 ^a	61,86 ± 0,22 ^a	0,20 ± 0,07 ^a	2,01
Sox 30-50	40,75 ± 0,51 ^a	5,91 ± 0,16 ^g	53,251 ± 0,46 ^f	53,03 ± 0,47 ^f	0,14 ± 0,06 ^{de}	1,30
Sox 50-10	33,61 ± 0,16 ^{cd}	6,59 ± 0,16 ^{def}	59,97 ± 0,01 ^{bc}	59,51 ± 0,02 ^{bc}	0,15 ± 0,04 ^{cd}	1,77
Sox 50-30	33,26 ± 0,20 ^d	6,71 ± 0,03 ^{cdef}	59,88 ± 0,20 ^{bc}	59,71 ± 0,20 ^{bc}	0,17 ± 0,06 ^{bc}	1,80
Sox 50-50	34,28 ± 0,12 ^c	7,61 ± 0,16 ^a	58,05 ± 0,04 ^d	57,80 ± 0,03 ^d	0,13 ± 0,43 ^e	1,69

ΣAGS, soma dos ácidos graxos saturados; ΣAGMI, soma dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣAGPI, soma dos ácidos graxos poli-insaturados; Σω3, soma dos ácidos graxos ω 3; Σ ω6, soma dos ácidos graxos ω 6.

Média ± desvio padrão de análises (n=3). Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas (p>0,05) pelo Teste Tuckey a 95% de confiança.

Tabela 3. Somatório dos Ácidos Graxos do óleo de semente de uva obtido por Bligh e Dyer.

Amostra	Σ AGS	Σ AGMI	Σ AGPI	Σω6	Σω3	AGPI/ AGS
BD: ST	32,90 ± 0,59 ^d	6,72 ± 0,065 ^b	60,22 ± 0,65 ^b	60,109 ± 0,10 ^b	0,163 ± 0,04 ^{ab}	1,83
BD: 20-10	31,00 ± 0,27 ^{eg}	6,60 ± 0,02 ^{c, b}	62,24 ± 0,26 ^a	62,081 ± 0,26 ^a	0,160 ± 0,01 ^{ab}	2,00
BD: 20-30	32,80 ± 0,30 ^d	6,43 ± 0,08 ^{bc}	60,64 ± 0,37 ^b	60,463 ± 0,38 ^b	0,180 ± 0,01 ^{ab}	1,84
BD: 20-50	30,12 ± 0,14 ^e	6,53 ± 0,03 ^{bc}	63,19 ± 0,17 ^a	63,028 ± 0,17 ^a	0,168 ± 0,01 ^{ab}	2,09
BD: 30-10	30,02 ± 0,24 ^e	6,67 ± 0,22 ^b	63,16 ± 0,11 ^a	62,992 ± 0,11 ^a	0,170 ± 0,001 ^{ab}	2,10
BD: 30-30	30,76 ± 0,22 ^e	6,40 ± 0,06 ^{bc}	62,65 ± 0,16 ^a	62,496 ± 0,15 ^a	0,158 ± 0,00 ^{ab}	2,03
BD: 30-50	42,00 ± 0,14 ^a	5,40 ± 0,01 ^d	52,47 ± 0,14 ^d	52,324 ± 0,13 ^d	0,146 ± 0,01 ^b	1,24
BD: 50-10	35,37 ± 0,13 ^b	4,55 ± 0,02 ^e	59,97 ± 0,14 ^b	59,772 ± 0,11 ^b	0,201 ± 0,04 ^a	1,69
BD: 50-30	32,86 ± 0,31 ^d	6,23 ± 0,12 ^c	60,77 ± 0,18 ^b	60,620 ± 0,17 ^b	0,152 ± 0,01 ^{ab}	1,85
BD: 50-50	34,24 ± 0,18 ^c	7,06 ± 0,07 ^a	58,54 ± 0,12 ^c	58,348 ± 0,15 ^c	0,182 ± 0,02 ^{ab}	1,71

ΣAGS, soma dos ácidos graxos saturados; ΣAGMI, soma dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣAGPI, soma dos ácidos graxos poli-insaturados; Σω3, soma dos ácidos graxos ω 3; Σ ω6, soma dos ácidos graxos ω 6.

Média ± desvio padrão de análises (n=3). Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas (p>0,05) pelo Teste Tuckey a 95% de confiança.

3.1.3. Determinação do Teor Fenólicos Totais

A determinação do Teor Fenólicos Totais (TFT), obtida a partir das amostras extraídas sob diferentes condições de temperatura e tempo, com sonicação (50-60Hz), está apresentada na Figura 2.

Ao observar a Figura 2A percebe-se que as condições que melhor favoreceram os teores de compostos fenólicos foram: Sox 30:30, Sox 50:30 e Sox 50:50 que não foram significativamente diferentes entre si, mas apresentaram maiores valores de fenólicos que as demais condições estudadas neste método de extração. Estas amostras apresentaram no óleo teores mais elevados (311, 255 e 297 % a mais para o óleo extraído por Sox) que o controle sem pré-tratamento, o que indica que o pré-tratamento por sonicação favoreceu a extração de compostos fenólicos. Ao fazer a correlação entre o tempo de sonicação e o teor de fenólicos totais, dos óleos, obtidos por Sox, foi verificado que as temperaturas de 20 e 50 °C apresentam uma boa correlação, com R^2 de 0,991 e 0,875 respectivamente. Um aumento no conteúdo fenólico dos óleos foi percebido à medida que o tempo de sonicação aumenta. Contudo, para a temperatura de 30 °C esta boa correlação não foi percebida ($R^2 = 0,061$), encontrando para esta temperatura o maior teor de fenólicos no tempo de 30 min. O não aumento do teor de fenólicos para Sox 30:50, pode estar relacionado ao fato que os fenólicos localizados na partícula da semente foram mais facilmente acessíveis ao solvente no tempo de 30 min.

Nos óleos obtidos por BD (Figura 2B) verifica-se que a melhor condição foi BD:50-30 (452 mgEAG/100g de óleo), sendo este valor significativamente diferente das outras condições e apresentando um aumento de 234% no TFT quando comparado com a amostra sem tratamento. Ainda se observa que, exceto amostra BD:20-50, houve aumento no teor de fenólicos totais no óleo entre todas as amostras que foram submetidas ao pré-tratamento com ultrassom exercendo uma diferença significativa ao comparar com a amostra controle (BD:ST). Nas correlações entre TFT e temperatura, e TFT e tempo de sonicação tem-se a melhor resposta para temperatura de 30°C ($R^2=0,908$), e o tempo de sonicação de 30 min ($R^2=0,946$). De acordo com os resultados mostrados na Figura 2 para os fenólicos totais extraídos por ambas as metodologias, é possível confirmar a eficiência do pré-tratamento com ultrassom para aumentar a concentração de fenólicos totais no óleo. Alguns trabalhos relatados na literatura utilizaram a extração assistida por ultrassom para recuperação de fenólicos a partir

de resíduos da uva, alcançando altos rendimentos em períodos curtos de tempo (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015; DROSOU et al., 2015).

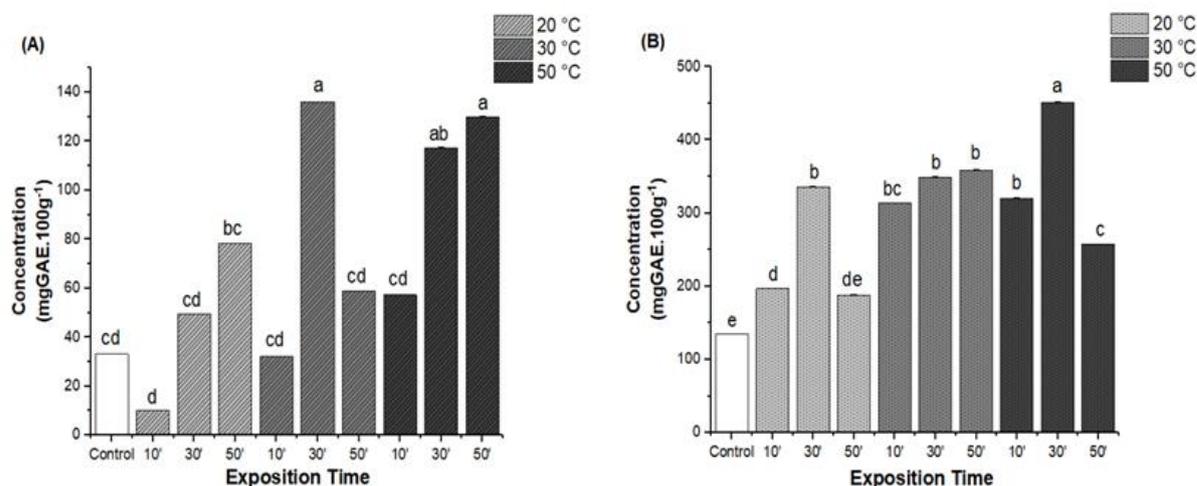


Figura 2: Concentração de Fenólicos Totais em óleo de semente de uva (A) Soxhlet e (B) Bligh Dyer em diferentes tempos de exposição e temperatura, com sonicação constante (50-60Hz). As diferenças significativas do óleo para cada metodologia de extração (teste Tukey, $p < 0,05$) são indicadas por letras diferentes em cada figura.

3.2 Comparação entre as metodologias de extração e pré-tratamento

3.2.1 Extração Supercrítica do óleo

A condição de 30°C e 30 minutos foi definida, por apresentarem um melhor rendimento do óleo, obtendo também um bom perfil de ácidos graxos, especialmente para o ácido linoléico e um excelente teor de fenólicos totais, para conduzir os pré-tratamentos das sementes para as extrações por fluido supercrítico. Embora para o TFT extraídos por BD na condição 30:30 não tenha sido o resultado mais eficiente, o alto teor dos AGPI nessa condição, bem como uma menor temperatura de tratamento e uma alta eficiência no rendimento do óleo, justificam a escolha desses parâmetros. Com o intuito de evidenciar o efeito da aplicação do ultrassom na extração supercrítica, foram realizadas extrações do óleo de semente de uva utilizando dióxido de carbono como fluido extrator supercrítico nas condições de extração descrita na seção 2.6.

