

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

# WALKIA POLLIANA DE OLIVEIRA

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO E AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS IN VIVO DE UVAS SYRAH, VINHO E RESÍDUOS

**SALVADOR** 

2016

## WALKIA POLLIANA DE OLIVEIRA

# DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO E AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS IN VIVO DE UVAS SYRAH, VINHO E RESÍDUOS

Dissertação apresentada a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Pureza Spínola Miranda Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aline Telles Biasoto Marques Dr<sup>a</sup>. Melissa Negro Dellacqua

**SALVADOR** 

2016

# O48d Oliveira, Walkia Polliana de

Determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro e avaliação de parâmetros bioquímicos in vivo de uvas Syrah, vinho e resíduos. – Salvador, 2016.

88 f.; il.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>

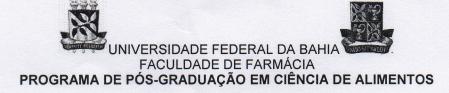
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aline Telles Biasoto Marques Dr<sup>a</sup>. Melissa Negro Dellacqua

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) — Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade Farmácia, Salvador, 2016.

Inclui referências.

1. Uva Vitis vinífera L. 2. Vitivinicultura tropical. 3. Polifenóis. I. Faculdade Farmácia. II. Miranda, Maria da Pureza Spínola. III. Dellacqua, Melissa Negro Marques. IV. Aline Telles Biasoto. V. Título.

CDD: 338.45



# TERMO DE APROVAÇÃO

# WALKIA POLLIANA DE OLIVEIRA

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO E AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS IN VIVO DE UVAS SYRAH, VINHO E RESÍDUOS

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 abril de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Dr<sup>a</sup>. Maria da Pureza Spínola Miranda Universidade Federal da Bahia

Orientadora

Dr. Cleber Alberto Schmidt Universidade Federal da Bahia

Dr. Marcos dos Santos Lima Instituto Federal do Sertão Pernambucano

# Dedico este trabalho,

- $\grave{Q}$   $\hat{Q}$  **Deus** por minha existência, por guiar-me sempre para os melhores caminhos e ler me dado força pra não desistir jamais
- A Maria Clara, razão de todo o meu esforço e dedicação, a quem eu dedico todo o meu amor, por estar ao meu lado todos os dias e me amar incondicionalmente, a quem pertenceu todo o meu sentimento de saudade, pela distância para a dedicação desta pesquisa, e principalmente por me compreender
  - A Jia Dida, anjo em minha vida, meu porto seguro, pelo apoio nos momentos difíceis e pelo exemplo de bondade.
- A minha avó (in memoriam) mulher arretada, paraibana em quem eu me inspiro, quanto a realizar os meus sonhos.
  - A meus irmãos, Binho e Polliana, mesmo com toda distância me apoiaram sempre.

"Por vez sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota".

(Madre Teresa de Calculá)

#### **AGRADECIMENTOS**

À **Deus**, que ilumina minha vida e me deu força para conquistar mais esta etapa.

Aos meu pai Walter (in memoriam) e a minha mãe Cristina por me ensinarem os verdadeiros valores da vida.

À Universidade Federal da Bahia (UFBA), através da Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, na Faculdade de Farmácia, pela oportunidade de realização do curso.

À **Embrapa Semiárido**, pela concessão do uso de suas instalações e pelo apoio financeiro para a execução dos experimentos.

A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

À Dr<sup>a</sup>. Aline Telles Biasoto Marques, pesquisadora da Embrapa Semiárido, pela disponibilidade em coorientar, pelos ensinamentos indispensáveis à realização e ao aperfeiçoamento deste trabalho, pela oportunidade concedida, apoio científico, confiança, incentivo e amizade, proporcionando o meu crescimento pessoal e profissional.

À Prof<sup>a</sup>. **Mara** orientadora e incentivadora deste trabalho, pela dedicação, sugestões e apoio.

À Dr<sup>a</sup>. **Melissa Negro Dellacqua** pela coorientação e auxílio na realização dessa pesquisa.

Ao Pesquisador da Embrapa Dr. **Davi José Silva** pelo fornecimento das amostras de uvas para a realização dessa pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

À professora **Kedma Magalhães** pela ajuda na realização da coleta sanguínea.

Ao Antero, Weslany, Luiz Cláudio, Gil, Dani, Yngrid, Joyce, Antônio, Sabrina, Danise e Natália funcionários, bolsistas e estagiários dos Laboratórios de Enologia e Cromatografia da Embrapa Semiárido, pela paciência, alegrias, pela boa vontade, apoio constante no desenvolvimento de todo o trabalho, compreensão durante a realização das análises e por conseguirem me fazer sorrir sempre, mesmo quando tudo parece desabar, me fazendo superar os dias estressantes.

Ao **Hospital Universitário** pelo auxílio na realização das análises bioquímicas À **Iêda e Valquíria** pelo o auxílio e colaboração na realização dos ensaios in vivo, meus sinceros agradecimentos de coração. À todos os meus professores de vida acadêmica, de graduação, onde se inicia o despertar do mundo científico, pela base, conhecimentos e pela amizade e aos da pós graduação, pelo apoio e incentivo e, principalmente, por contribuir para a minha qualificação profissional.

A **Érika** pelo companheirismo e compartilhar os dias difíceis de saudades da família em Salvador

Aos meus "irmãos tortos" **Vivi e Victor**, pelo carinho durante todos esses anos de convivência.

À todos da minha família, por serem meu alicerce, minha base e ter me ensinado os valores da vida, obrigada pelo apoio, suporte, carinho e compreensão que sempre me proporcionaram.

Às minhas eternas onças amigas **Kamila e Jéssica**, pela amizade, companheirismo, amparo nos momentos difíceis e também pelos bons momentos de descontração e de alegria, não sei o que seria de mim sem vocês!

Agradeço a todos aqueles que acreditaram em mim e que de alguma forma colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e fizeram parte dessa importante etapa da minha vida!

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b> Consumo mundial de vinho por habitante, em litros, no ano de 201023
<b>Tabela 2 -</b> Produção de vinhos no Brasil entre os anos de 2007 a 201124
<b>Tabela 3 -</b> Limites de parâmetros físico-químicos para vinhos de mesa e fino34
Tabela 4 - Classe de compostos fenólicos em plantas
<b>Tabela 5</b> - Estrutura dos principais ácidos hidroxibenzóicos
<b>Tabela 6</b> - Estrutura dos principais ácidos hidroxicinâmicos
Tabela 7 - Análise de espectrofotometria para determinação de Compostos fenólicos e
atividade antioxidante de vinho, de uva 'in natura' e Resíduo da cultivar 'Syrah', no
Vale do Submédio do São Francisco, Petrolina –
PE
Tabela 8 - Compostos fenólicos quantificados por HPLC em uva in natura, vinho e
resíduo da cultivar 'Syrah', no Vale do Submédio do São Francisco, Petrolina – PE59

# LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b> Bacia hidrográfica do Rio São Francisco
<b>Figura 2 -</b> Fluxograma para elaboração de vinho tinto
<b>Figura 3 -</b> . Estrutura geral dos ácidos hidroxibenzóicos
Figura 4 - Exemplos de ácidos hidroxibenzóicos
<b>Figura 5</b> - Estrutura geral dos ácidos hidrocinâmicos
<b>Figura 6</b> - Exemplos de ácidos hidrocinâmicos
Figura 7 - Estrutura das antocianinas encontradas em uvas e derivados
<b>Figura 8</b> - Principais formas de resveratrol encontrados em Vitis SSP45
<b>Figura 9</b> - Área de cultivo da cultivar 'Syrah' <i>Vitis vinífera</i> L. no Projeto Bebedouro, Petrolina, PE
<b>Figura 10</b> - Processo de elaboração de vinho tinto 'Syrah' no laboratório de enologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE
<b>Figura 11-</b> Estudo em <i>in vivo</i> em ratos Wistar, espécie <i>Rattus norvegicus</i> normotensos, prática de eutanásia e coleta sanguínea
<b>Figura 12 -</b> Consumo de ração entre os grupos de ratos e ratas (g/dia) (n=7), ingestão diária de água entre os grupos de ratos e ratas (mL/dia) (n=7) e evolução ponderal g/4 semanas entre os grupos de ratos e ratas (n=7) (*p<0,05 em relação ao grupo controle; *p<0,05 grupo vinho <i>versus</i> grupo resíduo)
<b>Figura 13 -</b> Dosagem de glicose em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (*p<0,05 em relação ao grupo controle)
<b>Figura 14 -</b> Dosagem de colesterol total em ratos e ratas (mg/dL) (n=7)68
<b>Figura 15</b> - Dosagem de HDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (*p<0,05 em relação ao grupo controle)
<b>Figura 16</b> - Parâmetros referentes a dosagem de LDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7) (*p<0,05 em relação ao grupo controle)70
<b>Figura 17 -</b> Parâmetros referentes a dosagem de VLDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7) (*p<0,05 em relação ao grupo controle)
<b>Figuara 18 -</b> Parâmetros referentes a dosagem de triglicerídeos em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (*p<0,05 em relação ao grupo controle)

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
<b>2.1</b> Geral	17
2.2 Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
<b>3.1</b> Cultivo de videiras	18
3.2 Produção de uva no Vale do Submédio do São Francisco	18
3.3 Cultivar 'Syrah'	20
3.4 Desenvolvimento e maturação da uva	20
3.5 Produção e consumo de vinho	22
<b>3.6</b> Elaboração de vinho	25
3.6.1 Recebimento das uvas	26
3.6.2 Desengace e esmagamento	27
3.6.3 Sulfitagem	27
<b>3.6.4</b> Adição de leveduras	28
3.6.5 Fermentação alcoólica	29
3.6.6 Maceração	30
<b>3.6.7</b> Descuba	31
3.6.8 Fermentação malolática	31
<b>3.6.9</b> Estabilização	32
3.6.10 Engarrafamento	32
3.7 Operações executadas ao longo da vinificação	33
3.7.1 Trasfegas e desborras	33
<b>3.8</b> Vinho e principais benefícios	34

<b>3.9</b> Resíduos vinícolas	36
3.10 Compostos fenólicos	39
3.10.1 Antocianinas	43
3.10.2 Resveratrol	44
<b>3.10.3</b> Atividade antioxidante	46
4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 Obtenção das uvas	48
<b>4.2</b> Elaboração do vinho e coleta do resíduo da vinificação	48
4.3 Análises químicas.	50
<b>4.4</b> Obtenção dos extratos de uva <i>in natura</i> e resíduo	50
4.5 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e antocianin	as monoméricas
totais por espectrofotômetro	51
4.6 Determinação da atividade antioxidante	52
4.7 Determinação de compostos fenólicos por HPLC	53
4.8 Análise estatística de dados	54
<b>4.9</b> Estudos in vivo	54
4.9.1 Obtenção dos animas	54
<b>4.9.2</b> Obtenção do liofilizado do vinho tinto e do resíduo	54
<b>4.9.3</b> Ensaios in vivo	55
<b>4.9.4</b> Análise estatística de dados dos ensaios <i>in vivo</i>	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
<b>5.1</b> Antocianinas monoméricas	57
<b>5.2</b> Atividade antioxidante	58
5.3 Flavonóis	
<b>5.4</b> Ácidos fenólicos	61
<b>5.5</b> Estilbenos	61
<b>5.6</b> Flavanois	62

<b>5.7</b> Estudos <i>in vivo</i>	64
5.7.1 Avaliação do consumo de ração, água e evolução ponderal	64
<b>5.7.2</b> Análise da concentração plasmática de glicose	66
<b>5.7.3</b> Análise da concentração plasmática de colesterol total	67
<b>5.7.4</b> Análise da concentração plasmática da fração HDL-colesterol	68
<b>5.7.5</b> Análise da concentração plasmática da fração LDL-colesterol	69
<b>5.7.6</b> Análise da concentração plasmática da fração VLDL-colesterol	71
<b>5.7.7</b> Análise da concentração plasmática de triglicerídeos	72
6 CONCLUSÕES	73
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

#### **RESUMO**

O Vale do Submédio do São Francisco é a segunda maior região produtora de vinhos finos do Brasil, detendo cerca de 15% da produção nacional, com 500 hectares de videiras de uvas Vitis vinifera L, que produzem ao redor de 6 milhões de litros de vinho/ano, sendo a variedade 'Syrah' a principal cultivar. O clima tropical semiárido, aliado a alta incidência de radiação solar e a inexistência de inverno, tornam-na capaz de produzir uvas durante o ano todo, possibilitando a prática de duas colheitas anuais, nessa região é intensa a prática da vitivinicultura tropical. O bagaço de uva industrial obtido é composto pela semente, casca e engace e os restos da polpa da uva, sendo o resultado do esmagamento do grão através de um processo de separação do suco ou mosto. Este resíduo contém compostos que permanecem, mesmo depois da elaboração dos vinhos, como antioxidantes, corantes, e outros compostos com atividades potencialmente funcionais. Este trabalho teve por objetivo caracterizar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante do vinho 'Syrah' e dos seus resíduos no Vale do Submédio do São Francisco utilizando técnicas in vitro e in vivo. Os vinhos foram elaborados em triplicata de acordo com o fluxograma adaptado pelas vinícolas da região. Foram realizadas as análises de caracterização de compostos fenólicos (HPLC e Folin-Ciocalteu) e o potencial da atividade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH. O vinho e seus resíduos foram liofilizados e usado para alimentação de ratos Wistar, espécie Rattus norvegicus normotensos. Os animais foram divididos em seis grupos: controle fêmea, fêmea teste vinho, fêmea teste resíduo, controle macho, macho teste vinho e macho teste resíduo, com 7 animais em cada grupo. O resíduo apresentou maior quantidade de antocianinas, flavanóis, flavonóis e trans-resveratrol em relação ao vinho. Os ratos tratados com resíduo consumiram uma quantidade maior de ração, apresentou maior evolução ponderal, proporcionou diminuição na concentração plasmática de triglicerídeos e VLDL-colesterol, como também o aumento na concentração plasmática de HDLcolesterol, quando comparados ao vinho. Nas ratas o resíduo proporcionou maior evolução ponderal quando comparado ao vinho, diminuiu a concentração plasmática de colesterol total e LDL-colesterol. Não houve diferença estatística significante na concentração plasmática de glicose dos animais tratados com vinho e resíduo. Os resíduos dessa cultivar, na região do Vale do Submédio do São Francisco, região semiárida, pode ser explorada como fonte de compostos fenólicos e antioxidantes naturais com forte aplicação nas indústrias alimentícias e farmacêuticas.

**Palavras-chave**: uva *Vitis vinífera* L., vitivinicultura tropical, polifenóis, compostos bioativos, resíduos agroindustriais.

#### **ABSTRACT**

The São Francisco Valley is the second Brazilian region in the production of wines, with about 15% of the country production and with 500 hectares of Vitis vinifera L., that produces about 6 millions of liters of wine per year, being the 'Syrah' the mainly cultivar. Because of the semiarid climate with high solar radiation and the absence of the winter season, it is possible to grown grapes all over the year, with two harvests per year and characterizing a tropical viticulture. The residue of the grapes from industry is composed by seeds, skin and pedicel and some parts of the grape flesh, being the result of the grape from must separation process. This residue contains some compounds even after the wine elaboration, such as antioxidants, color compounds and others with some functional activity. The aim of this study was to characterize the phenolic compounds and the antioxidant activity of 'Syrah' red wines and the respective residue at the São Francisco Valley, with the aid of 'in vitro' and 'in vivo' techniques. The wines were elaborated in three replicates, according to the flowchart of the wineries of the region. Analysis of phenolic compounds (HPLC and Folin-Ciocalteu methods) and antioxidant potential (ABTS and DPPH methods) were performed. The wine and residue were submitted to a freeze-dryer and used to feed Wistar rats (Rattus norvegicus). The rats were divided in six groups: female control, wine test female, residue test female, male control, male test wine and male test residue, with 7 animals per group. Residue presented higher antocyanins, flovonols and trans-resveratrol contents when compared to wine. Rats treated with the residue consumed more feed, presented higher weight gain, resulting in a decrease of tryglicerides and VLDL-cholesterol and in an increase of the plasmatic HDL-cholesterol concentration, when compared to the ones that received wine. For the female animals, the residue lead to a higher weight evolution when compared to wine, also decreasing the total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations. No statistic difference was observed on the glucose plasmatic concentration of the animals treated with residue or wine. Residues of this cultivar from the semiarid region of the São Francisco Valley, Brazil, can be explored as a natural source of antioxidants and phenolic compounds with an application on the food and pharmacy industries.

**Keywords:** *Vitis vinífera* L. grapes, tropical viticulture, bioactive polyphenol compounds, agrointrustrial residue.

# 1 INTRODUÇÃO

Desde suas origens, a produção de uva se tornou a mais importante cultura de frutas frescas do mundo. Anualmente são cultivadas mais de 67 milhões de toneladas de uva. Aproximadamente 66% desse total é destinado a elaboração de vinho e outras bebidas alcóolicas, 19% para o consumo *in natura*, e o restante, menos de 8% para a produção de uva passa (FAO, 2014; MELO et al., 2015; JACKSON, 2008). Do total da uva utilizada para a elaboração do vinho cerca de 30% é descartado na forma de resíduo, o que daria aproximadamente 20 milhões de toneladas, sendo este composto por ráquis, semente, casca e borra (MELO et al., 2015; MAKRIS, BOSKOU & ANDRIKOPOULOS, 2007; JACKSON, 2008).

Em 2014, ocorreu aumento de 1,64% na produção nacional de uvas. O excepcional aumento ocorreu nos estados da Bahia e de Santa Catarina. Verificou-se aumento de produção também nos estados de Pernambuco, Paraná e Rio Grande do Sul, de 3,52%, 2,35%, e 0,53%, respectivamente. A produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 673.422 milhões de quilos de uvas, representando 46,89% da produção nacional. O restante da produção (53,11%) foi destinado ao consumo *in natura*. O estado do Rio Grande do Sul apresentou redução da área plantada de 0,86%, isso está ocorrendo por falta de mão de obra, especialmente para os períodos de uso mais intensivo e críticos (poda e colheita). Ocorreu aumento da área plantada, apenas nos estados de Pernambuco, Bahia (19,58%) e Santa Catarina. No Rio Grande do Sul, em 2014, a produção de vinhos, sucos e derivados foi de 507,84 milhões de litros, 2,60% superior à verificada em 2013 (MELLO, 2014).

A região do Vale do Submédio São Francisco, situa-se em zona de clima tropical semi-árido, localizando-se entre os paralelos 8° e 9° do hemisfério Sul, no Nordeste basileiro, englobando as cidades de Petrolina, Lagoa Grande e Santa Maria da Boa Vista em Pernambuco, Juazeiro e Casa Nova na Bahia, destacando-se no cenário nacional como a maior exportador de uvas de mesa e a segunda maior produtora de vinhos finos do Brasil (SOARES & LEÃO, 2009). Nesta região é produzido anualmente cerca de 6,0 milhões de litros de vinho de variedades *Vitis vinífera* por ano (PEREIRA, 2013). As condições ambientais particulares dessa região como: alta luminosidade, água em abundância para a irrigação e ausência de inverno, proporcionam a possibilidade de escalonamento da produção e da colheita de até três safras anuais (SOARES & LEÃO, 2009).

A variedade 'Syrah' destaca-se como a principal cultivar para vinhos tintos no Vale do Submédio do São Francisco. Estudos genéticos com marcadores moleculares identificaram que esta cultivar teve sua origem no cruzamento entre 'Mondeuse Blanche' e 'Dureza', no sudeste da França. Os vinhos da variedade 'Syrah' geralmente são complexos, de coloração escura, com grande quantidade de taninos, acidez moderada, aromas e sabores de especiarias (PEREIRA et al., 2009).

Os vinhos e seus resíduos são fontes de compostos fenólicos, substâncias produzidas através do metabolismo secundário das plantas com o intuito de proteção, e em resposta ao um ambiente estressante (alta incidência de raios solares) ou devido ao ataque de insetos ou microrganismos (DOMENEGHINI & LEMES, 2011; MELO et al., 2015; CAMARGO et al., 2014).

Entre as inúmeras propriedades benéficas dos compostos fenólicos, destacamse os papeis antioxidantes, cardioprotetor, anticâncer, anti-bacteriano, antidiabética e ações anti-inflamatórias (BRALLEY et al., 2007; NASSIRI-ASL & HOSSEINZADEH, 2009; YADAV et al., 2009). Estes compostos podem ser agrupados como flavonóides (antocianinas, flavonóis, flavanóis e taninos), estilbenos (resveratrol) e ácidos fenólicos (benzóico, ácidos cinâmicos e os seus derivados) (NASSIRI-ASL & HOSSEINZADEH, 2009).

Estudos apontam que o consumo de compostos fenólicos podem auxiliar na redução da glicose sanguínea (MORAES & LOCATELLI, 2010). Estes autores citaram que o uso prolongado do trans-resveratrol reduziu a hiperglicemia dos ratos. Os estudos de Nascimento (2010) mostrou que o vinho da região do Vale do Submédio do São Francisco apresentam altos teores de cis-resveratrol e outros flavonoides e alto potencial antioxidante (LUCENA et al., 2010). Delmas et al. (2005) sugerem que os principais benefícios do vinho são: aumentar a resistência das fibras colágenas, exercendo efeito protetor sobre as paredes dos vasos sanguíneos; dissipar as plaquetas que provocam coágulos e entopem as artérias; inibir a formação de radicais livres, reduzindo a oxidação dos lipídios que diminuem as placas de arteriosclerose; impedir a destruição dos linfócitos, preservando o sistema imunológico; favorecer funções digestivas e aumentar o apetite, além de conter substâncias que retardam o envelhecimento celular e orgânico. Denny et al. (2014), avaliaram a atividade antiflamatória de extratos de bagaço de Petit Verdot em ratos albinos e sugeriram que a presença de ácidos hidroxibenzóico, proantocianidinas, flavanois e antocianinas presentes no bagaço de Petit Verdot apresentou propriedades anti - inflamatórias, não foi só capaz de inibir citoquinas próinflamatória, mais também contribui para melhorar a hipótese de que os compostos fenólicos em bagaços de uvas podem ser uma fonte notável de compostos funcionais.

Neste contexto o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial antioxidante e quantificar os teores de compostos fenólicos do vinho da uva da cultivar 'Syrah' oriunda da região do Vale do Submédio do São Francisco e de seu resíduo, bem como estimar o efeito benéfico desse produto para a saúde, por meio de testes *in vivo* com ratos Wistar. Com vistas a propor a utilização do resíduo de vinho como ingrediente em alimentos ou suplemento alimentício, aumentando assim a taxa de reutilização de sub-produtos agroindustriais e diminuição da poluição ambiental.

## **2 OBJETIVOS**

## 2.1 Geral

Avaliar a composição fenólica e a atividade antioxidante do vinho tinto 'Syrah' e respectivo resíduo utilizando técnicas *in vitro* e *in vivo* em ratos Wistar, espécie *Rattus norvegicus* normotensos.

# 2.2 Específicos

- Quantificar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante in vitro da uva 'Syrah' in natura procedente da região do Vale do Submédio do São Francisco, do vinho tinto e respectivo resíduo;
- Avaliar o consumo de água, ração e evolução ponderal de ratos em função do consumo de vinho e resíduo da vinificação;
- Determinar a concentração de glicose, triglicerídeos, colesterol total no sangue dos animais;
- Determinar as frações (HDL, LDL e VLDL) dos grupos de animais tratados (vinho e/ou resíduo) em relação ao grupo controle (tratado com água).

# 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Cultivo de videiras

No Brasil, o cultivo de uva destinada a elaboração de vinho iniciou-se no Semiárido nordestino a partir da década de 1980, firmando o Vale do Submédio do São Francisco como uma nova fronteira para expansão da vitivinicultura no mundo, numa condição muito particular, na qual uvas destinadas a elaboração de vinhos podem ser produzidas durante o ano todo, possibilitando o escalonamento da produção e a obtenção de duas safras anuais, sob condições irrigadas no trópico semiárido (PEREIRA, et al., 2009).

Os principais produtores mundiais de uva são: China, Estados Unidos da América, Itália, França e Espanha. O Brasil encontra-se em 12° lugar nesta classificação e os principais estados produtores são Rio Grande do Sul, São Paulo, Bahia e Pernambuco (FAO, 2014).

No Brasil a produção de uva divide-se em dois grupos: um formado por uvas finas ou europeias que são utilizadas para a elaboração de vinhos finos como: 'Cabernet Sauvignon', 'Cabernet Franc', 'Merlot' e 'Tannat', ou para mesa: 'Italia', 'Rubi', 'Benitaka', 'Brasil'e 'Red Globe' e apresentam custo de produção mais elevado. O outro que são as uvas comuns, rústicas ou americanas, podem ser utilizadas para elaboração de sucos, vinho de mesa e para consumo *in natura*. Ambos os grupos apresentam resistência às principais doenças fúngicas, alta produtividade e, ainda, adaptam-se bem a regiões de clima tropical e subtropical (CAMARGO & NACHTIGAL, 2007; CAMARGO & MAIA, 2008).

O Brasil tem mostrado perspectivas de grande expansão em relação ao desenvolvimento e a difusão das uvas americanas e híbridas, já se tem volume significativo de produção, destacando-se as varietais brancas Moscato, Embrapa e BRS Lorena, e as tintas BRS Rúbea, BRS Cora, BRS Violeta, BRS Carmem, Isabel Precoce e Concord Clone 30, novas variedades brasileiras, usadas para produção de sucos e vinhos (BARCIA, 2014.)

# 3.2 Produção de uva no Vale do Submédio do São Francisco

Atualmente, o Vale do Submédio do São Francisco (Figura 1), é responsável por mais de 15% da produção nacional de vinhos finos e espumantes de variedades *Vitis* 

*viníferas*, estes vinhos possuem tipicidade própria, devida às condições climáticas peculiares da região (PEREIRA, et al., 2009).

Estudos realizados por Lima e Choudhury (2007), consideraram que a intensidade da coloração da casca das uvas depende inicialmente de características varietais, mas é influenciada por fatores ambientais, como a intensidade de luz e temperatura. Essa relação indica que as condições locais podem potencializar ou limitar teores desses compostos nas uvas.

A variabilidade climática intra-anual, com razoável constância das condições naturais ano após ano, pode possibilitara elaboração de mais de um tipo de vinho de qualidade (PEREIRA et al., 2009). A qualidade do vinho depende da harmonia de todos os seus componentes, não considerando apenas concentrações, mas o balanço entre os compostos. Além das substâncias voláteis que definem o aroma, são fundamentais os compostos que participam na definição da cor, dos sabores e das sensações tácteis (GUERRA et al., 2009).

DF

| Description | Paulo Apriso | P

Figura 1 - Bacia hidrográfica do Rio São Francisco.

Fonte: (CBHVSF, 2010).

# 3.3 Cultivar 'Syrah'

A origem desta cultivar é polêmica, alguns autores mencionam que seria originária de Shyraz, na Pérsia, enquanto outros citam que foi na Vila de Siracusa, na Silícia. Estudos genéticos com marcadores moleculares identificaram, recentemente, que esta cultivar teve sua origem no cruzamento entre 'Mondeuse Blanche' e 'Dureza', ocorrido provavelmente no Vale do Rio Rhone, França. Além de se destacar como a principal cultivar para vinhos tintos no Submédio do Vale do Submédio do São Francisco, a exemplo da Austrália, que, também, tem na 'Shiraz' a sua mais importante uva vinífera tinta, seus cachos são medianos, cilíndrico-cônicos, compactos, com pedúnculos longos; as bagas são pequenas a medianas, ovaladas, de coloração negro-azulada e tendem a desidratar quando em estágio de maturação avançado. O manejo da copa tem um papel importante na qualidade do vinho nesta cultivar, devido ao seu intenso vigor vegetativo (PEREIRA et al., 2009).

Nas condições do Submédio do Vale do São Francisco, a 'Syrah' apresenta-se como uma cultivar precoce, iniciando a maturação das bagas a partir dos 47 a 55 dias após a frutificação, dependendo do período do ano (LIMA et al., 2004).

Os vinhos da variedade 'Syrah' geralmente são complexos, de coloração escura, com grande quantidade de taninos, acidez moderada, aromas e sabores de especiarias (GIRARDELLO, 2012). Quando atinge maturação completa, seus vinhos são de grande qualidade, de cor intensa, aromáticos e complexos (LIMA, 2010).

# 3.4 Desenvolvimento e maturação da uva

O desenvolvimento da uva apresenta-se com o alongamento da baga, em geral, segue uma curva de crescimento sigmoidal dupla (WINKLER et al., 1974) caracterizada por três fases distintas. Basicamente, cada uma das duas curvas sigmoides consecutivas apresenta um crescimento muito rápido, que é seguido por uma desaceleração (COOMBE, 1976). A fase inicial (fase I) caracteriza-se por um aumento em tamanho e massa do pericarpo (casca) e da semente, enquanto os embriões permanecem pequenos. As bagas se mostram de cor verde e firmes, com alta taxa respiratória. Na fase II, a taxa de crescimento total é bastante reduzida, o embrião, geralmente, atinge o tamanho máximo e as bagas começam a acumular açúcares e a mudar de cor. Na fase final, ocorrem expansão celular e o desenvolvimento de características físicas, químicas e sensoriais

típicas do fruto maduro. Os eventos mais importantes no desenvolvimento e maturação da uva são as mudanças na cor e no amaciamento das bagas (WINKLER et al., 1974).

A velocidade e a época em que essas mudanças ocorrem, são influenciadas por fatores ambientais, como energia solar, temperatura e umidade relativa do ar, disponibilidade de nutrientes no solo, entre outros, e têm acentuada influência no desenvolvimento da planta e seus órgãos (KAYS, 1991), inclusive do fruto (HRAZDINA et al., 1984), repercutindo na conservação pós colheita.

Além da cor e do amaciamento das bagas, várias outras mudanças caracterizam a maturação e, principalmente, o amadurecimento da uva. Muitas são independentes uma das outras e, em conjunto, determinam a aparência, o sabor, o aroma e a firmeza da uva (KAYS, 1991; WILLS et al., 1998).

De modo geral, a maturação da uva corresponde ao início da mudança de cor da uva até sua colheita. A duração dessa etapa depende da cultivar e da região de cultivo, o que corresponde de 30 a 70 dias. Durante essa fase os teores de pigmentos antociânicos em variedades tintas, açúcares, concentração de compostos voláteis responsáveis pelo aroma, tamanho das bagas e pH aumentam; as bagas amolecem, devido à perda de rigidez da parede das células da película e da polpa, e a acidez diminui (GUERRA & ZANUS, 2003; FALCÃO, 2007; GALLICE, 2010).

Por ser uma região de grande intensidade de luz e elevadas temperaturas, a maturação da uva, no Vale do Submédio do São Francisco, pode ocorrer rapidamente, no entanto, nem sempre a uva atinge a maturação enológica ideal, ou seja, pode causar descompasso nas maturações: tecnológica, fisiológica e fenólica, que compõem a enologia (FARIAS, 2011). A maturação tecnológica está vinculada ao acúmulo de açúcares e a fenólica à evolução quantitativa e qualitativa dos polifenóis da baga (GUERRA & ZANUS, 2003). Se a maturação não for adequada e bem controlada os vinhos da região podem apresentar baixa qualidade, pois passam a ser adstringentes, além de ter baixa estabilidade da matéria corante, pH elevado e alta sensibilidade à oxidação (FARIAS, 2011). Todas as maturações devem ser controladas para que se obtenha um vinho de qualidade.

O período de colheita da uva é de grande importância para a qualidade do vinho, uma vez que ela é um fruto não climatérico, ou seja, não sofre mudança abrupta quanto a sua composição e textura após a colheita (GUERRA & ZANUS, 2003; BIASOTO, 2008).

Essa etapa, correspondente a maturação desejada, deve ser determinada por parâmetros baseados nas modificações bioquímicas e/ou morfológicas durante o amadurecimento, como evoluções dos açúcares, da acidez, dos polifenóis e aromática (LIMA, 2010).

O parâmetro de teor de sólidos solúveis é utilizado para medir a maturação da uva, uma vez que o vinho é o produto da transformação do açúcar contido na baga em álcool e produtos secundários. Além disso, os compostos fenólicos e aromáticos estão relacionados ao aumento do teor de açúcares. No início da maturação, há o predomínio de glicose e, conforme a mesma avança, a relação glicose/frutose diminui, e atingem um ponto em que os teores dos dois açúcares praticamente se equivalem, ou seja, ocorre a maturação tecnológica. Conforme a uva entra na sobrematuração, o teor de frutose passa a ser maior que o de glicose. Apesar de modificar negativamente os teores de açúcares e ácidos, aumenta os teores de polifenóis da casca (antocianinas e taninos), responsáveis pela maturação fenólica da uva. O teor de ácidos também é utilizado para medir a maturação, e geralmente é empregado juntamente à medida do teor de açúcares, pois o balanço entre esses parâmetros confere equilíbrio gustativo ao vinho (GUERRA & ZANUS, 2003).

É importante fazer o acompanhamento da maturação tecnológica (açúcares e acidez) e da maturação fenólica (extratibilidade e teor de antocianinas e taninos), junto a avaliações sensoriais constantes da uva, para ter informações suficientemente precisa sobre seu estágio de maturação e assim poder escolher com precisão a data de colheita, visando à maior qualidade possível para cada situação (GUERRA & ZANUS, 2003; FALCÃO, 2007).