3.2.2. *Rendimento dos óleos obtidos por EFS com pré-tratamento por ultrassom e comparação com as metodologias Sox e BD.*

Ao observar a Figura 3, verifica-se o aumento do rendimento do óleo obtido pela EFS em comparação ao óleo obtido sem o pré-tratamento da semente. Nestas condições, o rendimento da EFS foi de 12,3e 13,9 %, sem e com aplicação de ultrassom, respectivamente, representando um incremento de aproximadamente 12,5%. Resultados semelhantes foram reportados por Barrales et al, (2015), que obtiveram 13% de rendimento para EFS-CO₂ (26MPa) assistida por ultrassom do óleo de semente de maracujá. O aumento do rendimento pode ser atribuído às altas taxas de extração alcançadas no processo de aplicação do ultrassom, conforme já mencionado anteriormente. A ação combinada de ultrassom e dióxido de carbono supercrítico foi comprovadamente usada para melhorar a eficiência de extração do óleo usando outras matrizes: óleo de alday (HU et al., 2007), antioxidantes de blackbarry (REÁTEGUI et al.,2014), capsaicinoides de pimenta malagueta (SANTOS et al, 2015), óleo de semente de maracujá (BARRALES et al., 2015), óleo de semente maracujá doce (PEREIRA et al., 2017).

Ao comparar todas as metodologias de extração percebe-se influência positiva do pré-tratamento com ultrassom nas sementes de uva, obtendo um aumento de 12,54; 20,31 e 32,01 % nos rendimentos dos óleos obtidos por EFS, Sox e BD , respectivamente. Observa-se que o método Sox 30-30 é estatisticamente diferente ($p < 0,05$) das condições Sox ST, EFS ST e BD com e sem pré-tratamento. Contudo, não apresentou diferença significativa em relação a EFS com tratamento. Isso pode ser atribuído aos tempos de extração mais longos da extração por Soxhlet, e uma maior seletividade na EFS. Além disso, os tempos de extração mais longos e a proporção de solvente para sólido também ajudam a aumentar o rendimento (REÁTEGUI et al., 2014).

A EFS apresenta a vantagem de ter reduzido o tempo de extração em 4,5h em comparação com a extração por Sox, além de, permitir à utilização de solventes não tóxicos, como CO₂, e possibilitar uma extração a temperatura mais baixa, preservando os compostos termolábeis do óleo (MACHADO et al., 2013; PEREIRA et al., 2017).

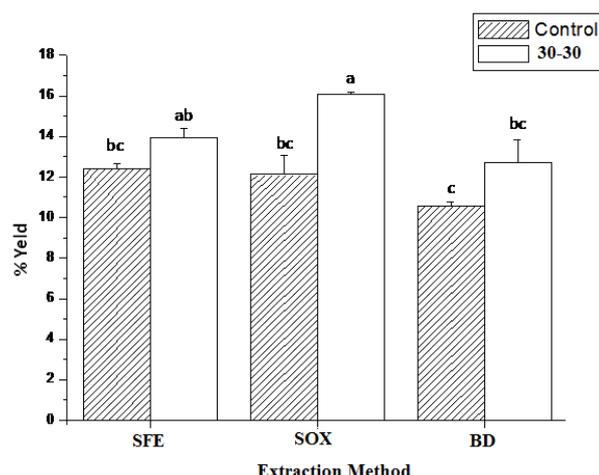


Figura 3: % Rendimento dos óleos de semente de uva para as Extrações Supercrítica (EFS), Soxhlet (Sox) e Blich Dyer (BD) da amostra controle (ST) e com pré-tratamento (30-30). As barras representam o erro padrão. As diferenças significativas do óleo para cada metodologia de extração (teste Tukey, $p < 0,05$) são indicadas por letras diferentes na figura.

3.2.3. Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante

O Teor de Fenólicos Total (TFT) dos óleos de semente de uva por EFS, Sox e BD estão dispostos na Figura 4. Todas as amostras de óleo com pré-tratamento por ultrassom apresentaram TFT significativamente maior que as amostra que não sofreram pré-tratamento, apresentando um aumento de 184, 311 e 234 % para EFS, Sox e BD, respectivamente. Esses resultados demonstram que o pré-tratamento com ultrassom foi um parâmetro significativo em relação ao teor de fenólicos obtido. Os resultados obtidos estão de acordo com Khan et al., 2010; Virot et al., 2010; González-Centeno et al., 2014 que relataram aumento no teor de compostos fenólicos pelo efeito do ultrassom em comparação com a extração sem tratamento atingindo 30% (extrato de casca de laranja); 1,2 % (bagaço de maçã); 7% (extrato de uva).

Comparando as metodologias de extração é perceptível que houve influência negativa da temperatura elevada no teor de fenólicos. Os óleos obtidos por Sox obtiveram um menor teor de fenólicos totais e um maior valor de CE_{50} , significativamente diferente das demais condições de extração (Tabela 4). CE_{50} é a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do radical livre em 50%, de forma que, quanto maior o valor do CE_{50} , menor a atividade antioxidante (MOHAMED et al., 2016). As extrações realizadas em temperaturas mais baixas, EFS e BD, obtiveram TFT maior em comparação com soxhlet (com e sem pré-tratamento). Técnicas como Sox podem resultar na degradação dos compostos sensíveis ao calor, que são facilmente hidrolisados e oxidados, contribuindo para uma menor

atividade antioxidante (BIMARK et al., 2012; HOGERVORST et al., 2017). Os resultados estão de acordo com os estudos conduzidos por Mohamed et al. (2016) que obtiveram um aumento de 13,2% (EAG/kg óleo) no TFT de óleo de uva (variedade Pinot Noir) na EFS em comparação com extraído por Sox. O teor de fenólicos obtidos em extratos de resíduo (semente e casca) de uva são superiores aos encontrados nos óleos. Santos et al. (2011), Li et al., (2011) encontraram nas sementes de uva grande teor de compostos fenólicos variando entre 89,83 a 226 mg EAG/g de semente.

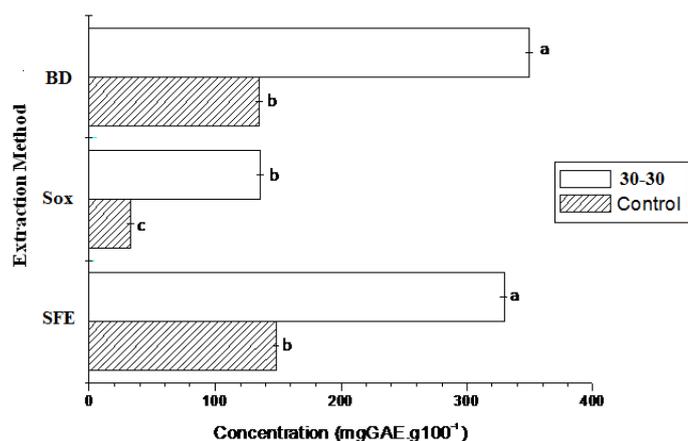


Figura 4. Teor de Fenólicos Totais dos óleos obtidos por Extrações Supercrítica (EFS), Soxhlet (sox) e Blich Dyer (BD) para amostra controle (ST) e com pré-tratamento (30-30). As diferenças significativas para cada metodologia de extração (teste Tukey, $p < 0,05$) são indicadas por letras diferentes na figura.

Os valores encontrados para TFT com pré-tratamento da semente, neste trabalho (136-349 mg EAG/100g óleo), foram superiores aos encontrados por Mohamed et al. (2016) ; Lutterodt et al. (2011) que encontraram 53 mg EAG/kg óleo e 80 mg EAG/100g óleo, para variedades Pinot Noir e Concoard, extraídas por EFS e prensagem a frio, respectivamente. Segundo Mohamed et al. (2016) óleos de semente de uva podem ser bastante pobres em fenólicos. Isto deve-se à fraca solubilidade dos fenólicos na fracção lipídica e à ligação de alguns ácidos fenólicos à estrutura vegetal das sementes. Neste trabalho esse resultados foram melhorados pela aplicação do ultrasson, conforme mencionado acima. Entretanto, outros fatores podem influenciar a variação da concentração dos fenólicos totais no óleo, entre eles a variedade da uva, metodologia de extração que por sua vez pode modificar profundamente o perfil fenólico dos extratos; fatores vitícolas pela operação de prensagem o contato entre procianidinas monoméricas como a epicatequina, enzima polifenoloxidase, induzem sua

oxidação e polimerização (Monrad et al.,2010); e fatores geoambientais (HOGERVORST et al., 2017).

Compostos fenólicos são os metabólitos secundários mais importantes da uva com propriedades antioxidantes (HOGERVORST et al., 2017). Rockenbach et al., (2011) e Jara-Palacios et al. (2014) estudaram o teor compostos fenólicos e atividade antioxidante de sementes e cascas de diferentes tipos de uvas brasileiras, e observaram que havia uma maior concentração de compostos fenólicos nas sementes que na casca, para todas as variedades, e também verificaram alta e significativa correlação entre atividade antioxidante e conteúdo fenólico total em amostras de bagaço de uva.

Tabela 4. Comparação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante e índices de UV para óleos de sementes de uva extraídos por Extração Supercrítica (EFS), Soxhlet (Sox) e Bligh e Dyer (BD), sem tratamento (ST) e com tratamento por ultrassom (30:30)

	EFS:ST	EFS:30-30	Sox: ST	Sox:30-30	BD: ST	BD:30-30
Fenólicos (mg/100g_{oleo})	148,56 ± 0,02 ^b	329,56 ± 0,08 ^a	33,067 ± 0,05 ^c	136,06 ± 0,04 ^b	135,06 ± 0,03 ^b	349,42 ± 0,005 ^a
CE₅₀ (mg/mL)	56,69 ± 2,74 ^c	54,96 ± 5,68 ^c	134,89 ± 13, 02 ^{ab}	181,30± 77,84 ^a	63,68 ± 2,11 ^{bc}	72,36 ± 1,09 ^{bc}

Média ± desvio padrão de análises (n=3).

Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas (p>0,05) pelo Teste Tuckey a 95% de confiança.