#### 3.5 Produção e consumo de vinho

Em 2012 a produção brasileira foi, em média, de 261 milhões de litros de vinho, sendo 81% vinho de mesa e 19% vinho fino no Rio Grande do Sul. Do total de produtos industrializados a partir de uva, 60% são vinhos e 40% são sucos e outros derivados da uva e do vinho. O alto consumo de vinhos de mesa pode ser explicado pelo poder aquisitivo da população brasileira, pois esses vinhos são comercializados por preços relativamente acessíveis, assim como pela preferência cultural e aspecto sensorial (MELLO, 2011, MELLO, 2013, SOBRINHO, 2013).

O Brasil em 2010 mostrava-se como 14° maior produtor mundial de uvas, 20° em área cultivada com videiras e 13° colocado em produção de vinhos no mundo, tendo aumentado sua produção em 20,73% quando comparada ao ano de 2000 (MELLO, 2012).

Mundialmente a indústria vitivinícola vem enfrentando grandes transformações, em termos estratégicos, de produção, consumo e de trocas internacionais. De 1986 a 2002, as séries estatísticas do Office International de La Vigne et Du Vin (OIV) indicam um decréscimo de 11% nas áreas plantadas com videiras para vinho e 13% na produção de vinhos. Em cerca de uma década e meia, os países da União Européia reduziram a sua superfície cultivada com uva de vinho em 586.000 ha, ao passo que os cinco países que formam o bloco denominado de produtores do novo mundo (Estados Unidos, Argentina, Chile, Austrália e África do Sul) aumentaram em 224.000 ha (PEREIRA et. al., 2009).

**Tabela 1 -** Consumo mundial de vinho por habitante, em litros, no ano de 2010.

	Local	Consumo
		(litros/habitante/ano)
1°	Vaticano	70,22
2°	Luxemburgo	54,29
3°	Ilha Norfolk	48,68
4°	França	45,23
5°	Portugal	42,49
6°	Itália	42,15
7°	Principado de Andorra	38,65
8°	Suíça	38,14
9°	Eslovênia	37,34
10°	Ilhas Cayman	33,53
11°	Ilhas Turks e Caicos	32,23
$20^{\circ}$	Argentina	25,16
38°	Chile	13,85
98°	Brasil	1,61

Fonte: Wine Institute, 2010.

Em 2010, o Brasil apresentou-se em 98° em relação ao consumo mundial de vinho por habitante, em litros (Tabela 1). O consumo vem exibindo um descompasso em relação à produção, ao longo das últimas 3 décadas, com um déficit médio estimado da ordem de 15,94%. Entretanto, o crescimento do consumo mundial de vinhos finos, projetado para 2002-2007, é da ordem de 0,9% ao ano em volume, enquanto a oferta, por sua vez, está estimada em 1,1% ao ano, para o mesmo período, ou seja, há excesso de capacidade, conforme apontam, também, as séries estatísticas e notas de conjuntura da OIV/2005. Há que se registrar, contudo, uma desarmonia, ao longo dos anos, entre os dados estatísticos apresentados por organismos de apoio à vitivinicultura mundial (OIV, FAO, EU, ONIVINS), o que acaba representando e provocando assimetrias informacionais, analíticas e decisórias (PEREIRA, et. al.; 2009).

No mercado externo, encontram-se várias marcas, como é o caso da Vinho do Sol, que, em 2005, comercializou no exterior mais de 300 mil garrafas e já começou a despertar a atenção dos consumidores internacionais. Os países para os quais são exportados os vinhos do Vale do Submédio do São Francisco são: Inglaterra, Portugal, Alemanha, Dinamarca, Suécia, França, Noruega, Finlândia, Suíça, Itália, Estados Unidos, Espanha e Hungria. Contudo, entre a curiosidade que desperta junto aos consumidores externos e a sustentabilidade dessa posição, existem uma longa distância a ser percorrida pelo vinho desta região, caso deseje fugir à convergência competitiva que predomina nos cenários nacional e internacional (PEREIRA, et al., 2009).

Apesar da produção de vinhos no Vale do Submédio do São Francisco apresentar crescimento nos últimos anos, os vinhos nacionais têm apresentado oscilações (Tabela 2). Embora a qualidade dos vinhos esteja melhorando, o consumo desses produtos no país ainda é inferior ao de vinhos importados, devido a preço, qualidade e hábito cultural dos consumidores de vincular os vinhos nacionais a baixa qualidade (MELLO, 2010).

**Tabela 2 -** Produção de vinhos no Brasil entre os anos de 2007 a 2011.

Produtos/anos	2007	2008	2009	2010	2011
Vinhos finos	43,2*	47,3	39,9	24,8	47,6
Vinhos Comuns	275,3	287,4	205,4	195,3	257,8
Total	318,5	334,8	245,3	220,0	305,4

<sup>\*</sup>dados em milhões de litros Fonte: UVIBRA, 2012.

# 3.6 Elaboração de vinho

A vinificação é constituída de três fenômenos principais, sendo a fermentação alcoólica, maceração e a fermentação malolática. Já as operações essenciais de todo o processo são: operações mecânicas, como esmagamento e desengaçamento, fermentação alcoólica tumultuosa, maceração, fermentação alcoólica lenta, prensagem, fermentação malolática e trasfegas (HASHIZUME, 2001). O fluxograma representado na Figura 2 apresenta as etapas desse processo.

Recebimento das uvas Desengace Esmagamento Sulfitagem Adição de leveduras Fermentação alcoólica e Maceração Descuba e desborra Fermentação alcoólica Fermentação malolática Sulfitagem Trasfega Estabilização Trasfega Sulfitagem Engarrafamento

Figura 2 - Fluxograma para elaboração de vinho tinto.

#### 3.6.1 Recebimento das uvas

Ao chegarem ao local do processamento, as uvas são armazenadas por cerca de 10 horas em câmera fria a 10°C para a retirada do calor excessivo do campo e só depois é iniciada a elaboração dos vinhos, esse processo ocorre principalmente em regiões mais quentes, como é o caso do Submédio do Vale do São Francisco. O resfriamento evita

durante o processo, o desenvolvimento das leveduras e outros microrganismos que estão presentes na película superficial da uva e que ao entrarem em contato com o mosto, e podem se multiplicarem e promover o início de fermentações indesejadas (GUERRA, 2010).

# 3.6.2 Desengace e esmagamento

As operações de desengace e esmagamento de uva exercem grande influência na qualidade do vinho, pois são os primeiros tratamentos mecânicos aplicados à uva. É nessa etapa que o mosto é liberado e exposto à ação das leveduras. Nesse sentido, é importante que a operação se realize no menor tempo possível, evitando fermentações indesejadas ou contaminações (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007). Esse problema ocorre com mais frequência nas regiões mais quentes, onde a uva fica exposta ao sol e apresenta temperatura elevada.

Essa operação é realizada com máquinas conhecidas como desengaçadeiraesmagadeira. A separação da ráquis é fundamental para a elaboração de um vinho tinto de qualidade, pois interfere negativamente com gostos amargos e dilui o mosto por causa de seu baixo teor de açúcar (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

O primeiro efeito positivo do esmagamento da uva é efetuar uma dispersão das células de leveduras presentes na película, além de provocar aeração favorável para sua multiplicação, contribuindo para o início da fermentação alcoólica. No entanto, o efeito mais significativo do esmagamento da uva é contribuir para a maceração pelo aumento da superfície de contato entre o mosto e a parte sólida e facilitar a dissolução da matéria corante e tanino (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

## 3.6.3 Sulfitagem

A adição de conservante ao mosto visa evitar o processo de oxidação do mosto e ainda controlar o crescimento de leveduras e bactérias durante a fermentação, ou seja, o intuito é de neutralizar possíveis reações químicas e bioquímicas de oxidação e evitar o crescimento de microrganismos indesejáveis no vinho. Esta etapa deve ser efetuada ao longo da vinificação, sempre que a análise do vinho indicar a necessidade. Para isso utiliza-se mundialmente o anidrido sulfuroso, ou dióxido de enxofre (GUERRA, 2007).

Esse composto quando adicionado ao vinho apresenta propriedades como: ação anti-séptica e desinfetante, quando exerce seletividade nos microrganismos presentes no

mosto, favorecendo e estimulando a ação das leveduras e inibindo a multiplicação dos microrganismos indesejáveis como as bactérias acéticas e láticas e as leveduras que produzem pouco álcool (leveduras apiculadas); ação antioxidante sobre os compostos da cor que são facilmente oxidáveis; ação solubilizante ajudando na dissolução das substâncias corantes, o que favorece a obtenção de vinhos tintos com maior intensidade de cor e brilho; ação antioxidásica inibindo determinadas enzimas responsáveis pela turvação e enegrecimento do vinho e ação coagulante, coagulando, precipitando e precipitando numerosas substâncias que se encontram no mosto provocando turvações (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

Apesar de o anidrido sulfuroso ser o mais utilizado, existem outros compostos, como o sal metabissulfito de potássio, geralmente utilizado em pequenas indústrias. Ele é solúvel em água e libera cerca de 50% de seu peso em SO<sub>2</sub>. A quantidade de antioxidante que é adicionado deve ser superestimada, uma vez que o vinho tem diversas substâncias redutoras que interferem nos teores de SO<sub>2</sub> (HASHIZUME, 2001; GUERRA, 2010). Além de adicionar SO<sub>2</sub> as uvas recém-esmagadas, é recomendado acrescentar um pouco mais desse antioxidante ao final da fermentação malolática, pois durante a fermentação alcoólica, grande parte é perdida por transformação química ou evaporação. Ainda, durante a estabilização o teor de SO<sub>2</sub> deve ser monitorado após cada trasfega/desborra (GUERRA, 2010).

Deve se tomar cuidado nas dosagens desse composto, pois quando empregado em doses elevadas podem acarretar em retardamento de fermentação, causa odor desagradável, além de poder gerar efeitos alérgicos em pessoas sensíveis. Entretanto, teores muito baixos, ou a ausência de SO<sub>2</sub> no vinho, podem causar graves problemas gustativos e deterioração, assim é importante verificar a dose ideal para cada mosto, em função do grau de maturação, estado sanitário, temperatura, teor de açúcar e acidez da uva (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

# 3.6.4 Adição de leveduras

Esse processo também conhecido como pé-de-cuba, consiste na adição das leveduras à uva recém-esmagada. A levedura comercial seca ativa *Saccharomyces cerevisiae*, é diluída em uma quantidade de mosto que represente 2 a 5% do volume total a fermentar (RIZZON; DALL' AGNOL, 2007; GUERRA, 2010).

As vantagens do adequado uso de leveduras são: taxa previsível de conversão de açúcar em álcool, fermentação mais rápida e homogênea, podendo ocorrer acréscimo de cerca de 0,2 a 0,3° G, utilização completa dos açúcares fermentáveis, essas leveduras apresentam maior tolerância ao álcool. Adicionalmente, os vinicultores reportam outras vantagens como: produção de SO<sub>2</sub>, conservante desejável ao vinho em baixas concentrações, menor formação de ácido acético, acetaldeído e piruvato, diminuição da capacidade do vinho em formar espuma, clarificação do vinho por floculação (HASHIZUME, 1983; ZOECKLEIN et al., 2001).

Deve-se lembrar, entretanto, que fermentações sem adição de leveduras selecionadas não são tão eficazes no que diz respeito à conversão de açúcar a álcool etílico. Além disso, fermentações espontâneas estão associadas à ação de microorganismos indesejáveis. Este é o caso das leveduras do gênero *Brettanomyces/Dekkera*, que afetam negativamente e de forma marcante o crescimento das leveduras do gênero *Saccharomyces*, promovendo altas concentrações de ácido acético, octanóico e decanóico no vinho. Para corrigir tal fato a prática de maceração a frio mostra-se eficiente, contribuindo também para uma maior extração de compostos fenólicos (ZOECKLEIN et al., 2001).

#### 3.6.5 Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica consiste na transformação dos açúcares do mosto da uva (glicose e frutose), em álcool etílico e outros compostos secundários de grande impacto sobre as características sensoriais da bebida como o glicerol, acetaldeído, ácidos acéticos, lácticos, pela ação de leveduras. Conforme a fermentação evolui a quantidade de açúcar do mosto é reduzida e o teor de álcool aumenta (GUERRA, 2010).

A fermentação é um processo exotérmico. Em geral, verifica-se um aumento de 10 a 15° C durante esta etapa. Assim, se a uva chegar na área de processamento a 30° C, a fermentação do mosto poderá subir a mais de 40° C, prejudicando o crescimento microbiano. Por isso, o resfriamento do mosto durante a fermentação pode ser benéfico para a qualidade do vinho. O uso de sistema de resfriamento automático, destaca-se como a maneira mais eficaz para manter uma temperatura adequada de fermentação (HASHIZUME, 1983; CHRISTAKI & TZIA, 2002). O ideal é que o mosto não ultrapasse 30° C, pois acima dessa temperatura a qualidade aromática e gustativa do vinho é prejudicada (GUERRA, 2010).

A fermentação alcoólica do vinho ocorre em duas etapas: uma primeira etapa chamada de fermentação tumultuosa e uma segunda etapa denominada de fermentação lenta. A fermentação alcoólica tumultuosa caracteriza-se pela alta atividade das leveduras, gerando elevação da temperatura e grande liberação de CO<sub>2</sub>, que empurra as partes sólidas da uva (bagaço) para a parte superior do recipiente (GUERRA & BARNABÉ, 2005). Sendo indispensável à presença de oxigênio para a multiplicação das leveduras, porém de modo controlado, para que não ocorra detrimento da fermentação alcoólica e formação do álcool devido à multiplicação excessiva. A fermentação tumultuosa dura de três a cinco dias e coincide com a maceração (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007; GUERRA, 2010).

A fermentação lenta dura de cinco a dez dias, a intensidade da fermentação diminui, pois o teor de açúcar já está bem menor e os teores de álcool maiores (Ibidem, 2010). Ao final desse processo, as leveduras depositam-se no fundo do recipiente e, junto com outras substâncias, formam as borras que na sequência são eliminadas. A confirmação efetiva final dessa etapa pode ser feita pela análise do teor de açúcar do vinho, que é recomendável estar menor que 3,0 g.L<sup>-1</sup> de açúcar residual em vinhos tintos mesmo que a legislação brasileira considere o vinho seco com menos de 5,0 g.L<sup>-1</sup> (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

## 3.6.6 Maceração

A maceração corresponde ao período em que o mosto permanece em contato com a parte sólida da uva, especialmente a película e a semente. É a fase mais importante da vinificação em tinto. É nela que os compostos da película passam para o mosto e atribuem cor (antocianinas) e estrutura (taninos, minerais, substâncias nitrogenadas, polissacarídeos), ao vinho. A quantidade desses compostos que passam para o mosto é determinada pelo tempo de maceração, pela temperatura de fermentação alcoólica e remontagens realizadas (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

A maceração ocorre juntamente com a fermentação alcoólica, em que a formação do etanol e o aumento da temperatura ajudam na dissolução dos constituintes da parte sólida da uva. Porém, também pode iniciar antes ou ser estendida um pouco além desta, com intuito de selecionar os compostos presentes, que são extraídos, e diminuir a extração de compostos de gosto amargo e herbáceo (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

Para a obtenção de vinhos jovens é recomendado que a maceração seja curta, com duração de três a seis dias, com predomínio de aromas frutados, média de sete a dez dias ou longa, em que dura mais de dez dias, geralmente utilizada para vinho de guarda (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

As remontagens são realizadas nessa fase para facilitar a extração sólido/líquido, pois consiste em retirar o mosto em fermentação da parte inferior dos tanques verticais e colocá-lo novamente pela parte superior, com a finalidade de homogeneizar quanto à temperatura, teor de açúcar e leveduras, extrair compostos da película e favorecer a fermentação alcoólica pela oxigenação do mosto. O ideal é que sejam realizadas, diariamente, quatro na fase tumultuosa e duas na fase lenta da fermentação (GUERRA, 2010).

#### 3.6.7 Descuba

A descuba consiste na separação do mosto do restante da parte sólida e determina o fim do período de maceração. O líquido retirado é transportado para outro tanque de fermentação. O bagaço que sobra é prensado, com intuito de recuperar a maior parte do líquido existente. O conteúdo retirado da prensagem leve é adicionado ao líquido retirado inicialmente. Já o restante do líquido extraído por uma prensagem mais severa é destinado à destilação (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

Para a evolução qualitativa do aroma do vinho é realizada após 24 horas da descuba a retirada das borras decantadas, esse tempo é respeitado devido ao final da maceração o vinho encontrar-se turvo, devido à presença de sólidos em suspensão (GUERRA, 2010).

## 3.6.8 Fermentação malolática

A fermentação malolática consiste basicamente na transformação do ácido málico em ácido lático, pela ação das bactérias láticas, ela reduz a acidez total do vinho, aumenta a estabilidade microbiana, propicia maior complexidade aromática, suavidade e maciez gustativa.

O principal efeito da fermentação malolática é a redução da acidez titulável do vinho, seguida da influência na estabilidade microbiana (assegurando que a fermentação malolática não ocorra no vinho engarrafado) e nas características sensoriais (reduz a incidência de notas vegetais e acentua as notas frutadas) (GUERRA & BARNABÉ,

2005). Além do desprendimento de dióxido de carbono e pequeno aumento da acidez volátil e do pH do vinho. Embora a fermentação malolática geralmente aconteça de forma espontânea após a fermentação alcoólica, com a participação de bactérias láticas nativas, existem no comércio culturas puras liofilizadas que tornam o processo mais rápido e menos empírico (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

O ideal é que essa etapa ocorra a temperatura entre 15 e 18°C, o pH seja superior a 3,10 e que haja presença de borras no fundo do recipiente. Ao final dessa fermentação o desprendimento do dióxido de carbono é cessado e o vinho torna-se menos ácido sensorialmente. O processo de elaboração do vinho é considerado biologicamente estável ou finalizado depois de concluída essa fase (HASHIZUME, 2001; RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

#### 3.6.9 Estabilização

A estabilização ocorre logo após as fermentações, uma vez que há a necessidade de tornar a bebida límpida e estável, através da neutralização e sedimentação dos elementos originados da uva ou da autólise das leveduras via procedimentos químicos ou físicos. Além das leveduras e das bactérias, outros compostos relacionados a esse processo são ácidos os ácidos polifenóis, proteínas e polissacarídeos (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007; GUERRA 2010).

Quando o vinho tinto apresenta limpidez, aroma secundário agradável e ausência de grupos de compostos orgânicos já citados no presente trabalho e dos microrganismos significa que a estabilização desse vinho terminou. Uma das formas de realizar esse processo é colocando-o sob refrigeração, pois acelera o processo de sedimentação dos compostos indesejáveis, e posteriormente é feita a retirada da borra, por filtração ou centrifugação. Quando submetido à temperatura máxima de 0° C por 15 dias ou mais, sem intervenção de aditivos, o vinho passa a ter ótima estabilidade (GUERRA 2010).

#### 3.6.10 Engarrafamento

As embalagens universais utilizadas para engarrafar vinhos são de cor verde, de 750 mL. Após colocar a bebida no recipiente faz-se o fechamento hermético das mesmas. Para esse procedimento é mais comum utilizar rolhas de cortiça natural (GUERRA, 2010). Essas rolhas medem geralmente 24 mm de diâmetro e 38 mm de comprimento, devem ser conservadas nas embalagens fechadas e em locais arejados, isento de odores

desagradáveis, que podem ser absorvidos e transmitidos ao vinho. O ideal é que as garrafas sejam novas, e mesmo assim é recomendável fazer limpeza das mesmas, com simples lavagem, a fim de retirar possíveis elementos estranhos, como cacos de vidro e eventuais microrganismos patogênicos. (RIZZON & DALL' AGNOL, 2007).

As garrafas devem ser colocadas na vertical por alguns dias para as rolhas se ajustarem ao gargalo. Então, elas devem ser armazenadas na horizontal, em local seco, escuro e com temperatura em torno de 16°C (GUERRA, 2010).

#### 3.7 Operações executadas ao longo da vinificação

# 3.7.1 Trasfegas e desborras

As trasfegas consistem em transferir o vinho de um recipiente para outro, visando separá-lo dos sólidos insolúveis (borras) que sedimentam no fundo da cuba ao final da maceração, numa operação chamada desborra (GUERRA, 2010). Podem servir também em alguns casos para a aeração do vinho, reequilibrando seu potencial de oxidoredução. A trasfega como já foi dito separa o vinho da borra, que é indesejável, uma vez que contém muito microrganismos que podem degradar a bebida, além de ser sede de reações químicas e bioquímicas que geram odor desagradável, que depreciam o vinho (HASHIZUME, 2001).

Em vinhos tintos, geralmente, são feitas de três a cinco trasfegas. A primeira é realizada após a maceração, por ocasião da descuba, e ajuda na incorporação de oxigênio ao vinho, via aeração. Isso é importante, pois nessa fase o oxigênio favorece a completa fermentação do açúcar, ajuda a desprender o excesso de gás carbônico e evita a formação de gás sulfurídrico que confere odor desagradável à bebida. A segunda é feita no término da fermentação malolática, ajuda na clarificação da bebida, que ainda é um pouco turva após a primeira trasfega (HASHIZUME, 2001; GUERRA, 2010). Ao final da estabilização, caso o vinho seja mais jovem, pouco estruturado, após seis meses, faz-se uma outra trasfega, deve ser realizada sem incorporação de oxigênio, para evitar oxidação e pode ou não ser acompanhada de filtração, caso o vinho seja de guarda, fica de uma a dois anos estabilizando, nessa fase, uma ou duas trasfegas podem ser realizadas, sem aeração ou aeração moderada, dependendo de óxido-redução do vinho (GUERRA, 2010).

#### 3.8 Vinho e principais benefícios

O vinho é definido como a bebida obtida por fermentação alcoólica do mosto simples, ou seja, aquele obtido pelo esmagamento ou prensagem da uva com ou sem s presença de suas partes sólidas, de uva sã, fresca e madura, quaisquer que sejam as espécies e cultivares. Dessa forma, não pode utilizar outra matéria-prima a não ser a uva (BRASIL, 2005).

A legislação vitivinícola do Mercado Comum do Sul classifica os vinhos quanto à classe (de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso e composto), quanto à cor (tinto, rosado e branco) e quanto ao teor de açúcar (a classificação varia de acordo com a classe considerada) (BRASIL, 2010).

A legislação brasileira proíbe toda e qualquer adição de álcool ao vinho. Se a uva não contiver o teor necessário de açúcar, deve-se adicioná-lo no início da fermentação, respeitado o limite estabelecido pela legislação que permite uma elevação máxima de 3º GL na graduação alcoólica do vinho. Por sua vez, vinho leve é aquele que apresenta graduação alcoólica de 7 a 8,5º GL obtido exclusivamente pela fermentação dos açúcares naturais da uva, sendo vedada sua elaboração a partir do vinho de mesa (BRASIL,2010).

Os padrões de qualidade determinados pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento para vinhos finos (BRASIL, 2010) estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3 -** Limites de parâmetros físico-químicos para vinhos de mesa e fino.

Propriedades físico-químicas	Mínimo	Máximo
Álcool etílico (% v/v), a 20° C	8,6	14
Acidez total (meq L <sup>-1</sup> )	40	130
Acidez volátil (meq L-1)	-	120
Sulfatados totais, em sulfato de potássio	g.L <sup>-1</sup> -	1,2
Álcool metílico (mg L <sup>-1</sup> )	-	300
Corante Artificial	Ausência	

Fonte: adaptado de Brasil, 2010.

Nos últimos anos, diversos trabalhos científicos têm relacionado o consumo de vinho com benefícios à saúde. Os maiores responsáveis pelos efeitos benéficos do vinho

são os polifenóis, por possuírem potente efeito antioxidante e ação antibiótica (GUERRA & BARNANÉ, 2005).

Dentre as ações benéficas do vinho algumas merecem destaque, como a redução dos índices de doenças cardiovasculares, auxílio no aumento da resistência das fibras colágenas, que por sua vez confere proteção aos vasos sanguíneos, ações: anti-inflamatória, antialérgica, anticancerígena, antiplaquetária, antibacteriana; inibição do colesterol endógeno, dentre outras ações fisiológicas importantes à saúde humana (MORAES & LOCATELLI, 2010). O vinho quando consumido de maneira adequada, em doses apropriadas e associado às refeições, desempenha ação benéfica à saúde, podendo prevenir determinadas doenças, no entanto, para que isso aconteça é necessário conservar hábitos de vida saudáveis (RIBEIRO & MANFROI, 2010).

Soares-Filho et al. (2010) estudou o tratamento de ratos espontaneamente hipertensos com vinho tinto e submetidos a exercícios físicos, os resultados obtidos apresentaram efeitos relevantes e favoráveis, havendo redução significativa da pressão arterial sistólica além de aumento nos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL), quando comparado ao grupo controle, sugerindo o efeito benéfico da associação do consumo de vinho tinto e exercício físico. Um estudo com vinhos tintos da região do Vale do Submédio do São Francisco mostrou alta atividade antioxidante e alto teor de compostos fenólicos, quando comparado com substâncias padrões de antioxidantes conhecidos (LUCENA et al., 2010).

Apesar de o vinho apresentar na sua composição uma vasta quantidade de substâncias importantes, em relação aos benefícios que essa bebida pode trazer à saúde, os estudos limitam-se basicamente à presença de resveratrol e outros compostos fenólicos como os flavonoides, quercetina e catequinas, encontrados em grandes quantidades no vinho tinto (MORAES & LOCATELLI, 2010).

Em 2005, foi estimado que 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares, que representa 30% de causas de morte no mundo, e que 7,6 milhões de pessoas morreram por doença coronariana. A doença arterial coronariana (DAC) representa a quinta causa de óbito em todo o mundo; para o ano de 2020 poderá ser a primeira causa de morte, caso não haja medidas preventivas desta doença. No ano de 2003, a doença isquêmica do coração apresentou uma taxa de mortalidade de 46,48% no Brasil e de 62% na Região Sul, mostrando a gravidade dessa patologia, que está diretamente relacionada com a aterosclerose (GIEHL et al., 2007).

A aterosclerose é uma desordem metabólica lipídica, que provoca lesões no endotélio provocado pela oxidação do colesterol LDL. As lipoproteínas de baixa densidade oxidadas são as responsáveis por causar lesões nas células endoteliais. Já as lipoproteínas de alta densidade (HDL) têm um papel protetor antiaterogênico, vasodilatador e de proteção contra a oxidação das frações-LDL na parede arterial, além de atuarem no transporte reverso de colesterol. Este processo consiste na remoção do colesterol dos tecidos periféricos, e em seguida o HDL realiza o transporte para o fígado, onde o colesterol pode ser excretado através da bile e nas fezes. Os flavonoides como a quercetina, por exemplo, inibem a oxidação e citotoxicidade da LDL *in vitro* (OLIVEIRA et al., 2002; LEANÇA et al., 2010).

Os compostos fenólicos encontrados no vinho, como o resveratrol, fazem com que as concentrações sanguíneas da lipoproteína LDL diminuam (SAUTTER, 2003). Esta propriedade foi descoberta a partir de estudos impulsionados pelo "Paradoxo Francês", onde foi observada baixa taxa de mortalidade por DAC na população francesa que consumia uma dieta rica em gordura saturada, entretanto apresentava também um alto consumo de vinho, em especial o vinho tinto (GIEHL et al., 2007).

Vaccari (2009) afirma que as pessoas que têm o hábito regular de beber vinho moderadamente junto com as refeições têm 20% menos chance de desenvolver câncer de qualquer tipo. E essa proteção se deve aos polifenóis que agem bloqueando tanto o início, como o crescimento e disseminação da doença.

#### 3.9 Resíduos vinícolas

A baixa popularidade e o escasso conhecimento sobre as aplicações comerciais em relação a fonte de antioxidante naturais presentes nos alimentos e vegetais podem ser os principais motivos da falta de exploração frequente a esse assunto. Entretanto, estudos indicam que a utilização de fontes não exploradas pode resultar em muitos benefícios a saúde humana (DIMITRIOS, 2006).

O Brasil apresenta grande atividade agrícola, é um dos países que mais produzem resíduos agroindustriais. Assim, a busca de alternativas para utilização da matéria orgânica gerada vem crescendo dentro de vários centros de pesquisa (CATAENO et al., 2008).

Com o resultado do processo de vinificação, é gerada uma grande quantidade de resíduos, que inclui: cascas, ráquis e sementes. A maior parte destes resíduos são

descartados no meio ambiente, e em menor escala, utilizados como adubo (TORRES et al., 2002).

O bagaço (casca e semente) constituído por parte sólidas e uma pequena parte do mosto que as embebe. Representa o produto resultante da etapa de prensagem das massas vínicas obtidas de uvas frescas, fermentadas ou não (SILVA, 2003). É o mais abundante dos resíduos, sendo produzido após a prensagem das uvas, durante a produção de vinho branco, ou após a fase de maceração/fermentação alcoólica durante a produção de vinho tinto (MARAGKOUDAKIS et al., 2013, PARADELO et al., 2010, CORTÉS et al., 2011).

São gerados outros materiais sólidos durante o processo de vinificação. Os principais subprodutos são obtidos durante o desengace (engaço), descuba e prensagem (casca, semente e borra). Somente uma pequena parte desse material é reaproveitado, sem qualquer pré-tratamento (RUBERTO et al., 2007).

A expressiva quantidade resíduos gerados na produção de vinhos, a nível mundial, tem causado perdas econômicas e problemas ambientais na sua disposição. Com isso, seria necessário a imersão de uma nova indústria comercial inserida na indústria vinícola visando o aproveitamento desses resíduos (YI et al., 2009)

Esses resíduos são ricos em compostos bioativos, ou seja, compostos com potentes poderes antioxidantes e, por isso, com elevado valor comercial, despertando assim o interesse científico e econômico. Dentre os compostos bioativos, os resíduos gerados pelas vinícolas são fontes ricas em compostos fenólicos, já que apresentam uma expressiva quantidade resultante do processamento. A soma de bagaço (cascas e sementes), engaço e borra representam, em média, cerca de 30% do volume de uvas utilizadas para a produção vinícola, o que os torna uma fonte promissora de substâncias bioativas naturais com alto valor agregado (MELO et al., 2011).

Estudos já realizados com o bagaço demonstraram que o mesmo contém compostos que não foram totalmente extraídos durante o processo de fabricação do vinho, pois possui uma elevada quantidade de metabolitos secundários, incluindo os ácidos fenólicos, flavan-3-óis e antocianinas (MAKRIS et al., 2007). Muitos estudos têm sido focados em subprodutos da vinificação de variedades *Vitis vinífera*, entretanto pouco se sabe sobre o potencial de polifenóis das variedades de uvas não-viníferas (SANT'ANNA et al., 2012).

Estudo realizados relataram que os subprodutos da uva podem ser utilizados na alimentação de alguns animais, como coelhos (GARCIA et al., 2012), aves de corte

(ROTAVA, 2007), caprinos (TOSTO et al., 2008) e ovinos (MENEZES et al., 2009; BARROSO et al., 2007). O extrato de semente de uva desengordurado apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *Streptococcus aureus* e *Escherichia coli*, baixa atividade contra cepas de *Salmonella sp.* e potencial antioxidante comparável ao ácido ascórbico, fato que indica seu possível aproveitamento em dietas de frango de corte e na indústria de alimentos (ROTAVA, 2007).

Na casca são encontrados os flavonóis (quempferol, quercetina e miricetina), as antocianinas (cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina, malvidina), os estilbenos (resveratrol) e os ácidos fenólicos (ácido cafeiltartárico e o ácido p-cumariltartárico) (KOYAMA et al., 2007; SAIKO et al., 2008).

Farinha de uva tinta pode ser utilizada como ingrediente para a elaboração de barra de cereais, resultando em um produto integral, com características de alimento rico em fibras e com elevado potencial antioxidante (BALESTRO et al., 2011)

Scola et al. (2011), compararam a atividade antioxidante de diferentes extratos de resíduos de vinificação, entre eles, dois extratos oriundos de resíduos de *V. vinífera* (Cabernet Sauvignon e Merlot) e dois de resíduos de *V. labrusca* (Isabel e Bordo). Os extratos estudados mostraram significativa atividade antioxidante, tanto *in vitro* como *in vivo* e apresentaram, ainda, atividade anti-inflamatória *in vivo*.

Dados da indústria, mostram que os resíduos gerados na produção de vinho estão sendo utilizados como ração animal, mesmo apresentando o inconveniente da presença de álcool, e como fertilizantes de vinhedos, sendo o bagaço, ainda, utilizado na destilação de álcool pelas vinícolas. Entretanto, a maior parte desses resíduos ainda é descartada sem tratamento, causando danos ao meio ambiente, como a contaminação de águas superficiais e subterrâneas (CABRAS et al.,1997; CAMPOS, 2005, TORRES et al., 2002; LAFKA et al., 2007, LLOBERA & CAÑELLAS, 2007; ROCKENBACH et al., 2008)

Melo et al. (2011) avaliou a composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais, foi notado que, em todos os bagaços derivados de uva, tanto branco quanto tinto, houve a predominância do flavonol epicatequina, sugerindo que esse composto participa de forma expressiva na atividade antioxidante dessas amostras. Destacando também a presença de ácido gálico, cafeico, ferúlico, vanílico, *p*-cumárico, resveratrol e quercetina que são reconhecidos por possuírem atividade antioxidante, seja de forma independente ou por meio de sinergismo.