A medida da atividade antioxidante apresentou faixa de concentração do CE₅₀ de 54,96 a 181,35 mg/mL (Tabela 4). Embora todos os óleos tenham demonstrado atividade sequestradora do radical DPPH, os óleos obtidos pela extração em Sox apresentaram maiores valor de CE₅₀, demonstrando possuírem as menores atividades antioxidante. Os valores de CE₅₀ para a amostra sem pré-tratamento de Sox e BD apresentaram menor valor quando comparada a amostra pré-tratada, não observando efeito positivo do ultrassom no aumento da atividade antioxidante. As concentrações mais baixas necessárias para 50% de inibição do DPPH foram obtidas pela EFS. Os extratos supercríticos apresentaram uma tendência de aumento dos valores de atividade antioxidante e, conseqüente, redução dos valores CE₅₀. Isto pode ser explicado devido não somente a qualidade dos óleos obtidos, que usando essa EFS foi melhor, já que menos impureza foi extraída devido à alta seletividade do processo, mas também por estes óleos apresentarem um bom conteúdo de compostos fenólicos que dão

correlação positiva com o antioxidante do óleo (HASMIDA et al., 2014). Não houve diferença significativa entre os óleos obtidos com e sem pré-tratamento da semente por EFS com relação ao potencial antioxidante. É verificada uma positiva correlação entre o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante, especialmente na condição sem pré-tratamento, ($R^2=0,999$) no qual é possível observar que quanto maior o teor de fenólicos totais, menor é o valor de CE50. Apesar dos óleos estudados apresentarem quantidade de compostos fenólicos estatisticamente diferentes entre amostras com e sem pré-tratamento, a efetividade antioxidante entre os óleos com e sem pré-tratamento não apresentou diferença significativa, como o observado na avaliação da CE50 pelo método DPPH. Isto pode ser devido ao de que existem outras famílias de compostos bioativos presentes nos óleos que podem influenciar na eliminação de radicais livres tais como carotenóides, tocoferóis (vitamina E), entre outros, que podem influenciar na atividade antioxidante (PELLEGRINI et al., 2007).

3.2.4. Perfis de ácidos graxos obtidos por EFS e comparação com Sox e BD

A Tabela 5 apresenta os resultados da composição de ácidos graxos para óleo de semente de uva obtido por EFS:ST (sem tratamento) e EFS: 30-30 (pré-tratamento) em comparação com os ácidos graxos obtidos por Sox e BD. Os principais ácidos graxos encontrados no óleo de uva pela EFS foram o ácido linoléico, ácido palmítico, ácido esteárico e ácido oléico. Os perfis de ácidos graxos obtidos nos diferentes métodos de extração foram semelhantes, porém a análise estatística mostrou diferenças significativas entre eles. Observou-se um aumento de 0,98% , 1,80% e 4,05% ácido graxo majoritário (ácido linoléico) extraído por EFS, Sox e BD respectivamente, quando comparado com a amostra ST. Os resultados encontrados foram semelhantes aos relatados por Fiori et al. (2014) que referiram o ácido linoléico como o ácido graxo mais abundante em óleos de semente de uva.

Comparando as metodologias de extração é perceptível que a porcentagem do ácido linoléico obtida por EFS é significativamente maior do que os obtidos por Soxhlet e BD sem tratamento. Desta forma nota-se que a EFS é mais seletiva e favorece um bom rendimento do ácido linoléico, podendo até dispensar a etapa do pré-tratamento, uma vez que este não apresentou diferença significativa entre a amostra pré-tratada e sem tratamento. A EFS com o uso do CO_2 favorece a obtenção maior teores de ácido linoléico, o tempo de processo é bastante inferior, além do fato de que a tecnologia aplicada oferece condições menos agressivas aos compostos de interesse que poderiam sofrer degradações térmicas em processos convencionais (BARRALES et al., 2015; BERES et al., 2017).

A qualidade e digestibilidade dos óleos são determinadas pela composição e quantidade de ácidos graxos insaturados, especialmente pelo teor de ácidos graxos essenciais (MOHAMED et al., 2016; PEREIRA et al., 2017). De acordo com o *Codex Alimentarius Commission* (1999), o teor de ácido linoléico em óleos de sementes de uva é em média, 57-78%, valor superior ao encontrado em óleos tradicionalmente consumidos, como milho (50%), soja (54%) e coco (46%). O alto conteúdo de ácido linoléico em óleos de semente de uva é particularmente interessante uma vez que o ácido linoléico é o principal ácido graxo dietético que regula o metabolismo da lipoproteína de baixa densidade (LDL) prevenindo doenças cardiovasculares (FREITAS et al., 2013; BERES et al., 2017). Os ácidos palmítico, esteárico e oléico foram encontrados em maior concentração na extração por Sox. Esta variação no teor de ácidos graxos possivelmente está relacionada à metodologia extração, uma vez que por Sox:ST obteve a menor porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados, contribuindo para um maior teor dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados (LUTTERDOF et al., 2011). Os ácidos Caprílico (C8:0), Cáprico (C10:0) e Erúcico (C22:1) não foram detectados. Os ácidos Araquídico (C20:0), Behênico (C22:0), e Nervônico (C24:1) foram encontrados em frações minoritárias em todas as metodologias de extração (Dados não mostrados). Os ácidos Araquídico (C20:0), Behênico (C22:0), e Nervônico (C24:1) foram encontrados em frações minoritárias em todas as metodologias de extração (Dados não mostrados). De uma forma geral, a composição em ácidos graxos não foi expressivamente afetada pelo método de extração e o ultrassom aliado a metodologia de extração contribui para extrair maiores quantidades do ácido linoléico.

Tabela 5. Perfil de Ácidos Graxos majoritários dos óleos obtidos por EFS, Soxhlet e Bligh e Dyer

Ácido graxo		EFS CO ₂ %50°C/ 50MPa		Soxhlet n-hexano		Bligh Dyer Cloroformio/Metanol	
		Nome Comum	Cx, y ¹	ST	30-30	ST	30-30
Palmitoleico w7	C16:1	0,106± 0,001 ^a	0,007± 0,001 ^d	0,101 ± 0,003 ^{a,b}	0,099 ± 0,001 ^{ab}	0,095± 0,023 ^{bc}	0,088 ± 0,005 ^c
Palmitico	C16:0	21,08± 0,068 ^c	22,98± 0,006 ^a	24,469 ± 0,031 ^a	20,723 ± 0,152 ^c	22,111 ± 0,006 ^b	20,386 ± 0,334 ^c
α- Linolênico w-3	C18:3	0,187 ± 0,007 ^{a, b}	0,194 ± 0,004 ^b	0,166 ± 0,001 ^c	0,205 ± 0,007 ^a	0,163 ± 0,012 ^c	0,158 ± 0,011 ^c
Linoleico w-6	C18:2	61,841± 0,04 ^a	62,45± 0,200 ^a	57,682 ± 0,46 ^c	61,867 ± 0,222 ^a	60,062 ± 0,120 ^b	62,496 ± 0,158 ^a
Oleico w9	C18:1	6,328 ± 0,111 ^c	5,643 ± 0,007 ^d	7,230 ± 0,17 ^a	6,849 ± 0,086 ^b	6,6325± 0,020 ^{bc}	6,381 ± 0,123 ^c
Esteárico	C18:0	10,3126± 0,038 ^b	8,507± 0,076 ^d	11,043 ± 00,20 ^a	9,188 ± 0,014 ^c	10,258 ± 0,019 ^b	9,519 ± 0,082 ^c
Σ AGS		31,523± 0,189	31,374 ± 0,060	34,549 ± 0,281	30,835 ± 0,137	32,908 ± 0,590	30,738 ± 0,220
Σ AGMI		6,433±0,068	5,650±0,013	7,332± 0,047	6,947 ± 0,084	6,727 ± 0,065	6,470 ± 0,068
Σ AGPI		62,027 ±0,08	62,844±0,06	57,848 ±0,236	62,072 ± 0,219 ^a	60,226 ± 0,654	62,654 ± 0,161

NOTA:¹ Cx:y, x = número de carbonos e y = número de duplas ligações.
Resultados expressos como média ± desvio padrão.

ST (Sem Tratamento); 30-3 0 (pré-tratamento 30°C e 30 min.)

Letras diferentes na mesma linha para um mesmo ácido graxo representam resultados estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

3.2.5. Estabilidade Térmica

O óleo de semente de uva obtido por diferentes metodologias foi submetido à análise térmica que indicou semelhança no perfil de decomposição (Figura 5). Com a análise da curva termogravimétrica (TGA) do óleo de semente de uva foi verificado que estes apresentavam estabilidade térmica até 370°C. A curva TGA (Figura 5A) da amostra revela que a decomposição térmica ocorreu em única etapa de perda de massa. O único pico na curva de DTG (Figura 5B) indica que ocorreu apenas uma reação de degradação entre as temperaturas de 370 a 450°C.

O processo de decomposição térmica ocorreu na faixa de temperatura de 370 a 450°C para todos os óleos obtidos neste estudo. Este resultado é superior ao encontrado por Ontanon et al. (2015) e Pereira et al. (2017) que obtiveram para o óleo de semente de girassol, e óleo de semente de maracujá degradação térmica iniciadas até 300 °C. A composição de ácidos graxos de cada óleo vegetal influencia diretamente na sua resistência a degradação. Os ácidos graxos monoinsaturados são mais resistentes à oxidação e deterioração comparados com os ácidos graxos insaturados (MOSER, 2012). Apesar do óleo de semente de uva ser altamente insaturado, especialmente pelo teor do ácido linoléico, apresentou boa estabilidade térmica, que pode ser atribuída à presença de antioxidantes naturais como os tocoferóis que podem contribuir para proteção dos ácidos graxos mono e poli-insaturado, contra a oxidação. Isso sugere que o óleo de semente de uva pode ser usado em aplicações que exijam altas temperaturas (ONTANON et al., 2015; FREITAS et al., 2013).

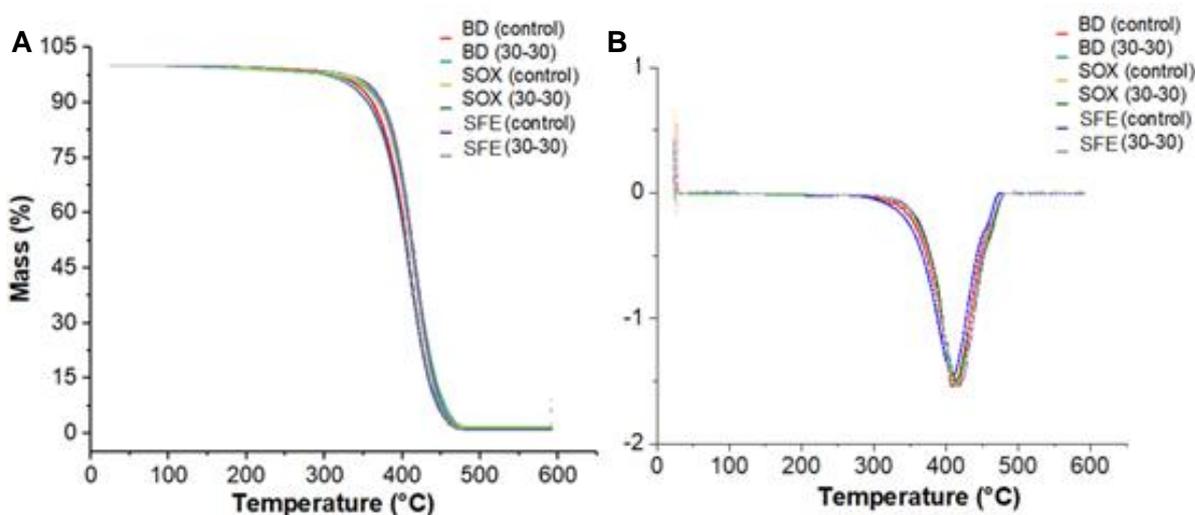


Figura 5. Curvas de (A) TGA (B) DTG dos óleos de semente de uva para as extrações supercrítica (SFE), Soxhlet (Sox) e Bligh Dyer (BD) da amostra sem tratamento (Control) e com pré-tratamento (30-30).

4.0 Conclusão

A semente de uva pode ser usada como matéria-prima para a extração de óleo, com alto valor comercial, devido à grande quantidade de compostos fenólicos que permanecem neste resíduo industrial. A influência do ultrassom no pré-tratamento da semente de uva foi avaliada, e a condição de 30°C e 30 min foi definida para conduzir o pré-tratamento da semente antes da obtenção do óleo por extração supercrítica. O pré-tratamento por ultrassom influenciou positivamente contribuindo para aumentar o rendimento e teor de fenólicos totais do óleo, sem comprometer a sua qualidade. As extrações por Sox apresentam um bom rendimento do óleo devido à temperatura de extração, no entanto as altas temperaturas indicaram menor atividade antioxidante em comparação aos valores obtidos com EFS e BD. A EFS não apresentou diferença significativa para o ácido linoléico obtido pelo óleo com e sem pré-tratamento da semente. A composição em ácidos graxos não foi expressivamente afetada pelo método de extração. Além disso, a curva de TGA indicou que o óleo obtido, para todos os métodos de extração avaliados, apresenta alta estabilidade térmica, sofrendo degradação em temperaturas acima de 370°C. Os resultados apresentados neste trabalho indicam que o pré-tratamento por ultrassom com processos pode ser um meio viável para melhorar a eficiência das extrações e obtenção de compostos fenólicos em todos os métodos de extração, destacando a EFS que além da boa eficiência não necessita utilizar solventes orgânicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro, e Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI-CIMATEC) e Universidade Federal da Bahia (UFBA), pelo apoio acadêmico.

5.0 Referências

AOCS - American Oil Chemists Society. Official methods and recommended practices of the AOCS. Champaign: A.O.C.S., 1998.

ALIMENTARIUS, Codex. Codex standard for named vegetable oils. **Codex Stan**, v. 210, p. 1-13, 1999.

AMORIM, F. L. **Avaliação de compostos bioativos presentes em produto a base de cascas de uva da variedade Syrah**. 2016. Dissertação (Mestrado em ciência de alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

ARAUJO, G. S., MATOS, L. J., FERNANDES, J. O., CARTAXO, S. J., GONÇALVES, L.

R., FERNANDES, F. A., FARIAS, W. R. Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: prospection of the optimal extraction method. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 95-98, 2013.

BARRALES, F. M., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183-192, 2015.

BERES, C., COSTA, G. N., CABEZUDO, I., DA SILVA-JAMES, N. K., TELES, A. S., CRUZ, A. P., FREITAS, S. P. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.

BIMAKR, M., RAHMAN, R. A., TAIP, F. S., ADZAHAN, N. M., SARKER, M. Z. I., GANJLOO, A. Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. **Molecules**, v. 17, n. 10, p. 11748-11762, 2012.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRENES, A., VIVEROS, A., CHAMORRO, S., ARIJA, I. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 211, 1–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.016>.

CAPANNESI, C., PALCHETTI, I., MASCINI, M., PARENTI, A. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. **Food Chemistry**, v. 71, n. 4, p. 553-562, 2000.

CIRQUEIRA, M. G., COSTA, S. S., VIANA, J. D., SILVA, C. A. B. C., UMSZA-GUEZ, M. A., MACHADO, B. A. S. Phytochemical importance and utilization potential of grape residue from wine production. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 5, p. 179-192, 2017.

CORRALES, M., TOEPFL, S., BUTZ, P., KNORR, D., TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison, *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 9 (2008) 85–91

COELHO, J. P., FILIPE, R. M., ROBALO, M. P., STATEVA, R. P. Recovering value from organic waste materials: supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2017.

DA PORTO, C., PORRETTO, E., DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis*

vinifera L.) seeds. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076-1080, 2013.

DA PORTO, C., NATOLINO, A., DECORTI, D. Effect of ultrasound pre-treatment of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed on supercritical CO₂ extraction of oil. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 3, p. 1748-1753, 2015.

DROSOU, C., KYRIAKOPOULOU, K., BIMPILAS, A., TSIMOGIANNIS, D., KROKIDA, M. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 141-149, 2015.

DUBA, K. S., CASAZZA, A. A., MOHAMED, H. B., PEREGO, P., FIORI, L. Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: experiments and modeling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 29-38, 2015.

DUBA, K. S.; FIORI, L. Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 33-43, 2015.

ĐURĐEVIĆ, S., ŠAVIKIN, K., ŽIVKOVIĆ, J., BÖHM, V., STANOJKOVIĆ, T., DAMJANOVIĆ, A., PETROVIĆ, S. Antioxidant and cytotoxic activity of fatty oil isolated by supercritical fluid extraction from microwave pretreated seeds of wild growing *Punica granatum* L. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 225-232, 2018

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Statistical Database. [online], 2016. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. (Acesso em 29.06.2018).

FERNANDES, L., CASAL, S., CRUZ, R., PEREIRA, J. A., RAMALHOSA, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161-166, 2013.

FERNÁNDEZ, C. M., RAMOS, M. J., PÉREZ, Á., RODRÍGUEZ, J. F. Production of biodiesel from winery waste: extraction, refining and transesterification of grape seed oil. **Bioresource technology**, v. 101, n. 18, p. 7019-7024, 2010.

FERREIRA, C. D., DA CONCEIÇÃO, E. J. L., MACHADO, B. A. S., HERMES, V. S., DE OLIVEIRA RIOS, A., DRUZIAN, J. I., NUNES, I. L. Physicochemical characterization and oxidative stability of microencapsulated crude palm oil by spray drying. **Food and bioprocess technology**, v. 9, n. 1, p. 124-136, 2016.

FREITAS, L. S., DARIVA, C., JACQUES, R. A., CARAMÃO, E. B. Effect of experimental parameters in the pressurized liquid extraction of brazilian grape seed oil. **Separation and Purification Technology**, v. 116, p. 313-318, 2013.

FIORI, L., LAVELLI, V., DUBA, K. S., HARSHA, P. S. C. S., MOHAMED, H. B., GUELLA, G. Supercritical CO₂ extraction of oil from seeds of six grape cultivars: Modeling of mass transfer kinetics and evaluation of lipid profiles and tocol contents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 71-80, 2014

GARCÍA-LOMILLO, J.; GONZÁLEZ-SANJOSE, M. Applications of wine pomace in the food industry: approaches and functions. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 1, p. 3-22, 2017.

GLAMPEDAKI, P.; DUTSCHK, V. Stability studies of cosmetic emulsions prepared from natural products such as wine, grape seed oil and mastic resin. **Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, v. 460, p. 306-311, 2014.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R., COMAS-SERRA, F., FEMENIA, A., ROSSELLÓ, C., SIMAL, S. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): experimental kinetics and modeling. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 22, p. 506-514, 2015.

HADIAN, Z. A review of nanoliposomal delivery system for stabilization of bioactive omega-3 fatty acids. *Electronic Physician*, v. 8, p. 1776-1785, 2016

HASMIDA, M. N., NUR SYUKRIAH, A. R., LIZA, M. S., MOHD AZIZI, C. Y. Effect of different extraction techniques on total phenolic content and antioxidant activity of *Quercus infectoria* galls. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 3, 2014.

HOGERVORST, J. C., MILJIĆ, U., PUŠKAŠ, V. Extraction of bioactive compounds from grape processing by-products. In: **Handbook of Grape Processing By-Products**. 2017. p. 105-135.

HU, A., ZHANG, Z., ZHENG, J., WANG, Y., CHEN, Q., LIU, R., ZHANG, S. Optimizations and comparison of two supercritical extractions of adlay oil, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* p. 128–133. 2012

JARA-PALACIOS, M. J., HERNANZ, D., ESCUDERO-GILETE, M. L., HEREDIA, F. J. Antioxidant potential of white grape pomaces: Phenolic composition and antioxidant capacity measured by spectrophotometric and cyclic voltammetry methods. **Food research international**, v. 66, p. 150-157, 2014.

JACOTET-NAVARRO, M., ROMBAUT, N., DESLIS, S., FABIANO-TIXIER, A. S., PIERRE, F. X., BILY, A., CHEMAT, F. Towards a dry bio-refinery without solvents or added water using microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products, *Green Chem.* v. 18, p. 3106–3115, 2016.

KHAN, M. K., ABERT-VIAN, M., FABIANO-TIXIER, A. S., DANGLES, O., CHEMAT, F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel, **Food Chem.** 119 (2010) 851–858

LACHMAN, J., HEJTMÁNKOVÁ, A., TÁBORSKÝ, J., KOTÍKOVÁ, Z., PIVEC, V., STŘALKOVÁ, R., DĚDINA, M. Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 620-625, 2015.

LI, Y., SKOUROUMOUNIS, G. K., ELSEY, G. M., TAYLOR, D. K. Microwave-assistance

provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 570-576, 2011.

LIANG, Z., CHENG, L., ZHONG, G. Y., LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of twenty-four *Vitis vinifera* grapes. **PLoS one**, v. 9, n. 8, p. e105146, 2014

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, MD Luque. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

LUTTERODT, H., SLAVIN, M., WHENT, M., TURNER, E., YU, L. L. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2, p. 391-399, 2011.

MACHADO, B. A. S., PEREIRA, C. G., NUNES, S. B., PADILHA, F. F., UMSZA-GUEZ, M. A. Supercritical fluid extraction using CO₂: main applications and future perspectives. **Separation Science and Technology**, v. 48, n. 18, p. 2741-2760, 2013.

MACHADO, B. A. S., DE ABREU BARRETO, G., COSTA, A. S., COSTA, S. S., SILVA, R. P. D., DA SILVA, D. F., PADILHA, F. F. Determination of parameters for the supercritical extraction of antioxidant compounds from green propolis using carbon dioxide and ethanol as co-solvent. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0134489, 2015.

MARKOM, M., HASAN, M., DAUD, W. R. W., SINGH, H., JAHIM, J. M. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 487-496, 2007.

MELO, M. M. R.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 115-176, 2014.

MANNA, L., BUGNONE, C. A., BANCHERO, M. Valorization of hazelnut, coffee and grape wastes through supercritical fluid extraction of triglycerides and polyphenols. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 204-211, 2015.