Há relatos demonstrando que o extrato de procianidinas da semente da uva apresenta atividade antioxidante *in vivo* e poderia ser tão importante quanto à vitamina E

em impedir os danos oxidativos nos tecidos, reduzindo a oxidação lipídica, e/ou inibir a produção de radicais livres (SOARES et al., 2008).

O reconhecimento dos benefícios à saúde, por parte das catequinas e proantocianidinas, está levando empresas a usar de extratos de semente de uva como suplementação alimentar (CATANEO et al., 2008). As evidências quanto à importância dos subprodutos de frutas e vegetais como fonte de compostos fitoquímicos com atividade biológica sugerem a exploraçãode tal potencial como fonte de bioativos para a dieta humana (LIMA et al., 2004).

No Vale do Submédio do São Francisco, diversas variedades de uva destinadas ao processamento destacam-se pelo alto conteúdo de compostos bioativos e elevada atividade antioxidante (RIBEIRO, 2011; BATISTA, 2014). Entre elas, citam-se Syrah, Tempranillo, Alicante Bouschet, Moscato Canelli, Chenin Blanc, BRS Violeta e Bordô. Esta produção torna-se ainda mais importante, quando reconhecidamente algumas condições de cultivo potencializam processos de síntese ou de degradação que levam a uma composição particular, em relação a um ou mais compostos químicos, nas uvas, produtos e subprodutos. Nesse enfoque e levando em consideração a alta produção de subprodutos agroindustriais gerados a partir de diferentes tipos de processamento das uvas, a caracterização torna-se fundamental para que se avaliar estratégias de agregação de valor. A partir da caracterização, é possível, por exemplo, avaliar que compostos de interesse funcional destes subprodutos podem ser introduzidos em produtos já disponíveis no mercado ou comercializados como suplementos específicos, gerando novas oportunidades comerciais (RIBEIRO, 2015).

# 3.10 Compostos fenólicos

Possuem no mínimo um anel aromático em sua estrutura, com uma ou mais hidroxilas como grupos funcionais. São substância produzidas naturalmente pelas plantas em resposta as variações ambientais como: infecções, ferimentos e radiação UV. Compreendem cerca de 800 compostos com diferentes estruturas químicas. Derivados do ácido hidroxinâmico estão presentem na uva como os ácidos cafeico e cumárico; flavonoides (como as antocianinas); flavonois e proantocianidinas (também conhecidas como taninos) (LIMA, 2009). A ingestão desses compostos por meio do consumo de frutas frescas, como a uva, ou de seus derivados, é benéfica à saúde humana por causa das propriedades antioxidantes que possuem (IANSSEN et al., 2002).

Segundo Chitarra (2005), esses compostos tem participação no "flavor", na coloração, na vida útil e na ação do produto como alimento funcional, notadamente como antioxidante. Por exemplo, a adstringência se relaciona às propriedades que algumas substâncias fenólicas (principalmente os taninos) apresentam ao se complexarem com as proteínas do epitélio mucoso, precipitando-se e causando a sensação de *travo*.

A casca e a semente são as principais áreas de acumulação de compostos fenólicos. As antocianinas e as flavonas concentram-se nos vacúolos das células da casca e, no caso das uvas tintas, podem também concentrar-se nos vacúolos das células da polpa. Os taninos são mais abundantes nas sementes do que na casca. Na mudança de cor da baga, os taninos estão presentes em cerca de 50% do seu peso total e pouco antes da maturação atingem seu máximo, uma vez que vão sendo hidrolisados durante o amadurecimento das uvas. Já as antocianinas, apresentam-se com maior intensidade durante a fase final da maturação (GIOVANNINI, 2005).

Abe et al., (2007) afirma que a evolução dos compostos fenólicos é fundamental para a qualidade da uva. Quanto mais intensa a coloração da uva, mais interessante se torna do ponto de vista funcional, já que as uvas de coloração escura apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Em uvas pouco maduras, as sementes e ráquis verdes produzem taninos agressivos, grosseiros e herbáceos. Esses são pouco apreciados devido à sensação de adstringência e gosto amargo. Nas uvas maduras, a casca fornece taninos que evoluem com o tempo, entre diferentes formas e graus de condensação, dando equilíbrio e qualidade aos vinhos e sucos (GIOVANNINI, 2005).

A classificação dos compostos fenólicos é feita de acordo com a sua cadeia carbônica principal (Tabela 4).

**Tabela 4** – Classe de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	$C_6$
Ácidos fenólicos	$C_6$ - $C_1$
Acetofenonas, ácidos fenilacéticos	$C_6$ - $C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	$C_6$ - $C_3$
Naftoquinonas	$C_6$ - $C_4$
Xantonas, benzofenonas	$C_6$ - $C_1$ - $C_6$
Estilbenos, antraquinonas	$C_6$ - $C_2$ - $C_6$
Flavonóides, isoflavonóides e chalconas	$C_6-C_3-C_6$

Lignanas, neolignanas	$(C_6-C_3)_2$
Diflavanóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Melaninas vegetais	$(C_6)_n$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos hidrolisáveis	$(C_6-C_1)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

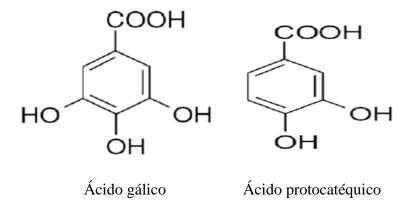
Fonte: BALASUNDRAM et al., 2006

Os ácidos fenólicos são fenóis que possuem um ácido carboxílico funcional, são divididos em dois grupos com estruturas distintas: ácidos hidroxibenzóicos (Tabela 5) e hidroxicinâmicos, os números e posições dos grupos hidroxila no anel aromático diferem (STALIKAS, 2007). Os ácidos hidroxibenzóicos (Figura 4) são os mais simples e mais encontrados na natureza, a exemplo do ácido gálico (Figura 5).

Figura 3 – Estrutura geral dos ácidos hidroxibenzóicos

Fonte: STALIKAS, 2007

Figura 4 – Exemplos de ácidos hidroxibenzóicos.



Fonte: STALIKAS, 2007

**Tabela 5** – Estrutura dos principais ácidos hidroxibenzóicos

NOME	R1	R2	R3	R4
Ácido benzoico	Н	Н	Н	Н
Ácido vanílico	Н	$OCH_3$	OH	Н
Ácido gálico	Н	OH	OH	OH
Ácido siríngico	Н	$OCH_3$	OH	$OCH_3$
Ácido salicílico	OH	Н	Н	Н

Fonte: STALIKAS, 2007

Os ácidos hidroxicinâmicos mais representativos são os ácidos  $\rho$ -cumárico, caféico e ferúlico (Figura 7)

**Figura 5** – Estrutura geral dos ácidos hidrocinâmicos

Fonte: STALIKAS, 2007

Figura 6 – Exemplos de ácidos hidrocinâmicos

Fonte: STALIKAS, 2007

**Tabela 6** – Estrutura dos principais ácidos hidroxicinâmicos

NOME	R1	R2	R3	<b>R4</b>
Ácido cinâmico	Н	Н	Н	Н
Ácido o-cumárico	OH	Н	Н	Н
Ácido <i>p</i> -cumárico	Н	Н	OH	Н
Ácido ferúlico	Н	$OCH_3$	OH	Н
Ácido caféico	Н	ОН	OH	Н

Fonte: STALIKAS, 2007

Dentre tantos vegetais, a videira (*Vitis spp.*), destaca-se em função dos altos teores de compostos fenólicos que estão presentes nos tecidos dos frutos, folhas e sementes, bem como pela variabilidade de estruturas químicas encontradas. Atualmente, um número crescente de trabalhos têm estudado os aspectos qualitativos e quantitativos destes compostos em biomassas de diversas espécies e variedades de videiras e de seus produtos, como em vinhos e sucos e seus subprodutos (MARASCHIN, 2003, CADOT et al., 2011, LAGO-VANZELA et al., 2013, BINDON et al., 2013).

## 3.10.1 Antocianinas

É o grupo mais comum dos flavonóis pigmentados, são responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul observada nos vegetais. Estruturalmente são constituídos por glicosídeos que apresentam açúcares ligados a sua estrutura no carbono três do anel pirano. São conhecidas por antocianidinas, quando não há a presença de açúcares em sua estrutura. A sua cor é influenciada pelo número de grupos hidroxila e metoxila no anel B da antocianidina, pela presença de ácidos aromáticos esterificados ao esqueleto principal e o pH do vacúolo no qual tais compostos estão armazenados (KONDO et al., 1992).

De acordo com a literatura já foram mencionadas 23 antocianidinas nas uvas, que diferem entre si pelo número e posição dos grupos hidroxilas/metoxilas, embora haja predominância de 5 antocianidinas: cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina, presentes tanto nas uvas viníferas quanto nas não viníferas, também foram encontradas pequenas quantidades de perlagonidina nas uvas viníferas. As suas quantidades relativas variam com a variedade, entretanto a malvidina é sempre majoritária. É característico das *Vitis vinífera* encontrar uma molécula de glicose ligada na posição 3 (3-glicosídeo), uma vez que outras espécies do gênero *Vitis* contém diglicosídeos nas posições 3 e 5 (3,5- diglicosídeos), como em *Vitis labrusca* (por exemplo, Concord) e *Vitis rupestris*, *Viti riparia*, e as espécies asiáticas *Vitis amurensis* contém ambos os 3-glicosídeos e 3,5- diglicosídeos, já as uvas *Vitis rotundifolia* (Muscadine) contém apenas 3,5-diglicosídeos (JORDÃO et al., 1998, BLOUIN & GUIMBERTEAU, 2002, FLANZY, 2003, MARASCHIN, 2003, KONG et al., 2003, ANDERSEN & MARKHAM, 2006, CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009).

Figura 7 - Estrutura das antocianinas encontradas em uvas e derivados

Fonte: RIBÉREAU- GAYON et al., 2006.

O acúmulo de antocianinas na casca de uva se dá em três fases: a primeira, os teores aumentam quase linearmente, na segunda, a biossíntese é reduzida, podendo haver estabilização ou mesmo diminuição dos teores existentes, assim, algumas variedades podem apresentar novo aumento na última fase, próximo ao final do ciclo produtivo (FERNÁNDEZ-LÓPES et al., 1999).

Em farmacologia, as antocianinas são de significativa importância como agentes antioxidantes, captores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da peroxidação de lipídios. Estudos epidemiológicos mostraram um decréscimo da mortalidade devido a doenças coronárias em diversas populações humanas que consomem em sua dieta alimentos contendo flavonóides, tais como o vinho tinto, a cebola, o chá preto e a maçã vermelha. Isto é explicado, em parte, pela inibição da oxidação da fração LDL do colesterol e pela redução da agregação plaquetária determinada pela ação dos flavonóides (COOK & SAMMAN, 1996).

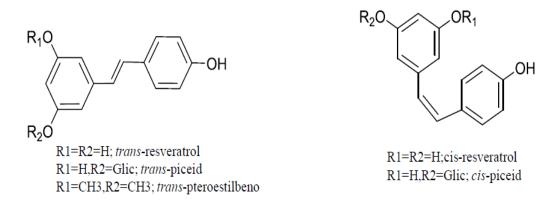
De acordo com Abe et al. (2007), nas uvas das variedades Syrah e Merlot, a proporção para malvidina:delfinidina:peonidina foi, respectivamente, de 4,5:2,5:3 e 4:3:3. A predominância da malvidina provavelmente é uma característica comum no perfil das antocianinas em *Vitis vinífera* e a variação nas proporções de tipos diferentes desse pigmento afeta a cor da uva e/ou dos produtos derivados dela, seja no que se refere à intensidade, seja em relação à estabilidade da cor.

## 3.10.2 Resveratrol

Os estilbenos são encontrados especialmente nas uvas, sendo o resveratrol o principal representante da classe, extensivamente estudado por seus inúmeros efeitos positivos sobre a saúde, devido ao seu potencial antioxidante (FERREIRA, 2004).

O resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é um composto fenólico formado por dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de etileno. Na planta, a sua síntese ocorre através de uma enzima, a estilbeno-sintase, que combina uma molécula de hidroxicinnamoil-Coenzima A (CoA) e três moléculas de malonil-CoA, sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol. No vinho, foi identificado nas folhas de videira e na casca das uvas, e sua concentração diminui significativamente durante a maturação da uva (GARRIDO et al., 2011).

Figura 8 - Principais formas de resveratrol encontrados em Vitis spp



Fonte: GARRIDO et al., 2011.

Constitui um dos compostos polifenólicos mais importante do vinho, pois é responsável por desencadear mecanismos cardioprotetores e quimiopreventivos, apresentando benefícios como regulação do metabolismo lipoproteico, estimulando a síntese da lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) e reduzindo os níveis sanguíneos da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), além da melhora na absorção de glicose (MORAES & LOCATELLI, 2010).

O *trans*-resveratrol tem atraído atenção especial, pois sua conformação espacial pode ativar a absorção de cálcio pelos vasos sanguíneos, desencadeando a vaso-dilatação, o que contribui para a redução da pressão arterial, fato este demonstrado por estudos epidemiológicos, onde declaram correlação inversa entre o consumo moderado de vinho e a incidência de doenças cardiovasculares (MARASCHIN, 2003; ABE et. al., 2007, POTTER, 2009).

Silva (2015), afirma que assim como ocorre para o índice de polifenóis totais, as informações acerca do teor de resveratrol no mosto das uvas são bastante raras. Este é um dos compostos fenólicos mais desejados nos vinhos tintos, devido aos efeitos benéficos à

saúde propiciados pelo seu consumo. Portanto, é fundamental a quantificação de seu teor, nas uvas, para que os métodos de elaboração dos vinhos sejam definidos, já que, assim como ocorre para as antocianinas, o acúmulo deste composto incide principalmente na casca das bagas.

Nascimento (2010) demonstrou que os vinhos brasileiros apresentam elevados teores de resveratrol (isômero *cis* e *trans*) e quercetina, quando comparado a vinhos de diversos países. Os vinhos do Vale do Submédio do São Francisco, diferentemente dos demais estudados, apresentaram níveis mais elevados de *cis*-resveratrol em relação ao *trans*-resveratrol.

O *trans*-resveratrol representa o composto fenólico mais importante do vinho, é encontrado na casca da uva e apresenta atividade bioquímica, atua como inibidor da agregação plaquetária e coagulação, também proporciona ação anti-inflamatória, regula o metabolismo lipoproteico e age como quimiopreventivo. O uso prolongado do *trans*-resveratrol reduziu a hiperglicemia dos ratos (MORAES & LOCATELLI, 2010).

#### 3.10.3 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, apresentam habilidade de retardar ou impedir a oxidação desse substrato, desta forma as mesmas possuem a capacidade de diminuir, dificultar ou inibir as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, e também operar como agentes redutores e sequestradores de radicais livres (SCOTTI et al., 2007; VEDANA, 2008; GRANATO, 2011).

As frutas contêm altos níveis de compostos antioxidantes, como carotenoides, flavonoides, vitaminas e fenóis, os mesmos são capazes de executar uma série de funções, incluindo sequestradores de radicais livres, decompositores de peróxido, supressores de oxigênio triplete, inibidores de enzimas e sinérgicos. Antioxidantes também podem atrasar ou impedir a oxidação dos lipídios ou outras moléculas através da inibição da iniciação ou propagação de reações em cadeia de oxidação (WANG, 2010).

As condições de pré-colheita, como clima, temperatura, intensidade de luz, tipo de solo, adubo, fertilização, aumento da concentração de dióxido de carbono na atmosfera e aplicação de compostos naturais, podem afetar o teor de antioxidantes e sua atividade nos frutos colhidos, o que provavelmente acarretará potencialidades ou prejuízos aos seus

produtos e subprodutos. Outros fatores que afetam a atividade antioxidante incluem genótipo, maturidade e práticas de cultivo (WANG, 2010).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos encontrados no vinho tinto deve-se principalmente as suas propriedades redutoras e estrutura química nucleofílica, sendo que alguns mecanismos têm sido propostos: Interrupção da reação em cadeia da peroxidação lipídica, por meio da sua reação com algumas espécies radicalares; reação com metais pró-oxidantes, tais como ferro e cobre, que são conhecidos por favorecer a formação de radicais livres; supressão da peroxidação lipídica pela reciclagem de outros antioxidantes como o tocoferol e a preservação da atividade da paraoxonase associada à lipoproteína de alta densidade (HDL), a qual é capaz de proteger a lipoproteína de baixa densidade (LDL) contra a oxidação (KALIORA et al., 2006).

Em uvas a atividade antioxidante está relacionada com o conteúdo de polifenóis totais e antocianinas nas cascas (SOARES et al., 2008). As antocianinas são consideradas como excelentes antioxidantes por doarem hidrogênio aos radicais livres altamente reativos, prevenindo a formação de novos radicais (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

A investigação da aptidão exógena das procianidinas de uva em estabelecer interações redox com o α-tocoferol e do ácido ascórbico *in vivo*. Os resultados enfatizaram uma forte capacidade das procianidinas em reparar o α-tocoferol oxidado a médio e longo prazo e atrasar a depleção do ácido ascórbico (IGLESIAS et al., 2012).