MENEZES, M. L., JOHANN, G., DIÓRIO, A., PEREIRA, N. C., DA SILVA, E. A. Phenomenological determination of mass transfer parameters of oil extraction from grape biomass waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 176, p. 130-139, 2018.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., REIS, A. S., SANTOS, T. C. D., COUBE, C. S., LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MOHAMED, H. B., DUBA, K. S., FIORI, L., ABDELGAWED, H., TLILI, I., TOUNEKTI, T., ZRIG, A. Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.) seed oils extracted by supercritical CO₂ and organic solvent. **LWT-Food Science and Technology**, v. 74, p. 557-562, 2016.

- MOSER, B. R. Preparation of fatty acid methyl esters from hazelnut, high-oleic peanut and walnut oils and evaluation as biodiesel. **Fuel**, v. 92, n. 1, p. 231-238, 2012.
- NYAM, K. L., TAN, C. P., LAI, O. M., LONG, K., MAN, Y. C. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. *LWT – Food Science and Technology*, London, v. 42, n. 8, p. 1396-1403, 2009
- ONTAÑÓN, I., SANZ, J., ESCUDERO, A., DE MARCOS, S., FERREIRA, V., GALBÁN, J. A modified commercial gas chromatograph for the continuous monitoring of the thermal degradation of sunflower oil and off-line solid phase extraction gas–chromatography–mass spectrometry characterization of released volatiles. **Journal of Chromatography A**, v. 1388, p. 52-59, 2015.
- PEREIRA, M. G., HAMERSKI, F., ANDRADE, E. F., SCHEER, A. D. P., CORAZZA, M. L. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338-348, 2017.
- POVEDANO, M. M. D.; CASTRO, M.D. Ultrasound-assisted extraction and in situ derivatization. *Journal of Chromatography*. p. 226– 234, 2013.
- RABRENOVIĆ, B. B., DIMIĆ, E. B., NOVAKOVIĆ, M. M., TEŠEVIĆ, V. V., BASIĆ, Z. N. The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. **LWT-Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 521-527, 2014.
- REÁTEGUI, J. L. P., DA FONSECA MACHADO, A. P., BARBERO, G. F., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 223-233, 2014.
- RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: an overview. **Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.
- ROCKENBACH, I. I., RODRIGUES, E., GONZAGA, L. V., CALIARI, V., GENOVESE, M. I., GONÇALVES, A. E. D. S. S., FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174-179, 2011.
- ROMBAUT, N., SAVOIRE, R., THOMASSET, B., BÉLLIARD, T., CASTELLO, J., VAN HECKE, É., LANOISELLÉ, J. L. Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 284-292, 2014.
- SAMARAM, S., MIRHOSSEINI, H., TAN, C. P., GHAZALI, H. M., BORDBAR, S., SERJOUIE, A. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. **Food Chemistry**, v. 172, p. 7-17, 2015.

SANTOS, L. P., MORAIS, D. R., SOUZA, N. E., COTTICA, S. M., BOROSKI, M., VISENTAINER, J. V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1414-1418, 2011.

SANTOS, P., AGUIAR, A. C., BARBERO, G. F., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 22, p. 78-88, 2015.

SOLÍS-FUENTES, J. A., CAMEY-ORTÍZ, G., DEL ROSARIO HERNÁNDEZ-MEDEL, M., PÉREZ-MENDOZA, F., DURÁN-DE-BAZÚA, C. Composition, phase behavior and thermal stability of natural edible fat from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed. **Bioresource technology**, v. 101, n. 2, p. 799-803, 2010.

VIROT, M., TOMAO, V., LE BOURVELLEC, C., RENARD, C. M., CHEMAT, F. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 17, n. 6, p. 1066-1074, 2010.

ZHANG, L., ZHOU, C., WANG, B., YAGOUB, A. E. G. A., MA, H., ZHANG, X., WU, M. Study of ultrasonic cavitation during extraction of the peanut oil at varying frequencies. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 37, p. 106-113, 2017.

Capítulo IV

Artigo III- Quantificação de Vitamina E em óleo de semente uva: Efeito do ultrassom como pré-tratamento de extração.

Quantificação de Vitamina E em óleo de semente uva: Efeito do ultrassom como pré-tratamento de extração.

Rita de Cássia de Souza¹, Jeancarlo Pereira dos Anjos², Bruna Aparecida Souza Machado², Marcelo Andres Umsza-Guez¹

¹Programa de Pós-Graduação de Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Campus Ondina, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.

²Centro Universitário SENAI/ CIMATEC, Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI, Salvador, Bahia, Brasil

RESUMO

A semente da uva é o subproduto de processamento de uva mais rico em vitamina E. Esse estudo teve como objetivo avaliar a influência do pré-tratamento com ultrassom no conteúdo de vitamina E (expresso em α -tocoferol) no óleo de semente de uva (var. Syrah) extraído por Extração com Fluido Supercrítico (EFS), Soxhlet (Sox) e Blich Dyer (BD). A Vitamina E foi separada e analisada usando HPLC com detector UV. O pré-tratamento com ultrassom influenciou positivamente as amostras obtidas por EFS e BD contribuindo com um aumento de aproximadamente 56 e 99 %, respectivamente, no teor de α -tocoferol em comparação com a amostra sem tratamento. Este efeito positivo não foi observado na extração por Sox. O método EFS foi o mais eficiente na extração do α -tocoferol, sendo este 3,6 e 5,7 vezes (EFS: ST), e 11, 2 e 14,2 vezes (EFS:30-30) maiores em comparação as extrações por Sox e BD sem tratamento e com tratamento, respectivamente. A EFS pode ser crucial para a produção de óleo rico em vitamina E, componentes nutricionais benéficos para a saúde.

Palavras-chave: α -tocoferol; Vitis Vinifera; Extração com Fluido Supercrítico; Ultrassom

ABSTRACT

Grape seed is the grape processing by-product richest in vitamin E. The aim of this study was to evaluate the influence of ultrasound as grape seed pretreatment on the vitamin E content (expressed as α -tocopherol) in grape seed oil (var Syrah) extracted by Supercritical Fluid Extraction (EFS), Soxhlet (Sox) and Blich Dyer (BD). Vitamin E was separated and analyzed using HPLC with UV detector. The pre-treatment with ultrasound positively influenced the samples obtained by EFS and BD contributing with an increase of approximately 56 and 99%, respectively, in the α -tocopherol content in comparison with the sample without treatment. This positive effect was not observed in Sox extraction. The EFS method was the most effective in obtaining α -tocopherol, being 3.6 and 5.7 times (EFS: ST), and 11, 2 and 14.2 times (EFS: 30-30) higher in comparison to extractions by Sox and BD without treatment and

treatment, respectively. The EFS may be crucial for the production of a rich Vitamin E oil with beneficial nutritional components for health.

Keywords: α -tocoferol ; VitisVinifera; Supercritical Fluid Extraction.; Ultrasound

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, tecnologias emergentes estão atraindo cada vez mais interesse de várias indústrias devido ao seu potencial para recuperar compostos de alto valor agregado com menor consumo de energia de forma eficaz e sustentável (BARBA et al., 2016). A grande quantidade de resíduo gerado na produção de vinhos (DUBA; FIORI et al., 2016; MOHAMED et al., 2016), por exemplo, combinados com procedimentos de extração bem desenhados e as tecnologias existentes levariam à recuperação de compostos de interesse de alto valor agregado que poderiam ser utilizados dentro da cadeia alimentar como promotores da saúde (GALANAKIS, 2012; BERES et al., 2017; BARBA et al., 2016).

A semente da uva é o subproduto de processamento de uva mais rico em vitamina E, composta por oito isoformas, com quatro tocoferóis (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol e δ -tocoferol) e quatro tocotrienóis (α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol e δ -tocotrienol) (CAROCHO; FERREIRA, 2013; BARBA et al., 2016). Entre todas as isoformas, o α -tocoferol é a mais potente em sua ação antioxidante e abundante em sistemas biológicos, onde protege os ácidos graxos poli-insaturados da peroxidação, contribuindo assim para a manutenção da integridade e estabilidade de estruturas celulares (COHEN, 2014). Além disso, impede a rancidez dos óleos durante o armazenamento e pode ser usado como aditivo para alimentos, e em produtos cosméticos (MELO et al., 2014; DUBA; FIORI et al., 2016). Na área da saúde, os α -tocoferóis são capazes de reduzir a oxidação da lipoproteína (FREITAS et al., 2008) e os riscos de desordem relacionados a radicais livres, como câncer, catarata, bem como isquemia e dano celular de reperfusão (KAUL, 2001; SOTO et al., 2015).

O conteúdo de Vitamina E observado em óleos da semente de uva varia entre 1,0 a 53,06 mg de vitamina E/100 g de óleo (FREITAS et al., 2008) concentração maior que os encontrados no óleo de Canola (17,5 mg/100g), óleo de soja (8,2mg/100g) e menores que valores encontrados no óleo de Palma (83 mg/100g), sendo este último umas das fontes mais ricas em Vitamina E (; FREITAS et al., 2008; BARBA et al., 2016).

O rendimento e qualidade do óleo obtido de sementes de uvas depende da técnica de extração, tipo de solvente e condições de operação empregadas. O hexano é o solvente mais utilizado para a extração de óleos comestíveis, quando se emprega o método por Soxhlet, devido à sua polaridade nula, elevado poder de solubilização, por ser fácil de separar do óleo no processo de recuperação do solvente e pela alta pureza (BRUM et al., 2009). O método de extração a frio proposto por Bligh e Dyer que utiliza uma mistura binária de solventes, é também considerado um dos métodos de extração dominantes para a avaliação do teor de lipídios (BRUM et al., 2009). Porém, estas técnicas têm como principais restrições a possibilidade de contaminações ambientais devido ao uso de grandes volumes de solventes orgânicos, a extração de compostos indesejáveis (que pode diminuir o rendimento de compostos de interesse e aumentar o custo de fracionamento), a necessidade de um pós-processamento para remover o solvente e a possível presença de traços de solvente no extrato, reduzindo a qualidade do produto pela toxicidade destes solventes (BERES et al., 2017; REATEGUI et al., 2014).

Por outro lado, a Extração por Fluido Supercrítico (EFS) tem atraído considerável atenção nos últimos anos como uma alternativa promissora à extração convencional com solventes e no processamento de alimentos (MACHADO, et al., 2013; MOHAMED et al., 2013, DUBA; FIORI, 2015). A EFS apresenta vantagens sobre as técnicas tradicionais, pois permite empregar solventes de baixo impacto ambiental, utilizando normalmente o dióxido de carbono (CO₂) supercrítico como solvente, além de ser ideal para a extração de compostos termicamente sensíveis. Embora a EFS seja muito eficiente, a aplicação do ultrassom combinada a esta metodologia foi recentemente proposta como um mecanismo para intensificar o processo e aumentar seu rendimento (REATEGUI et al., 2014; BARRALES et al., 2015). A ação combinada de ultrassom e EFS foi comprovadamente usada para melhorar a eficiência de extração do óleo de semente de maracujá (BARRALES et al., 2015) e óleo de semente maracujá doce (PEREIRA et al., 2017).

A aplicação do ultrassom é baseada na formação de ondas ultrassônicas que são capazes de promover a cavitação no meio, devido a ciclos de expansão e compressão de bolhas (LUQUE- GARCIA; LUQUE DE CASTRO, 2003). Tais ciclos podem levar à ruptura das paredes celulares de um substrato vegetal, favorecendo a penetração do solvente e proporcionando extrações mais completas e com alta reprodutibilidade, caracterizada por redução do uso de solvente orgânico, processamento simplificado e maior pureza do produto final (METHEREL et al., 2009).

Esse estudo teve como objetivo avaliar a influência do pré-tratamento com ultrassom no conteúdo de vitamina E (expresso em α -tocoferol) no óleo de semente de uva (var. Syrah) extraído por métodos diferentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material e Reagentes

Foram utilizados metanol e hexano (Merck, Darmstadt, Germany) e clorofórmio (Synth), todos grau HPLC. O padrão de α -tocoferol (CAS NUMBER 29362811) foi adquirido da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Utilizou-se filtros de membrana de celulose regenerada de 0,45 μ m (SLCR025NS, Millipore Co., Bedford, Massachusetts, EUA).

2.2. Sementes de uva

O resíduo da produção de vinho da variedade *Syrah* foi doado por vinícolas do Vale Submédio do São Francisco, Petrolina/Pe, Brasil. As sementes foram separadas manualmente das cascas e posteriormente lavadas com água destilada, secas por 20 horas em estufa de circulação (40°C), embaladas a vácuo e mantidas em congelador a -18°C até o momento do uso.

2.3. Pré-tratamento da sementes de uva

O pré-tratamento das sementes por ultrassom foi realizado em sonificador (50-60 Hz, 165W RMS – Quimis, Brasil), utilizando a temperatura de 30 °C e o tempo de 30 minutos, conforme a metodologia descrita por Souza et al (2018). Após o pré-tratamento com ultrassom, as sementes foram moídas em triturador (Di Grano, Cadence, Brasil) e peneiradas (Bertel, Tyler, Brasil) para se obter partículas de sementes com um diâmetro inferior a 0,5 mm. O pó obtido das sementes foi usado para extração de óleo por Extração com Fluido Supercrítico (EFS), extração por Soxhlet (Sox) e extração por Bligh e Dyer (BD). Para cada método citado foi realizada uma extração de óleo sem o pré-tratamento (ST) da amostra por ultrassom, utilizada nesse estudo como controle. Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

2.4. Extração com Fluido Supercrítico

Para obtenção do óleo de semente de uva, foi usada a unidade piloto Supercritical Fluid Extractor SFT- 110 (Supercritical Fluid Technologies, Inc.). Em cada experimento, a célula de extração foi preenchida com 65 g de sementes moídas. As condições de extração

foram: temperatura constante de 50 °C, pressão de 50 MPa e vazão de CO₂ de 6 g/min, e com duração de, aproximadamente, 90 minutos (DUBA; FIORI, 2015; MACHADO et al., 2015). Os extratos foram coletados em *vial* e armazenados em condição de atmosfera inerte (N₂) para evitar degradação. Os extratos foram mantidos a -18°C até o momento do uso.

2.5. Extrações Soxhlet

Amostras de 10 g de sementes de uva moídas foram colocadas no cartucho de extração e o balão de extração foi preenchido com 150 mL de hexano. As extrações foram realizadas de acordo com o método adaptado por FIORI et al.(2014), com tempo total de extração de 6 horas. A recuperação do solvente foi feita em evaporador rotativo com temperatura do banho de 40°C e velocidade de rotação de 30 rpm. Após, os óleos foram mantidos a -18°C até o momento do uso.

2.6. Extração a Frio (Bligh & Dyer)

Foram pesadas aproximadamente 10 g de sementes de uva moídas em frasco Erlenmeyer. A extração foi feita utilizando uma mistura de clorofórmio, metanol e água pelo método de Bligh e Dyer, no qual a extração do óleo é realizada a frio (BLIGH; DYER, 1959), e os óleos foram mantidos a -18°C até o momento do uso.

2.7. Análise de α -Tocoferol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A solução estoque do padrão de α -tocoferol foi preparada em metanol (grau HPLC) na concentração de 540 mg L⁻¹. As análises de vitamina E (expressa em α -tocoferol) foram executadas utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, equipado com uma unidade de bombeamento de solvente quaternária (modelo LC-20AT), um injetor automático (SIL-20AHT), um detector de arranjo de diodos (SPD-M20A), degaseificador (DGU-205), forno para coluna (CTO-20A) e uma interface controladora (CBM-20A). A identificação do α -tocoferol foi realizada empregando-se uma coluna NUCLEODUR® 100-5 C18 ec (150 x 4 mm ID; tamanho de partícula de 5 μ m.) conectada à uma pré-coluna ZORBAX Eclipse Plus C18 Agilent (4.6 x 12.5mm).

Após a otimização do método (avaliada pela injeção de uma solução contendo o padrão), as análises foram realizadas no modo isocrático (4 % do solvente A e 96 % do solvente B), tendo como fase móvel ácido acético (solvente A) e acetonitrila (solvente B). A temperatura do forno foi de 40°C e o tempo total de corrida de 9 minutos, sob um fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e um volume injetado de 20 μ L. O comprimento de onda utilizado nas análises foi

de 292 nm. O método de padronização externa foi utilizado para a quantificação do α -tocoferol em óleo de sementes de uva. As curvas analíticas foram construídas por meio de sucessivas diluições de uma solução intermediária (25 mg L⁻¹) contendo o padrão. Foi utilizada a seguinte faixa de concentração: 0,5 a 15,0 mg L⁻¹ para o α -tocoferol, contendo oito diferentes concentrações, injetados em triplicata ($R^2=0,999$). Além disso, por meio dos parâmetros das curvas analíticas foram obtidos os limites de detecção e quantificação.

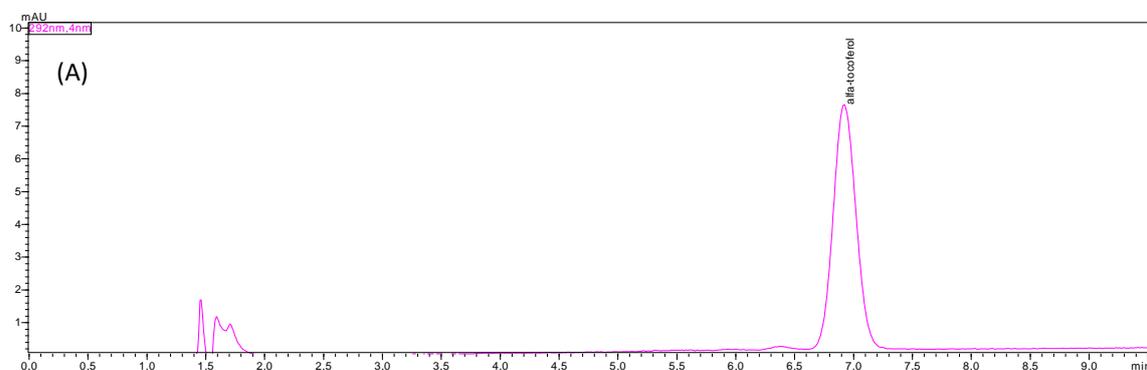
Para a determinação das concentrações de vitamina E nas amostras de óleo de sementes de uva, a extração do α -tocoferol foi por meio de extração metanólica utilizando uma concentração conhecida de óleo conforme o método utilizado por Campenesi et al. (2000). Após a obtenção dos extratos, os mesmos foram dissolvidos em metanol (2000 μ g mL⁻¹). Os resultados quantitativos foram expressos em mg de α -tocoferol por 100 g de óleo. Todas as amostras e padrões foram filtrados em membranas de celulose regenerada (0,45 μ m) antes da injeção no sistema cromatográfico.

2.8. Análise Estatística

As determinações analíticas foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% de significância ($p > 0,05$), usando o programa *Statistica* (Statsoft Inc., Tusla, USA) versão 7.0.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o cromatograma de (A) padrão de α -tocoferol e (B) óleo de semente de uva. A análise das amostras de óleo por cromatografia líquida de fase reversa (C18 RP-HPLC), sem etapas de saponificação ou derivatização, permitiu a quantificação de α -tocoferol em óleo de sementes de uva com boa seletividade e de forma direta.



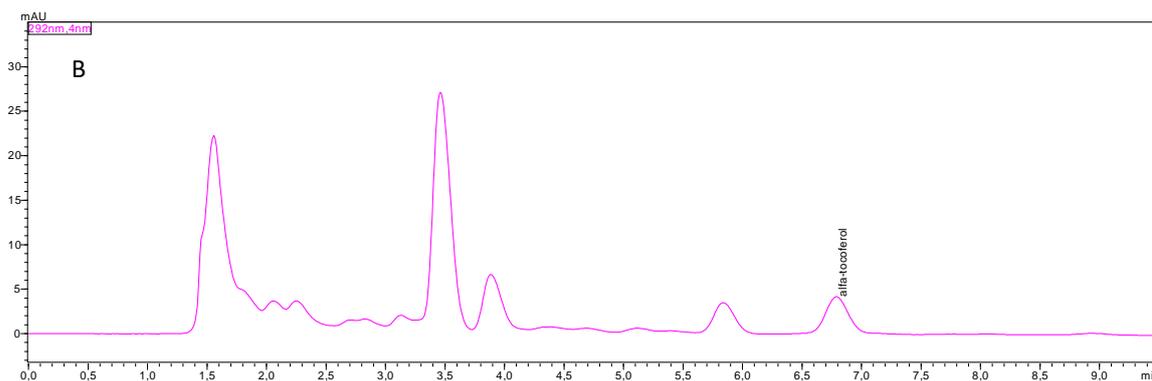


Figura 1. Cromatograma da solução padrão de α -tocoferol ($12,5 \text{ mg. L}^{-1}$) (A) e Óleo de sementes de uva (b) obtido por HPLC-DAD, a 292 nm.