Oliveira et al. (2009), afirma que a substituição de antioxidantes sintéticos por naturais pode apresentar vantagens devido a implicações na área de saúde e na funcionalidade. Além da vantagem no nível preservacionista, na medida em que as indústrias alimentícias produzem resíduos que poderiam ter um destino muito mais benéfico, favorecendo o homem e o meio ambiente.

Há evidencias marcantes da importância da uva e seus derivados e subprodutos para que sejam empregados amplamente, tanto na alimentação humana, quanto a de animais.

# 4 MATERIAL E MÉTODOS

# 4.1 Obtenção das uvas

Uvas da variedade 'Syrah' (*Vitis vinifera* L.) foram obtidas da área experimental da EMBRAPA Semiárido, situada no Projeto Bebedouro (Figura 10), Petrolina, PE, (latitude 9° 8' 8,9" S, longitude 40° 18' 33,6" O, altitude 373 m). As plantas foram enxertadas sobre o porta enxerto Paulsen 1103, com espaçamento entre plantas de 1m, sistema de irrigação por gotejamento através de emissores com vazão de 4 L h<sup>-1</sup> e espaçados em 0,5m. Foram colhidas 100 kg de uvas em 09 de junho de 2014, com ciclo de 122 dias após a poda. Imediatamente após a colheita, foram separadas 10 kg de bagas *in natura* e congeladas a -18°C até o momento das análises.

**Figura 9** – Área de cultivo da cultivar 'Syrah' *Vitis vinífera* L. no Projeto Bebedouro, Petrolina, PE.



Fonte: Arquivo Pessoal

# 4.2 Elaboração do vinho e coleta do resíduo da vinificação

As uvas foram levadas para o Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido para a vinificação, sendo primeiramente desengaçadas e levemente esmagadas para obtenção do mosto (Figura 11). O mosto obtido apresentou teor de sólidos solúveis de 27,0° Brix, acidez titulável de 10,0 (g L<sup>-1</sup>) e pH 3,6. O mosto foi homogeinizado em contentor de aço inoxidável e distribuído em três garrafões de capacidade de 20L, tampados com válvula de Muller, que receberam igual porcentagem de parte sólida e líquida das uvas, sendo assim a vinificação realizada em triplicata.

Para a vinificação, foram adicionados levedura comercial *Saccharomyces cereviseae* Maurivin PDM® (200 mg.L<sup>-1</sup>), ativante fosfato de amônio Gesferm Plus® (200 mg L<sup>-1</sup>), enzima pectinolítica Rohavin LX® (0,008 mL L<sup>-1</sup>) e conservante metabissulfito de potássio (100 mg L<sup>-1</sup>). A fermentação alcóolica foi realizada a 25 ± 1°C, durante 20 dias, com maceração de sete dias. Após fermentação alcóolica, os vinhos seguiram para a fermentação malolática (18 °C, durante 30 dias), estabilização a frio (2°C, durante 10 dias) e estabilização com adição de goma arábica com metatartarato Stabigum® (0,4 g L<sup>-1</sup>) a 25 ± 1°C. Antes do engarrafamento, o teor de dióxido de enxofre livre foi corrigido para 50 mg L<sup>-1</sup>, os vinhos foram engarrafados e armazenados em adega climatizada (18°C). O resíduo da vinificação, constituído de casca e semente, foi coletado durante a etapa de prensagem (em prensa vertical, Prime 9k8CB4, Voges) do vinho, após maceração.

**Figura 10**- Processo de elaboração de vinho tinto 'Syrah' no laboratório de enologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE



Fonte: Arquivo Pessoal

## 4.3 Análises químicas

Para as análises espectrofotométricas, os reagentes Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico ácido), 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e Folin-Ciocalteu foram adquiridos a partir de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Etanol e persulfato de potássio foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Metanol, acetona, ácido gálico, acetato de sódio, ácido clorídrico, cloreto de potássio e carbonato de sódia foram obtidos da Vetec Ltda (Rio de Janeiro, Brasil).

Para as análises cromatográficas o metanol, acetonitrila e ácido fosfórico a 85% foram obtidos dos frabricantes Vetec Ltda (Rio de Janeiro, Brasil), JT Baker (Phillipsburg, NJ, EUA) e Fluka (Suíça), respectivamente. Os padrões de malvidina- 3– O-glicosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo, peonidina-3-O-glicosídeo, delfinidina-3-O-glicosídeo e pelargonidina-3-O-glicosídeo, petunidina-3-O-glicosídeo, caempferol-3-O-glicosídeo, miricetina, rutina, isorhamnetina-3-O-glicosídeo, isoquercetina, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-galato epicatequina, procianidinas (A2, B1 e B2) e *trans*-resveratrol foram adquiridos da Extrasynthese (Genay, França). Os ácidos gálico, ferrúlico e caféico foram adquiridos do Serviço de Chem (West Chester, EUA). Os ácidos p-cumárico, o-cumárico, siringico, vanílico e clorogênico e a quercetina foram obtidos a partir de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Água ultra-pura foi obtida por purificação utilizando um Opção Purelab Q Elga System (EUA).

## 4.4 Obtenção dos extratos de uva in natura e resíduo

Este procedimento foi realizado seguindo a metodologia proposta por Larrauri et al. (1997). Primeiramente, foram separadas as cascas e as sementes do resíduo e da uva *in natura* utilizando bisturi. Em seguida, foram pesados separadamente as cascas e as sementes de ambos, para respeitar a proporção de casca e semente que foi encontrada no total de resíduo de cada vinificação, que foi de 4:1,5, respectivamente. Assim sendo, em cada extrato foi colocado 4g de casca e 1,5g de semente. Adicionou-se 40 mL de metanol 50%, homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Centrifugou-se a 15.000 rpm (Centrifuge 5804R, Eppendof –AG) por 15 minutos e transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 100 mL que foi reservado. Ao precipitado, adicionou-se 40 mL de acetona 70%, homogeneizou-se e deixou-se em

repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Centrifugou-se a 15.000 rpm por 15 minutos e transferiu-se o sobrenadante para balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completou-se o volume para 100 mL com água destilada. Os extratos de resíduo e uva *in natura* foram preparados em triplicata.

# 4.5 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais por espectrofotometro

Os compostos fenólicos foram determinados utilizando o método espectrofotométrico com reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965). As amostras reagiram em solução de carbonato de sódio 7,5% e Folin-Ciocalteu 10%, adaptado e validado por Natividade et al. (2013). A mistura foi mantida no escuro à temperatura de 24°C durante 120 min. Após esse tempo, fez-se a leitura em cubeta de vidro com 0,5 cm, onde a absorbância foi medida em 760 nm utilizando espectrofotômetro UV-Vis Thermo Fisher Scientific modelo Genesys<sup>TM</sup> 10S (China, designer USA). Foi utilizada a equação da regressão calculada na curva de calibração com ácido gálico, considerando as diluições, e os resultados expressos equivalentes ao ácido gálico (g de EAG Kg<sup>-1</sup> de extrato).

Para a determinação das antocianinas monoméricas totais foi utilizado o método de pH-diferencial, conforme descrito por Lee et al. (2005). Amostras foram diluídas com soluções tampão de KCl (0,025 M) de pH 1,0 e CH<sub>3</sub>COONa (0,4 M) de pH 4,5. Realizouse leitura das amostras nos comprimentos de onda de 520nm e 700nm. O teor de antocianinas monoméricas foi expresso como equivalentes de malvidina-3-*O*-glucósideo. Os cálculos foram realizados como mostrado na equação 1 abaixo :

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH = 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH = 4,5}$$
 (1)

Em que:

## A = Absorbância Final

Os resultados finais da concentração de pigmentos foi calculada e representada em malvidina-3-*O*-glicosídeo, conforme a Eq. 2:

Antocianinas (mg L<sup>-1</sup>) = (A x PM x FD x 1000)/(
$$\varepsilon$$
 x 1) (2)

Onde:

- PM = peso molecular da antocianina (449,2);
- FD = fator de diluição (10);
- $\varepsilon$  = absortividade molar da malvidina-3-O-glicosídeo (28000).

## 4.6 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante realizada pelo método do DPPH (EAG e Trolox), segundo o método de Brand-Williams et al. (1995). Realizou-se leitura das amostras em espectrofotômetro modelo Genesys 10S UV-Vis da marca ThermoScientific, previamente zerado com metanol. A atividade antioxidante das amostras foi calculada utilizando a equação de regressão obtida de curva padrão elaborada com ácido gálico e trolox. A atividade antioxidante também foi determinada pelo método de ABTS (Trolox) ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzeno-tiazolina-6-ácido sulfônico). O procedimento foi baseado em método desenvolvido por Miller et al. (1993) com adaptações feitas por Rufino et al. (2010). O ensaio com o radical livre ABTS foi obtido pela sua reação, em concentração de 7 mM, com persulfato de potássio (2,45 µM, concentração final). As leituras foram realizadas a 734 nm. A atividade antioxidante das amostras foi calculada utilizando a equação de regressão obtida de curva padrão elaborada com trolox. Os valores foram obtidos substituindo-se o valor de y na equação da reta pela absorbância equivalente a 1.000 μM de Trolox como expressa a equação 3.

Cálculo das diluições do extrato (mg / L) equivalente a 1.000 µM de Trolox

$$y = ax + b \qquad (3)$$

onde:

y = Absorbância correspondente a 1.000 μM de trolox (Equação 1);

 $x = Diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 \mu M de trolox.$ 

O resultado da variável x na equação 3, é convertido em g, sendo o valor final da equação 4, calculado pela divisão de 1.000 ( $\mu$ M) pelo valor de X (g) e multiplicado por 1 (g) para obtenção do valor final (Z), expresso em  $\mu$ M trolox.  $g^{-1}$ .

# Cálculo final expresso em (µM trolox. g -1)

$$X(g) = x / 1.000$$

$$Z = 1.000 / X(g).1$$
 (4)

# 4.7 Determinação de compostos fenólicos por HPLC

Foram quantificados vinte e oito compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) usando equipamento Waters e2695 Aliança equipado com detectores de arranjo de diodos (DAD) e de fluorescência (FLD), seguindo a metodologia otimizada e validada por Natividade et al. (2013). As separações foram realizadas utilizando coluna C18 (150 x 4,6 mm, 3 um Gêmeos NX, Phenomenex ®, Torrance, CA) e pré coluna de guarda C18 (4,0 x 3,0 mm, Gêmeos NX Phenomenex) com forno mantido a 40 ° C. A fase móvel consistiu-se de uma solução de 25 mmol de di-hidrogenofosfato de potássio fosfato em água ultrapura (Purelab Opção Q Elga System, EUA) com o pH ajustado a 2,05 com ácido fosfórico (Fluka, Suíça) como o dissolvente A, metanol (HPLC, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EUA) como solvente B, e acetonitrila (qualidade para HPLC, JT Baker, Phillipsburg, NJ, EUA) como solvente C. O gradiente de eluição usado foi como se segue: 0 min 100% de A; 18 min 87,5% de A, 2,5% B, 10,0% C; 30 min 83,5% de A, 3,2% B, 13,3% C; 36 min 75,0% de A, 5,0% B, 20,0% C; 48,5 min 65,0% A, 8,3% B, 26,7% C; 50 min 65,0% A, 8,3% B, 26,7% de C e 65 min 100% A. A taxa de fluxo e volume de injecção foram de 0,6 mL min<sup>-1</sup> 9 e 10 uL, respectivamente. As amostras foram previamente filtradas através de uma membrana de 0,45 µm antes da injecção no sistema de HPLC. Em DAD, a detecção dos compostos foi realizada a 280 nm para o ácido gálico, ácido siringico, (-)-galato epicatequina, (-)-galato epigalocatequina; 320 nm para o trans-resveratrol, ácido cafeico, ácido ferrúlico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido o-cumárico e ácido clorogênico; 360 nm para o caempferol-3-O-glicosídeo, miricetina, quercetina, rutina e isorhamnetina-3-Oglicosídeo, isoquercetina e 520 nm para o antocianinas malvidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-*O*-glicosídeo, peonidina-3-*O*-glicosídeo, delfinidina-3-O-glicosídeo pelargonidina-3-O-glicosídeo, petunidina-3-O-glicosídeo. No FLD a detecção foi realizada a 280 nm e a emissão a 320 nm para (+)- catequina, procianidinas B1, B2 e A2, (-) -epicatequina.

### 4.8 Análise estatística dos dados

Os resultados foram submetidos por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05) utilizando o software estatístico XLStat (ddinsoft Inc., Anglesey, UK, 2015).

#### 4.9 Estudos in vivo

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), nos laboratórios de farmacologia e práticas cirúrgicas, e no Hospital Universitário Doutor Washington Antônio de Barros.

# 4.9.1 Obtenção dos animais

Os animais utilizados nos experimentos foram ratos e ratas Wistar, espécie *Rattus norvegicus* normotensos, pesando em torno de 200-300 gramas e com idade média de 3 meses de vida, como forma de homogeneidade dos animais, foram feitos grupos semelhantes à questão de peso e de comportamento. Ao início do experimento, foram realizados 10 dias de adaptação dos grupos nas gaiolas e no ambiente em que percorreu toda a experimentação. Os animais foram provenientes do biotério central da Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, onde foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com cama de maravalha, submetidos à temperatura controlada (21 ± 1°C) com ciclo claro/escuro de 12h (6-18 h), sendo controlado e monitorado o acesso à água e a ração. Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas – (CEDEP) da UNIVASF e aprovado com o parecer nº 0008/100614.

# 4.9.2 Obtenção do liofilizado do vinho tinto e do resíduo

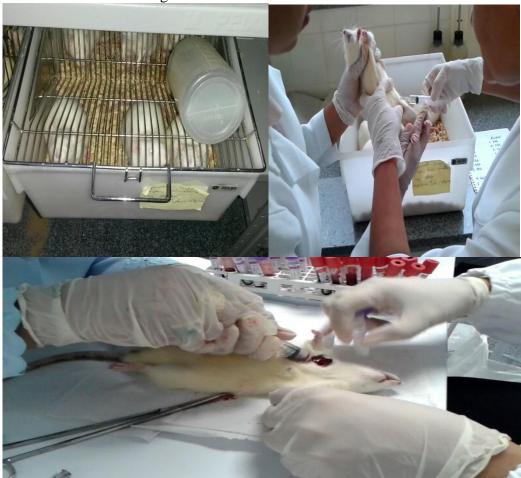
Antes da liofilização o resíduo e o vinho foram desalcoolizados em estufa de circulação de ar, permanecendo nesta durante 16 h a 40 °C, para verificar se todo o álcool havia evaporado foi feita análise de teor alcoólico em ambas as amostras. As amostras foram congeladas por 24 horas e posteriormente liofilizadas. O produto final de cada amostra liofilizada foi acondicionada em recipiente estéril protegido da luz com papel alumínio e armazenado em freezer até o dia do experimento, de acordo com a metodologia descrita por De Moura et al. (2004).

#### 4.9.3 Ensaios in vivo

Dividiu-se os animais em seis grupos: controle fêmea, fêmea teste vinho, fêmea teste resíduo, controle macho, macho teste vinho e macho teste resíduo, com sete animais em cada grupo. Durante 30 dias, os animais receberam 200 g de ração e 500 mL de água por dia, e os valores de consumo diário de água, ração e peso dos animais foram anotados.

Durante todos os dias foi medida a ingestão hídrica em todos os grupos, utilizando-se garrafas preenchidas com 500 mL de água, nas quais os valores de consumo foram verificados no período de 24 horas por meio de proveta graduada. O consumo de ração foi verificado através da mensuração da mesma em balança digital, diminuindo-se o valor obtido de 200 g, diariamente.

**Figura 11** – Estudo em *in vivo* em ratos Wistar, espécie *Rattus norvegicus* normotensos, prática de eutanásia e coleta sanguínea.



Fonte: Arquivo Pessoal

Diariamente era realizada a mensuração do peso dos animais individualmente, com os animais acomodados em uma caixa de polipropileno e colocados em uma balança

digital e os valores anotados para controle do peso, de acordo com à metodologia utilizada por Reis et al. (2011).

Cada animal dos grupos testes receberam 100 mg kg<sup>-1</sup> (peso do animal) /dia do liofilizado do respectivo vinho e/ou resíduo (dose recomendada para o benefício cardiovascular) (DIEBOLT et al., 2001), dissolvidos em 2 mL de água destilada e administrados por gavagem, sendo o valor da dose diária fornecido conforme o peso diário de cada animal. O grupo controle recebeu 2 mL de água destilada administrados por gavagem, diariamente. Os procedimentos descritos foram realizados durante os 30 dias de tratamento.