Os resultados referentes às análises de Vitamina E extraídas por EFS, Sox e BD, com e sem pré-tratamento da semente de uva com ultrassom, estão apresentados na Figura 2. Nesta figura verifica-se que existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre todas as amostras obtidas com pré-tratamento, quando comparado à amostra sem tratamento.

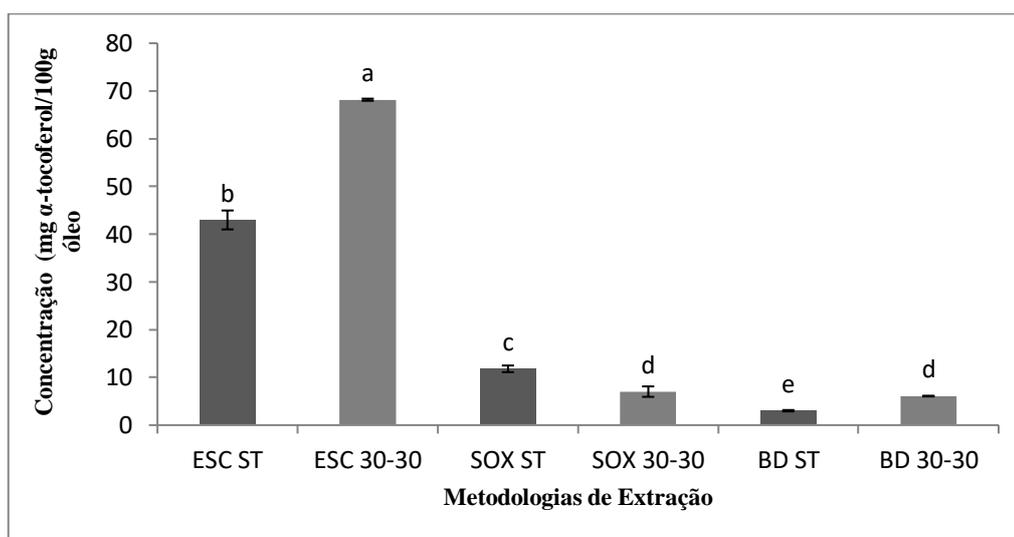


Figura 2. Concentração de α -tocoferol (mg/100 g de óleo) obtida para o óleo de sementes de uva submetido a extrações com fluido supercrítico (ESC), Soxhlet (Sox) e Blich Dyer (BD). Os dados referem-se aos resultados para a amostra de óleo sem pré-tratamento (ST) e com pré-tratamento (30:30), usando ultrassom. As diferenças significativas do α -tocoferol para cada extração (teste Tukey, $p < 0,05$) são indicadas por letras diferentes em cada figura.

Para as amostras obtidas por EFS e BD verifica-se que houve uma influência positiva do ultrassom, contribuindo com um aumento de aproximadamente 56 e 99 %, respectivamente, no teor de α -tocoferol em comparação com a amostra sem tratamento. Em relação à amostra obtida por Sox, o ultrassom não influenciou nesta metodologia de forma a aumentar os rendimentos do α -tocoferol em comparação à extração sem tratamento,

conforme ocorreu pra EFS e BD, devido à ação do ultrassom colapsar as paredes vegetais ao gerar bolhas cavitantes, permitindo assim a maior liberação de compostos alvo (CHEMAT et al., 2017). Este efeito não foi observado, sugerindo que o ultrassom não foi determinante nesta metodologia tanto quanto o tipo de solvente e temperatura.

Ao comparar as metodologias de extração verifica-se que o teor de α -tocoferol foi significativamente influenciado pelas métodos de extração e pelo pré-tratamento. A extração por Sox (30:30) apresentou concentração de α -tocoferol semelhante àquela por BD (30:30). Estatisticamente, os dados obtidos pelas duas extrações citadas não apresentaram diferença significativa, e ambas apresentaram valores significativamente maior ($p < 0,05$) que o obtido para BD (ST). A extração por BD (ST) apresentou a menor eficiência de extração de α -tocoferol (3,02 mg/100g) do óleo sementes de uva, comparada às demais formas de extração. A EFS, mostrou ser um método significativamente mais eficiente para extrair um óleo rico em α -tocoferol, em comparação com as extrações por Sox e BD. Além disso, a utilização do ultrassom, contribuiu para uma maior capacidade do método por EFS em extrair o α -tocoferol, encontrando 68,16 mg/100 g de óleo.

A extração de EFS (ST) foi 3,6 e 5,7 vezes maiores que os valores obtidos por Sox e BD sem tratamento, respectivamente. Quanto a EFS (30-30), apresentou-se 11,2 e 14,2 vezes maiores no teor de α -tocoferol em comparação com as extrações por Sox e BD com pré-tratamento, respectivamente.

Neste estudo, foram encontrados teores de α -tocoferol 188,2% (EFS: ST) e 253,5% (EFS:30:30) maiores quando comparado com o melhor resultado reportado por Mohamed et al. (2016), que obtiveram 17,2 mg α -tocoferol/100g de óleo de sementes de uva (variedade Pinot Noir) extraído por EFS (50 MPa, 50 °C). Os valores de α -tocoferol encontrados por Beveridge et al. (2005), 7,67- 30,9 mg de α -tocoferol/100g (EFS, 37 MPa, 65 °C) no óleo extraído de seis variedades de uva foram inferiores aos encontrados em nosso estudo. Esses resultados sugerem que vários fatores influenciam a quantidade de α -Tocoferol, como a variedade de uva usada para a extração de óleo, a variação nas condições de extração supercrítica, o tamanho da partícula e tempo de extração (LUCAS et al., 2002; AGOSTINI et al., 2012).

Os resultados de α -tocoferol obtidos nas extrações por Soxhlet (7,0 e 11,8mg /100g de óleo) e Bligh Dyer (3,0 e 6,0 mg/100g de óleo) estão de acordo com os reportados na literatura. Sabir; Unverb; Karaa (2011) obtiveram na extração por Soxhlet do óleo de semente de 6 variedades de uva, obtendo teores deste composto variando entre 2,7 e 10,6 mg/100g de

óleo. Boso et al. (2018) estudaram o conteúdo de α -tocoferol em 3 variedades de uva utilizando extração a frio, e obtiveram resultados variando entre 2,9-5,5 mg/100g de óleo.

O trabalho conduzido por Ge et al. (2002) para extração de α -tocoferol em germe de trigo apresentou resultados superiores ao nosso, encontrando teores de 1336.2 ; 1275 e 586 mg de α -tocoferol/100 g de óleo realizando extração por EFS-CO₂; Soxhlet com hexano e clorofórmio e metanol, respectivamente

A variação dos resultados para o conteúdo de α -tocoferol nas sementes de uva, em comparação com a literatura, pode ser explicada pelas variedades da uva, e a metodologia empregada para a extração da Vitamina E. Segundo Lucas et al. (2002) a EFS pode se apresentar como uma melhor resposta para a extração do α -tocoferol, devido ao ajustes possíveis nesta metodologia. O tocoferol é recuperado preferencialmente da matriz natural nos estágios iniciais de extração, sendo este obtido normalmente após a primeira hora de extração, sendo que a grande afinidade do alfa tocoferol ao CO₂, também possibilita a extração no início da SFE, sendo logo diluídos no óleo extraído no decorrer do tempo da extração (LUCAS et al., 2002; BARRALES et al., 2015). Na extração por Soxhlet o tempo longo de extração e temperatura utilizada, pode contribuir pra diminuir o conteúdo vitamina E devido à extração competitiva de outros composto a temperatura mais alta. Em temperatura mais altas, a extração de vitamina E, deve competir com o composto que é facilmente extraído a temperatura de extração mais alta como cadeia longa hidrocarboneto e ácido graxo de cadeia longa (KING et al 1996; LUCAS et al., 2002). É importante destacar também que os α -tocoferóis são considerados altamente sensíveis à luz e ao ar (oxigênio) e são reconhecidos como sujeitos a perdas por esses efeitos durante a preparação da amostra (BEVERIDGE et al., 2005; FREITAS et al., 2008).

A composição química do óleo vegetal, e seu teor de vitamina E, também é influenciada pelo genótipo, fatores climáticos, ambientais, local da produção, condições de crescimento e variedade, fatores ambientais durante a colheita e a estocagem pós-colheita, além dos métodos agrônômicos utilizados (AGOSTINI et al., 2012; BARRALES et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

O método EFS foi o mais eficiente na extração da vitamina E no óleo de sementes de uva, principalmente, quando foi utilizado o ultrassom como pré-tratamento das amostras. O ultrassom apresentou um efeito positivo para o aumento no teor de óleo de semente extraídos

por EFS e BD que tiveram aumento de aproximadamente 56 e 99 %, respectivamente, no teor de α -tocoferol em comparação com a amostra sem tratamento.

Os resultados aqui apresentados apoiam a conclusão que a EFS é eficiente para extração do α -tocoferol, e que a utilização do pré-tratamento por ultrassom aumenta a sua eficiência. A extração de EFS (ST) foi maior 3,6 e 5,7 vezes em comparação as extrações por Sox e BD sem tratamento. A EFS (30-30) apresentou-se 11,2 e 14,2 vezes maiores no teor de α -tocoferol em comparação com a Sox e BD com pré-tratamento. A EFS pode ser crucial para a produção de óleo rico em vitamina E, possuindo componentes nutricionais benéficos para a saúde, e a grande quantidade α -tocoferol é uma forma potencial de agregar valor às sementes como um resíduo do beneficiamento de uvas e abrir importantes aplicações para o óleo de sementes de uva.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro, e Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI-CIMATEC) e Universidade Federal da Bahia (UFBA), pelo apoio acadêmico.

5. REFERÊNCIAS

AGOSTINI, F.; BERTUSSI, R. A.; AGOSTINI, G.; DOS SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; VANDERLINDE, R. Supercritical Extraction from Vinification Residues: Fatty Acids, α -Tocopherol, and Phenolic Compounds in the Oil Seeds from Different Varieties of Grape. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-9, 2012.

BARRALES, F. M., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183-192, 2015.

BARBA, F. J., ZHU, Z., KOUBAA, M., SANT'ANA, A. S., ORLIEN, V. et al. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, 2016.

BERES, C., COSTA, G. N., CABEZUDO, I., DA SILVA-JAMES, N. K., TELES, A. S., CRUZ, A. P., FREITAS, S. P. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.

BEVERIDGE, T. H., GIRARD, B., KOPP, T., & DROVER, J. C.. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 5, p. 1799-1804, 2005.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** *Canadian journal of biochemistry and physiology*, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOSO, S., GAGO, P., SANTIAGO, J. L., RODRÍGUEZ-CANAS, E., MARTÍNEZ, M. C. New monovarietal grape seed oils derived from white grape bagasse generated on an industrial scale at a winemaking plant. **LWT**, v. 92, p. 388-394, 2018.