Após os 30 dias, os animais foram submetidos a 8 horas de jejum antes da coleta de sangue, anestesiados com a mistura de solução de cetamina (75 mg kg<sup>-1</sup> i.p.) e xilazina (10 mg kg<sup>-1</sup> i.p.) e eutanasiados posteriormente para a realização da coleta sanguínea, através da punção cardíaca dos animais (Figura 14). O plasma foi separado após centrifugação a 3000 rpm, durante 15 minutos para dosagem de glicemia, colesterol total (frações de LDL, HDL e VLDL) e de triglicerídeos.

Após a coleta de sangue, as análises bioquímicas foram realizadas através de equipamentos automatizados (COBAS INTEGRA® 400 Plus para análises bioquímicas). Nas análises bioquímicas foram utilizados kits reagentes provenientes das Roche Diagnostics® e a técnica utilizada para sua realização foi colorimétrica enzimática.

## 4.9.4 Análise estatística dos dados dos ensaios in vivo

Para a avaliação estatística, foi utilizada a ANOVA, seguido de teste Tukey (p≤0,05). Para todas as análises, foi utilizado o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Inc., Chicago, IL, USA).

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Antocianinas monoméricas

As concentrações de antocianinas monoméricas expressa na Tabela 7, apresentaram diferença significativa entre si, a amostra de uva in natura apresentou maior concentração, com 2191,02 mg kg<sup>-1</sup>, seguida pela amostra do resíduo e vinho, com 715,63 mg kg<sup>-1</sup> e 304,26 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Lima et al. (2014) avaliou teores de antocianinas monomérica em sucos de uvas elaborados a partir de variedades da mesma região do Vale do Submédio do São Francisco e encontrou 29 mg L-1 (Isabel precoce), 225 mg L<sup>-1</sup> (BRS Cora), 156 mg L<sup>-1</sup> (80% de Isabel precoce e 20% BRS Violeta) e 127 mg L<sup>-1</sup> (80% de Isabel precoce e 20% BRS Cora), valores inferiores ao encontrado neste estudo. As concentrações de antocianinas monoméricas glicosiladas quantificadas por HPLC, valores médios encontrados para as amostras estão expressos na Tabela 8, variaram significativamente entre si para as três amostras, exceto para Pelargonidina-3-O-glicosídeo e Petunidina-3-O-glicosídeo, ambas as amostras de vinho e resíduo não diferiram significativamente, apresentaram concentrações para Pelargonidina-3-Oglicosídeo de 9,31 e 12,11 mg kg -1 e para Petunidina-3-O-glicosídeo 0,96 e 0,89 respectivamente. Estes valores foram inferiores a da uva in natura que apresentou para Pelargonidina-3-O-glicosídeo 58,46 mg kg<sup>-1</sup> e Petunidina-3-O-glicosídeo 2,46 mg kg<sup>-1</sup>. Dentre as antocianinas presentes, a de maior concentração nas três amostras foi a Malvidina-3-O-glicosídeo. As antocianinas Cianidina-3-O-glicosídeo, Delfinidina-3-Oglicosídeo, Malvidina-3-*O*-glicosídeo e Peonidina-3-*O*-glicosídeo presentes nas amostras analisadas diferiram significativamente entre si. Padilha (2014), estudou vinhos comerciais da região do Vale do Submédio do São Francisco e encontrou para Malvidina-3-O-glicosídeo 6,67 mg L<sup>-1</sup> (Barbera), 34,07 mg L<sup>-1</sup> (Syrah) e 4,90 mg L<sup>-1</sup> (Tempranillo), para os compostos Cianidina-3-O-glicosídeo (0,20 a 0,47 mg L<sup>-1</sup>), Delfinidina-3-Oglicosídeo (0,30 a 3,37 mg L<sup>-1</sup>), Peonidina-3-O-glicosídeo (0,30 a 2,93 mg L<sup>-1</sup>) e Pelargonidina-3-O-glicosídeo (0,80 a 6,03 mg L<sup>-1</sup>) quando avaliados as amostras de Petit Verdot, Syrah e Tempranillo, todas apresentaram valores inferiores ao desse estudo. Embora os compostos fenólicos sejam extraídos durante o processo de maceração do vinho, uma quantidade considerável ainda permanece no resíduo. Estudos realizados por Melo (2015) apresentaram concentrações de Malvidina-3-O-glicosídeo para resíduo de Syrah de 1,71 mg g<sup>-1</sup>. Ivanova-Petropulos et al. (2015) observaram, para Syrah, Cabernet Sauvignon, e vinhos tintos Merlot, tinha um teor de antocianinas totais variando de 19 a

22 mg g<sup>-1</sup> de vinho seco. Os produtos vinícolas da região semiárida são considerados fontes potenciais de compostos fenólicos, especialmente, os estilbenos e flavonóides (KATALINIC' et al., 2010).

**Tabela 7** - Análise de espectrofotometria para determinação de Compostos fenólicos e atividade antioxidante de vinho, de uva '*in natura*' e Resíduo da cultivar 'Syrah', no Vale do Submédio do São Francisco , Petrolina – PE.

	Amostras <sup>1</sup>		
Variáveis	Vinho	Uva in natura	Resíduo
Fenólicos Totais (mg kg <sup>-1</sup> )	4290,00±0,70 b	6123,56±37,53 a	5450,56±27,12 ab
Antocianinas (mg kg <sup>-1</sup> )	304,26±6,76c	$2191,02\pm6,17^{a}$	715,63±26,03 b
ABTS ( µmol ETrolox/g)	19,94±0,52 c	124,34±2,97 a	41,70±3,26 b
DPPH EAG ( µmol EAG/g)	4,40±0,34 b	32,76±7,24 a	$24,61\pm2,10$ a
DPPH Trolox ( µmol ETrolox/g)	26,81±1,02 b	626,75±21,30 a	650,69±6,18 a

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Médias com letra em comum em uma mesma linha não diferem significativamente entre si segundo o teste de Tukey (p≤0,05)

### 5.2 Atividade antioxidante

Os valores encontrados para a atividade antioxidante das amostras analisadas está expressa na Tabela 7. A amostra que apresentou maior potencial antioxidante pelo método de DPPH µmol ETrolox/g foi o resíduo, cujos valores foram de 650,69 µmol ETrolox/g, não diferindo significativamente da uva in natura com 626,75 µmol ETrolox/g e ambas diferindo significativamente do vinho com 26,81 µmol ETrolox/g. Pelo método de DPPH, expresso em umol EAG/g, as amostras de uva in natura e resíduo não diferiram significativamente entre si, apesar da uva in natura apresentar maior potencial antioxidante com 37,76 µmol EAG/g, o vinho foi o que apresentou menor concentração 4,40 µmol EAG/g. Para a quantificação por ABTS as amostras diferiram significativamente entre si, apresentaram as concentrações para uva in natura 124,34 μmol ETrolox/g, resíduo 41,70 μmol ETrolox/g e vinho 19,94 μmol ETrolox/g. Padilha, 2014, estudou a atividade antioxidante de vinhos comerciais da mesma região do presente estudo, a partir do método de ABTS e encontrou 14,03 µmol ETrolox/g (Tempranillo), 8,55 µmol ETrolox/g (Petit Verdot) e 9,1 µmol ETrolox/g 3 (Syrah), valores inferiores ao desta pesquisa. A atividade antioxidante medida pelos métodos de DPPH e ABTS encontradas na literatura variam de 3,44 a 23,17 mM TEAC L<sup>-1</sup> para vinhos (GRIS et al., 2011) e de 2,51 a 11,05 mM TEAC L<sup>-1</sup> para sucos (BURIN et al., 2010), as amostras de vinho apresentaram valores superiores ao da literautura 19,94 µmol ETrolox/g (ABTS) e 26,81 µmol ETrolox/g (DPPH). Levando em consideração os fatores climáticos o aumento da temperatura diminui a concentração dos antioxidantes nos cachos da uva, enquanto, o aumento da luminosidade está relacionado ao aumento dos teores dos

mesmos. (CRIPPEN & MORRISON, 1986). Adicionalmente, a atividade antioxidante dos vinhos pode ser alterada pelos processos de elaboração, a exemplo da quantidade de tempo que o vinho fermenta em contato com a casca da uva (DAS, 2010). Além disso, seu armazenamento sob condições ditas inadequadas (expostos a iluminação e sob temperaturas elevadas) o vinho pode perder suas características antioxidantes.

Melo et al. (2015), realizaram estudos referente a atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS e encontrou para resíduo de Syrah pelo método de DPPH, 310 μmol ETrolox/g e para petit verdot 540 μmol ETrolox/g, concentracões inferiores ao deste estudo. Ribeiro (2015), avaliou subprodutos da região do Vale do Submédio do São Francisco pelos métodos de ABTS da variedade Tempranillo e encontrou 31,75 μmol ETrolox/g, também inferior ao do presente estudo, que apresentou para amostra de reísduo 41,70 μmol ETrolox/g.

**Tabela 8** - Compostos fenólicos quantificados por HPLC em uva *in natura*, vinho e resíduo da cultivar 'Syrah', no Vale do Submédio do São Francisco, Petrolina – PE.

	Amostras <sup>1</sup>		
Compostos fenólicos (mg kg <sup>-1</sup> )	Vinho	Uva in natura	Resíduo
Antocianinas			
Pelargonidina-3-O-glicosídeo	9,31±0,52 b	58,46±0,48 a	12,11±2,12 b
Cianidina-3-O-glicosídeo	0,97±0,03 c	8,96±0,16 a	3,19±0,47 b
Delfinidina-3-O-glicosídeo	4,05±0,23 c	21,84±0,27 a	6,60±1,16 b
Malvidina-3-O-glicosídeo	56,95±3,41 c	394,15±0,0 a	162,35±1,45 b
Peonidina-3-O-glicosídeo	8,36±0,46 c	75,60±0,0 a	31,28±0,68 b
Petunidina-3-O-glicosídeo	0,96±0,05 b	2,46±0,16 a	0,89±0,01 b
TOTAL	80,63±5,70 c	561,49±0,33 a	216,44±2,49 b
Flavonóis			
Caempferol-3-O-glicosídeo	3,73±0,05 c	26,88±0,0 a	9,83±0,90 b
Isorhamnetina-3-O-glicosídeo	23,35±0,63 c	136,08±0,0 a	75,86±6,49 b
Miricetina	$0,93\pm0,05$ b	4,81±0,32 a	0,44±0,21 b
Isoquercetina	48,05±1,26 c	133,73±0,0 a	84,55±7,79 b
Quercetina	0,84±0,03 b	0,50±0,03 c	2,08±0,01 a
Rutina	0,70±0,15 c	3,24±0,16 a	2,08±0,13 b
TOTAL	77,62±0,71 c	305,27±0,58 a	174,86±12,78 b
Ácidos fenólicos			
Ácido cafeico	$8,79\pm0,11$ a	2,34±0,0 b	1,32±0,24 c
Ácido ferrúlico	0,47±0,03 c	1,38±0,16 a	0,89±0,01 b
Ácido o-cumárico	$0,67\pm\pm0,02$ c	11,53±0,32 a	5,86±0,13 b
Ácido p-cumárico	2,03±0,14 b	4,46±0,17 a	1,86±0,04 b
Ácido clorogênico	5,74±0,27 a	5,04±0,55 a	1,60±0,29 b
Ácido vanílico	2,58±0,12 c	3,69±0,0 b	$8,14\pm0,80$ a
Ácido gálico	19,77±0,56 a	1,40±0,04 c	5,14±0,42 b
Ácido siríngico	1,61±0,07 b	1,34±0,0 c	3,38±0,11 a

TOTAL	41,71±0,57 a	31,20±0,53 b	28,24±1,32c
Estilbenos			
Trans-resveratrol	0,46±0,03 c	0,91±0,06 a	0,60±0,01 b
Flavanóis			
(+)-Catequina	11,64 b±0,40	22,84±0,0 a	21,32±0,58 a
(-)-Epicatequina	5,46±0,03 c	11,76±0,0 b	17,87±1,24 a
Procianidina A2	1,48±0,10 c	$2,35\pm0,0$ a	1,75±0,29 b
Procianidina B1	11,37±0,34 c	12,65±0,16 b	22,16±0,49 a
Procianidina B2	7,53±0,22 b	25,20±0,0 a	22,82±1,75 a
(-)-Galato epicatequina	10,75±0,23 b	18,81±0,0 a	6,72±0,90 c
(-)-Galato epigalatocatequina	4,52±0,07 c	19,60±0,32 a	7,05±0,47 b
TOTAL	52,78±0,86 c	113,23±0,27 a	99,71±4,23 b
TOTAL FENÓLICOS $(n = 28)$	253,21±5,77 c	1012,13±0,84 a	519,87±15,37 b

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias com letra em comum em uma mesma linha não diferem significativamente entre si segundo o teste de Tukey (p≤0,05).

### 5.3 Flavonóis

As concentrações de flavonóis, expressas na Tabela 8, mostram que as amostras diferiram significativamente para todos os flavonóis, com exceção para o composto Miricetina. Para todos os flavonóis, a amostra de uva in natura apresentou maior concentração, exceto para Quercetina, em que o resíduo se destacou com a maior concentração, seguida do vinho. Dentre os flavonóis quantificados, o que apresentou maior concentração foi a Isoquercetina com 133,73 mg kg<sup>-1</sup> (uva in natura), 84,55 mg kg<sup>-1</sup> (resíduo) e 48,05 mg kg<sup>-1</sup> (vinho). Segundo Granato et al. (2011), vinhos tintos produzidos a partir de uvas Vitis vinífera, originários do Brasil, Argentina e Chile, apresentam concentrações entre 0,83 a 4,19 mg de L<sup>-1</sup>, o presente estudo apresentou valor inferior, porém próximo para vinho tinto Syrah. Fatores relevantes como: variedades de uvas, temperatura, radiação ultravioleta e fornecimento de nutrientes podem afetar o metabolismo e regular a expressão gênica de flavonóis nas uvas, que pode diferenciar na concentração desses compostos em vinhos e em seus subprodutos (COHEN et al., 2012; MARTÍNEZ-LÜSCHER et al, 2014; SOUBEYRAND et al., 2014). Estudos de Padilha (2014), apresentaram os valores para Caempferol-3-O-glicosídeo foram 1,47 mg de L<sup>-1</sup> (Syrah) e 3,13 mg de L<sup>-1</sup> (Ruby Cabernet), para Quercetina 0,40 mg de L<sup>-1</sup> (Ruby Cabernet) e 0,37 mg de L<sup>-1</sup> (Tempranillo), inferiores ao do presente estudo. Os valores encontrados de quercetina para a amostra de resíduo, 2,08 mg kg<sup>-1</sup> foi superior a encontrada por Melo (2015), 0,44 mg g<sup>-1</sup>, também para resíduo de Syrah. É importante ressaltar que mais de 50% do total de flavonóis quantificado na amostra de uva in natura (305,27 mg kg<sup>-1</sup>) permaneceu no resíduo (174,86 mg kg<sup>-1</sup>).

## 5.4 Ácidos fenólicos

Os valores encontrados para ácidos fenólicos para as amostras apresentaram maior concentração para os vinhos em um total de 41,71 mg kg<sup>-1</sup>. O vinho apresentou maior concentração para ácido caféico (8,79 mg kg<sup>-1</sup>), ácido clorogênico (5,74 mg kg<sup>-1</sup>) e ácido gálico (19,77 mg kg<sup>-1</sup>), o mais abundante no presente estudo. O ácido gálico é o único ácido fenólico, do grupo dos hidroxibenzóicos, nativo de uvas *Vitis viniferas* estando presente principalmente na semente da uva. Segundo estudos de Padilha (2014), encontrou para vinhos comercias para ácido gálico 1,70 mg L<sup>-1</sup> (Petit Verdot), 1,77 mg L<sup>-1</sup> (Ruby Cabernet) e 1,13 mg L<sup>-1</sup> (Tempranillo).

Buiarelli et al. (2010), analisando vinhos tintos adquiridos em supermercados encontraram teores de ácido p-cumárico iguais a 1,5 mg L<sup>-1</sup> para o vinho Barbera, próximo ao encontrado no presente estudo 2,03 mg kg<sup>-1</sup>.

Os principais compostos nao-flavonoides presentes nas uvas e nos vinhos são os ácidos fenólicos, série benzóico e cinâmico. Esses compostos exercem um papel primordial nas características sensoriais do vinho (SOMERS et al., 1987; VRHOVSEK, 1998), sendo responsáveis pela adstringência e amargor dos vinhos jovens, além de alguns aromas típicos encontrados em vinhos envelhecidos em barricas de carvalho (MONAGAS et al., 2005).