BRUM, Aelson Aloir Santana et al. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009.

CAROCHO, M., FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2013.

CHEMAT, F., ROMBAUT, N., SICAIRE, A. G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A. S., ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

DUBA, K. S.; FIORI, L. Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 33-43, 2015.

FIORI, L., LAVELLI, V., DUBA, K. S., HARSHA, P. S. C. S., MOHAMED, H. B., GUELLA, G. Supercritical CO₂ extraction of oil from seeds of six grape cultivars: modeling of mass transfer kinetics and evaluation of lipid profiles and tocol contents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 71-80, 2014.

FREITAS, L. S. L., JACQUES, R. A., RICHTER, M. F., DA SILVA, A. L., & CARAMÃO, E. B. Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1200, n. 1, p. 80-83, 2008.

GALANAKIS, Charis M. Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 26, n. 2, p. 68-87, 2012.

GE, Y., NI, Y., YAN, H., CHEN, Y., CAI, T. Optimization of the supercritical fluid extraction of natural vitamin E from wheat germ using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 67, n. 1, p. 239-243, 2002.

KAUL, Sanjiv. Myocardial contrast echocardiography: basic principles. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 44, n. 1, p. 1-11, 2001.

LUCAS, A. D., DE LA OSSA, E. M., RINCÓN, J., BLANCO, M. A., & GRACIA, I. Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, n. 3, p. 221-228, 2002.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, MD Luque. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

MACHADO, B. A. S., ABREU, B. G., COSTA, A. S., COSTA, S. S., SILVA, R. P. D., DA SILVA, D. F., ... PADILHA, F. F. Determination of parameters for the supercritical extraction of antioxidant compounds from green propolis using carbon dioxide and ethanol as co-solvent. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0134489, 2015.

MACHADO, B. A. S., PEREIRA, C. G., NUNES, S. B., PADILHA, F. F., UMSZA-GUEZ, M. A. Supercritical fluid extraction using CO₂: main applications and future perspectives. **Separation Science and Technology**, v. 48, n. 18, p. 2741-2760, 2013.

MELO, M.M.R., SILVESTRE, A.J.D., SILVA, C.M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 115– 176, 2014.

METHEREL, A. H., TAHA, A. Y., IZADI, H., & STARK, K. D. The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed). **Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids**, v. 81, n. 5-6, p. 417-423, 2009.

MOHAMED, H. B., DUBA, K. S., FIORI, L., ABDELGAWED, H., TLILI, I., TOUNEKTI, T., ZRIG, A. Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.) seed oils extracted by supercritical CO₂ and organic solvent. **LWT-Food Science and Technology**, v. 74, p. 557-562, 2016.

PEREIRA, M. G., HAMERSKI, F., ANDRADE, E. F., SCHEER, A. D. P., CORAZZA, M. L. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338-348, 2017.

REÁTEGUI, J. L. P., DA FONSECA MACHADO, A. P., BARBERO, G. F., REZENDE, C. A., MARTÍNEZ, J. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 223-233, 2014.

SABIR, A.; UNVER, A.; KARA, Z.. The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1982-1987, 2012.

Capítulo V

Considerações Finais

CONCLUSÕES FINAIS

- As sementes de uva presentes em resíduos agroindustriais do Vale do São Francisco, PE/BA, podem ser usada como matéria-prima para a extração de óleo, com alto valor comercial, devido à grande quantidade de compostos fenólicos que permanecem nestes.
- A influência do ultrassom no pré-tratamento da semente de uva foi avaliada, e a condição de 30°C e 30 min foi definida para conduzir o pré-tratamento.
- O pré-tratamento por ultrassom influenciou positivamente contribuindo para aumentar o rendimento e teor de fenólicos totais do óleo, sem comprometer a sua qualidade. As extrações por Sox apresentam um bom rendimento do óleo devido à temperatura de extração, no entanto as altas temperaturas indicaram menor atividade antioxidante em comparação aos valores obtidos com EFS e BD.
- Os óleos se mostraram ricos em ácido linoléico (entre 57 e 62 %) e a composição em ácidos graxos não foi expressivamente afetada pelo método de extração.
- A curva de TGA indicou que o óleo obtido, para todos os métodos de extração avaliados, apresenta alta estabilidade térmica, sofrendo degradação em temperaturas acima de 370°C.
- O método EFS foi o mais eficiente na extração da vitamina E no óleo de sementes de uva, principalmente, quando foi utilizado o ultrassom como pré-tratamento das amostras. A EFS (30-30) apresentou-se 11,2 e 14,2 vezes maiores no teor de α -tocoferol em comparação com a Sox e BD com pré-tratamento.
- Os resultados apresentados neste trabalho indicam que o pré-tratamento por ultrassom com processos pode ser um meio viável para melhorar a eficiência das extrações e obtenção de compostos fenólicos em todos os métodos de extração, desatacando a EFS que pode ser crucial para a produção de óleo rico em vitamina E, além da boa eficiência e não necessita utilizar solventes orgânicos

ANEXO I

Experimental parameters selected for the analysis of grape seed oil by GC–MS.

Segments (min)	Analyte	Ion quantification (m/z)	Ion confirmation (m/z)	t _R (min.)
4,00 – 8,30	MethylOctanoate	158	-	5,322
	MethylDecanoate	186	-	6,549
	MethylLaurate	214	-	7,769
8,30 – 11,00	MethylTetradecanoate	242	-	9,507
11,00 – 14,00	MethylPalmitoleate	268	-	12,214
	MethylPalmitate	270	-	12,581
14,00 – 16,20	MethylLinoleate	294	-	15,807
	MethylLinolenate	292	261	15,914
	cis-9-Oleic Methyl Ester	296	-	15,935
16,20 – 17,00	MethylOctadecanoate	298	-	16,440
17,00 – 22,00	MethylArachidate	326	-	20,253
	MethylErucate	352	320	23,332
	MethylDocosanoate	354	-	23,775
25,00 – 33,00	MethylLignocerate	382	-	26,999

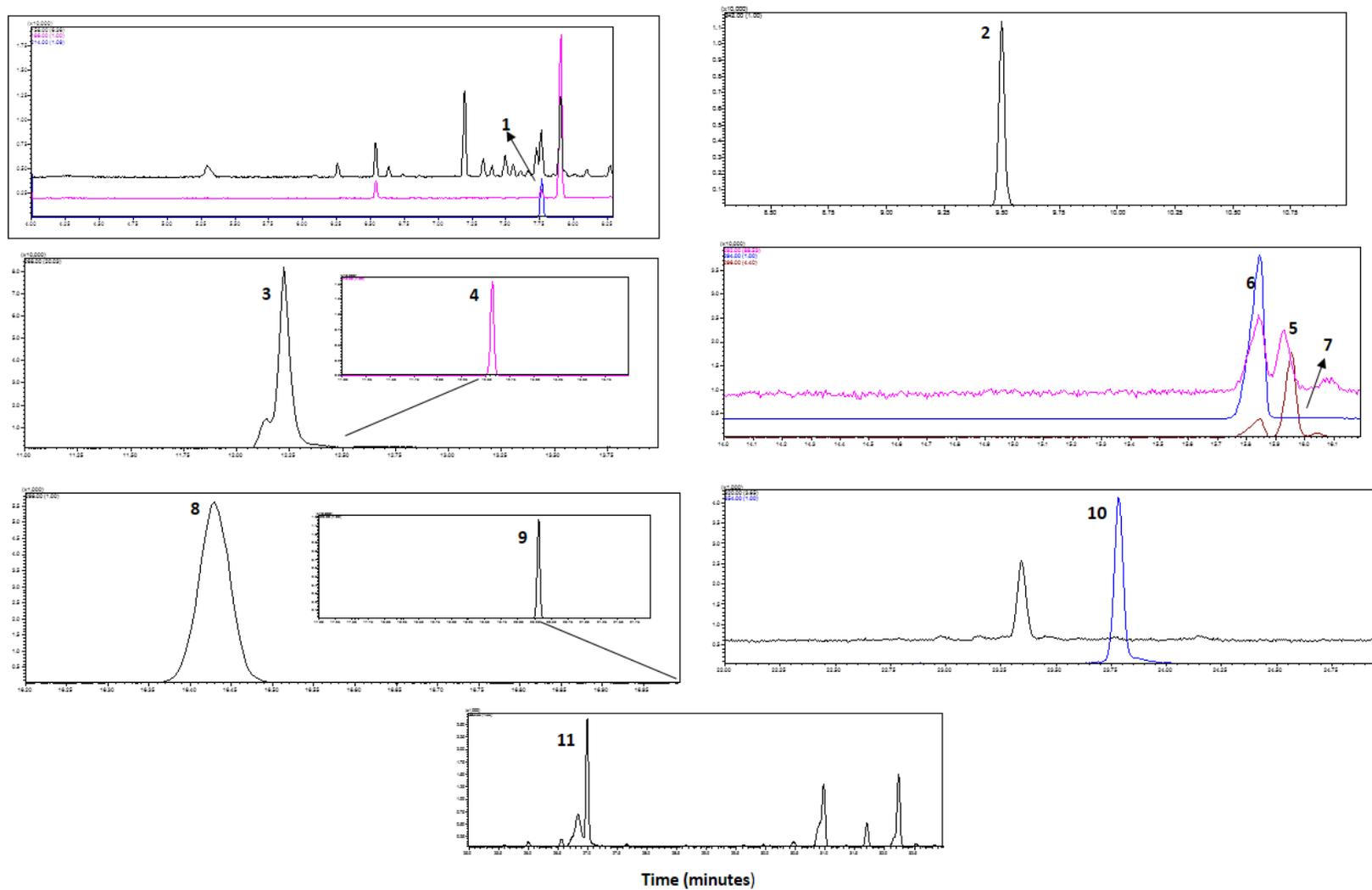


Fig. Chromatogram (SIM mode) of grape seed oil. Identification of the peaks: 1 Methyl Laurate (7.79 min); 2 Methyl Tetradecanoate (9.51); 3—Methyl Palmitoleate (12.2 min); *4— Methyl Palmitate (12.5 min); *5— Methyl Linolenate (15.91 min); *6—Methyl Linoleate (15.8 min); *7— cis-9-Oleic Methyl Ester (15.93 min); *8— Methyl Octadecanoate (16.4 min); 9—Methyl Arachidate (20,2) 9—Methyl Arachidate; 10—Methyl Docosanoate (23.7); 11—Methyl Lignocerate (26.9). 107

* Samples Diluted 1:1000