O resíduo apresentou maior concentração para ácido vanílico e siríngico com 8,14 mg kg<sup>-1</sup> e 3,38 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Lima et. al (2014), avaliou sucos de uvas da região do Vale do Submédio do São Francisco e encontrou para ácido gálico valores que variaram entre 1,81 e 13,6 mg L<sup>-1</sup> e para o ácido clorogênico foi encontrado valores como 4,1 mg L<sup>-1</sup> (Isabel Precoce) e 2,1 mg L<sup>-1</sup> (BRS Magna), valores inferiores ao desse estudo que apresentou 19,77 mg kg<sup>-1</sup> e 5,74 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, para esses compostos. O ácido fenólico em maior concentração dentre os quantificados foi o ácido o-cumárico que apresentou na amostra de uva *in natura* 11,53 mg kg<sup>-1</sup>. Em amostras de resíduo de Syrah estudada por Melo (2015) foi encontrado 0,43 mg g<sup>-1</sup> para ácido gálico e 0,04 mg g<sup>-1</sup> para ácido siríngico.

## 5.5 Estilbenos

Os valores encontrados para *trans*-resveratrol apresentou maior concentração em uva *in natura* com 0,91 mg kg<sup>-1</sup>, o valor encontrado para amostra de vinho está dentro da faixa encontrado por Lima et al. (2014), para suco de uvas obtidas a partir das

variedades BRS Violeta com 1,10 mg de L<sup>-1</sup> e 0,40 mg L<sup>-1</sup> para BRS Cora e BRS Magna. Os valores encontrados pelo presente estudo e por Lima et al. (2014) estão coerentes com os encontrados por Lucena et al. (2010), quando estudou-se vinhos da mesma região, onde as concentrações variaram de 0,21 a 1,26 mg L<sup>-1</sup>.

Porgalı & Buyuktuncel (2012) encontraram concentrações que variaram de 0,31 a 0,97 mg.L<sup>-1</sup> em vinhos da Turquia. Li et al (2011), ao realizarem uma comparação dos compostos fenólicos em vinhos Cabernet Sauvignon de cinco regiões vitícolas na China, obtiveram concentrações de *trans*-resveratrol variando de 0,40 a 3,62 mg.L<sup>-1</sup>. De maneira geral, o conteúdo de *trans*-resveratrol dos vinhos do Vale do Submédio do São Francisco, está de acordo com os teores apresentados na literatura para diversas regiões mundiais.

Ali et al. (2010), afirmam que a prática enológica e a exposição aos raios ultravioleta influencia fortemente na composição da uva. A quantidade de compostos fenólicos, especialmente o *trans*-resveratrol em uvas, vinhos, sucos e seus subprodutos dependem de fatores ambientais como clima e a exposição a luz solar.

# 5.6 Flavanois

Silva et al. (2012) afirma que os flavanóis e as procianidinas são compostos muito importantes em vinhos, pois estão ligados a estabilização da cor, escurecimento oxidativo, perda de aroma, adstringência e amargura.

A amostra de uva *in natura* apresentou altas concentrações de Procianidina A2 (2,35 mg kg<sup>-1</sup>), Procianidina B2 (25,20 mg kg<sup>-1</sup>), (-)-Galato epicatequina (18,81 mg kg<sup>-1</sup>) e (-)-Galato epigalatocatequina (19,60 mg kg<sup>-1</sup>). Quando comparado ao vinho a amostra de resíduo apresentou maiores concentrações para Procianidina B1, 22,16 mg kg<sup>-1</sup>, Procianidina B2 22,82 mg kg<sup>-1</sup>, Catequina 21,32 mg kg<sup>-1</sup>, Epicatequina 17,87 mg kg<sup>-1</sup> e (-)-Galato epigalatocatequina 7,05 mg kg<sup>-1</sup> . Melo et al. (2015) estudaram o resíduo de Syrah da mesma região do presente estudo e encontraram valores inferiores 0,84; 0,77; 3,43; 3,11 e 0,44 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente.

Entre as proantocianidinas oligoméricas, os dímeros B1 e B2 estão presentes em concentrações mais elevadas nas uvas e, consequentemente, em vinhos (MONAGAS et al., 2003). As procianidinas são os flavanóides mais comuns em vinhos tintos, exercendo uma gama de efeitos benéficos, incluindo à atividade antioxidante, efeitos radioprotetores (CASTILLO et al., 2000), a prevenção de cataratas (YAMAKOSHI et al., 2002), os efeitos antihiperglicemicos (PINENT et al., 2004), e os efeitos antiinflamatorios (TERRA

et al., 2007) bem como a eficacia anti-cancro (VELURI et al., 2006) também tem sido relatados para estes compostos.

O vinho estudado apresentou concentração de catequina (11,64 mg kg<sup>-1</sup>) maior que o de epicatequina (5,46 mg kg<sup>-1</sup>) como já foi observado em outros estudos (PEREZMAGARINO; GONZALEZ-SAN JOSE, 2004; PORGALI; BUYUKTUNCE, 2012; LEEUW et al., 2014). A amostra de vinho apresentou concentração de (-)-Epicatequina (5,46 mg kg<sup>-1</sup>) superior a encontrada por Lima et al. (2014), para sucos das variedades Isabel precoce (1,0 mg L<sup>-1</sup>), BRS Cora (1,4 mg L<sup>-1</sup>), BRS Violeta (0,6 mg L<sup>-1</sup> <sup>1</sup>) e BRS Magna (1,3 mg L<sup>-1</sup>). No mesmo estudo foi encontrado também para os sucos das mesma variedades concentrações de (-)-Galato epicatequina que variaram de 1,3 a 1,9 mg L<sup>-1</sup>, também inferior a concentração encontrada para a amostra de vinho (10,75 mg kg<sup>-1</sup>) do presente estudo. Para (-)-Galato epigalatocatequina a amostra de vinho está dentro da faixa encontrada para as amostras de sucos BRS Magna (4,2 mg L<sup>-1</sup> e BRS Cora (4,7 mg L<sup>-1</sup>), foi encontrado concentração de 4,5 mg kg<sup>-1</sup>. Estudos realizados por Padilha (2014), encontraram para vinhos os valores de (+)-Categuina 2.93 mg L<sup>-1</sup> (Petit Verdot), para (-)-Epicatequina valores entre 0,10 mg L<sup>-1</sup> (Tempranillo) e 5,13 mg L<sup>-1</sup> (Touriga Nacional), (-)-Galato epicatequina, valores entre 0,5 mg L<sup>-1</sup> (Barbera) a 4,87 mg L<sup>-1</sup> (Touriga Nacional), Procianidina A2, 0,63 mg L<sup>-1</sup> (Petit Verdot) e 0,80 mg L<sup>-1</sup> (Ruby Cabernet), Procianidina B1, 1,87 mg L<sup>-1</sup> (Syrah) e 7,43 mg L<sup>-1</sup> (Petit Verdot), valores inferiores ao encontrados nesse estudo.

A quantificação de fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu apresentou 6123,56 mg kg<sup>-1</sup> para amostra de uva *in natura*, maior concentração, não diferindo significativamente da amostra de resíduo (5450,56 mg kg<sup>-1</sup>) e diferindo significativamente da amostra de vinho (4290,00 mg kg<sup>-1</sup>). Lima et al. (2014), encontrou utilizando o mesmo método de quantificação, para sucos de uvas valores entre 779,0 mg L<sup>-1</sup> (Isabel Precoce) e 2712 mg L<sup>-1</sup> (BRS Violeta) e Padilha (2014) para vinhos valores entre 1992 mg L<sup>-1</sup> (Syrah) e 2459 mg L<sup>-1</sup> (Barbera), valores inferiores aos encontrados nesse estudo. Melo (2010), utilizando o mesmo método analisou o teor de compostos fenólicos totais em extratos de resíduos agroindustriais e encontrou 16,57 mg g<sup>-1</sup> (Bagaço de Isabel), 20,55 mg g<sup>-1</sup> (Borra tinta), 21,45 mg g<sup>-1</sup> (Bagaço de Cabernet Sauvignon) e 33,14 mg g<sup>-1</sup> (Bagaço de Petit Verdot). É importante destacar que do total de flavanóis quantificados na amostra de uva *in natura* 88% permaneceram na amostra de resíduo.

#### 5.7 Estudos in vivo

## 5.7.1 Avaliação do consumo de ração, água e evolução ponderal

O consumo médio de ração (g/dia) dos ratos durante os trinta dias de tratamento está expresso na Figura 15, os valores encontrados para o grupo controle, vinho e resíduo foram:  $147.8 \pm 7.65$ ;  $135.5 \pm 13.57$ ;  $145.1 \pm 8.52$  (g/dia) respectivamente. Observou-se diferenças de consumo entre os grupos: vinho e controle e resíduo e vinho.

No entanto, não foi observada diferença significativa no consumo de ração (g/dia) das ratas no decorrer do tratamento. Os valores encontrados para o consumo de ração das ratas (g/dia) no grupo controle, vinho e resíduo foram:  $119,6 \pm 9,97$ ;  $111,8 \pm 11,09$ ;  $109,9 \pm 12,92$  (g/dia) respectivamente.

Santos (2015) realizou testes *in vivo* em ratos da raça Wistar, onde os mesmo recebiam dietas de três vinhos tintos comerciais de uma mesma variedade, porém de fabricantes diferentes do Vale do Submédio do São Francisco, foram encontrados os seguintes resultados,  $221,7 \pm 9,5$ ;  $228,6 \pm 9,4$ ; e  $234,4 \pm 7,1$  (g dia<sup>-1</sup>), os mesmo não variaram significativamente quando comparados ao grupo controle ( $217,2 \pm 3,3$ ).

Estudos de Brinco (2007) diz que a diferença no consumo de ração entre o grupo teste (estressado) e o grupo controle (sem estresse) só foi significativa a partir do 20° dia de experimento, no grupo teste, foi observado uma menor ingestão de ração que o grupo controle.

Notou-se no presente estudo que o grupo teste vinho apresentou valor estatisticamente significante inferior ao grupo controle. Vechiatto & Paitner (2007), observou que o grupo que foi administrado com vinho tinto consumiu menor quantidade de ração, quando comparado ao grupo controle.

A Figura 12 expressa os resultados encontrados para a ingestão hídrica média dos grupos de ratos e ratas respectivamente, durante os trinta dias de experimento. Foi observada diferença significativa entre os grupos. Os valores encontrados para o consumo de água dos ratos (mL/dia) no grupo de controle, vinho e resíduo foram:  $279.9 \pm 32.92$ ;  $246.7 \pm 22.65$ ;  $260.7 \pm 39.51$  (mL/dia) respectivamente. E, os valores de ingestão de água das ratas no grupo de controle, vinho e resíduo foram:  $231.6 \pm 30.83$ ;  $202.4 \pm 14.86$ ;  $217.1 \pm 25.60$  (mL/dia) respectivamente. Os animais tratados com vinho ingeriram uma quantidade de água significativamente inferior ao grupo controle (p<0.5).

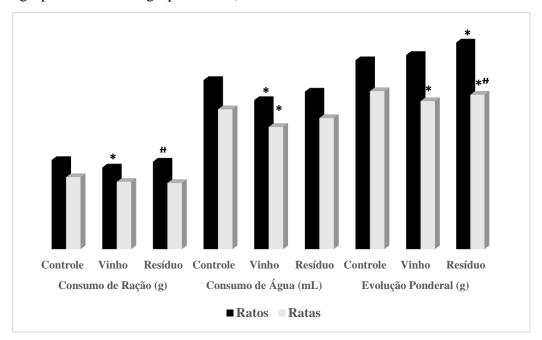
É provável que esta quantidade de água menor ingerida pelo grupo vinho em relação ao grupo controle esteja relacionado com a atividade física menor neste grupo, já

que todos os outros parâmetros (acesso a água, ração, temperatura etc) eram iguais para todos os grupos.

Segundo estudos de Brinco (2007), o consumo de água por rato adulto pesando em torno de 300 g, corresponde a 10 mL de água para cada 100 g de peso corpóreo. Porém deve-se levar em consideração a temperatura e umidade do ambiente.

O consumo de água de ratos da raça Wistar tratados com vinhos e ração modificada com a finalidade de redução do peso corpóreo, gordura peritoneal, ingestão alimentar e colesterol foi igual a 157,57 mL para o grupo controle, 122,10 mL para o grupo ração modificada e 124,26 mL e 124,46 para o grupo vinho (VECHIATTO & PAITNER, 2007). Assim, os valores encontrados em relação ao consumo de água diária neste estudo estão coerentes com a literatura.

**Figura 12 -** Consumo de ração entre os grupos de ratos e ratas (g/dia) (n=7), ingestão diária de água entre os grupos de ratos e ratas (mL/dia) (n=7) e evolução ponderal g/4 semanas entre os grupos de ratos e ratas (n=7) (\*p<0,05 em relação ao grupo controle; \*p<0,05 grupo vinho *versus* grupo resíduo).



A evolução ponderal dos grupos de ratos e ratas respectivamente, durante trinta dias, expressa na Figura 12. Os valores encontrados para os grupos dos ratos controle, vinho e resíduo, como média ± desvio padrão foram: 312,6 ± 21,86; 321,3 ± 19,52; 341,8 ± 21,63 (evolução ponderal em g/4 semanas) respectivamente, observando diferença significativa apenas do grupo resíduo quando comparado ao grupo controle.

Para os grupos das ratas os valores dos pesos deparados foram:  $261,6 \pm 5,02$ ;  $245,1 \pm 5,01$ ;  $255,6 \pm 4,34$  (evolução ponderal em g/4 semanas) para os grupos controle, vinho

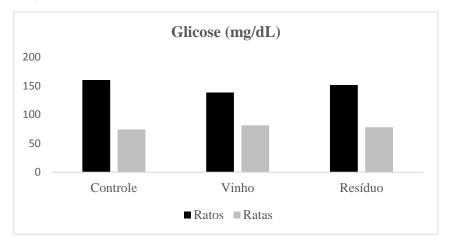
e resíduo, respectivamente. Houve diferença significativa de ambos os grupos teste em relação ao grupo controle e do grupo resíduo em relação ao grupo vinho.

Estudos realizados por Barreto (2013), onde ratos e ratas foram avaliados fisiologicamente e morfologicamente, os animais apresentaram um tendência ao aumento de peso, principalmente o grupo dos machos. Jotz et al. (2006) simularam o consumo de mate, da vida adulta até a velhice, oferecendo extrato aquoso de erva mate dos três aos oito meses de vida dos animais, tendo um tempo de tratamento de cinco meses, os resultados foram diferentes, observando diminuição significativa de peso no grupo tratado em relação ao grupo controle. Além disso, os grupos receberam concentrações, quantidades e origens diferentes do extrato. Isso leva a refletir como a variação das quantidades dos compostos encontrados na erva mate podem influenciar o peso corporal. Quando comparado ao presente estudo, uma justificativa relevante de não ter ocorrido uma diminuição no peso dos grupos tratados com os extratos ricos em polifenóis seria a duração do tratamento por um período muito inferior ao utilizado por Jotz et al. (2006).

# 5.7.2 Análise da concentração plasmática de glicose

Os valores encontrados referentes à concentração plasmática de glicose dos animais após os trinta dias de tratamento, estão expressos na Figura 13. Os valores encontrados referentes para os grupos de ratos controle, vinho e resíduo foram:  $160,30 \pm 33,69$ ;  $138,40 \pm 23,32$ ;  $151,70 \pm 29,32$  (mg/dL) respectivamente. Para os grupos de ratas, foram:  $74,19 \pm 21,17$ ;  $81,56 \pm 15,28$ ;  $78,20 \pm 12,57$  (mg/dL) para os grupos controle, vinho e resíduo, respectivamente, não houve diferença significativa dos grupos testes quando comparados ao grupo controle.

**Figura 13 -** Dosagem de glicose em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (\*p<0,05 em relação ao grupo controle).



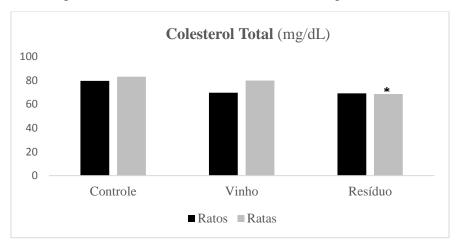
Estudos realizados por Santos (2015) também não apresentaram diferença significativa em relação a esse parâmetro em ratos tratados com vinho tinto da região do Vale do Submédio do São Francisco. A média de glicose plasmática encontrada por Barreto (2013) em ratos e ratas foram: 143,00 ± 53,75; 162,00 ± 22,00 (mg/dL) respectivamente. Estes valores estão superiores aos encontrados na literatura, porém inferiores aos relatados para animais diabéticos, (250 a 350 mg/dL).

Santos et al. (2010), relataram que no parâmetro glicêmico de ratos adultos jovens da linhagem Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe-UFS a média obtida foi de  $85,0 \pm 22,5$  (mg/dL). Dantas et al., (2006), obteve média de  $108 \pm 17,4$  (mg/dL) avaliando os parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá.

Zanoello et al. (2002) relatam que os valores normais de glicemia em ratos alternam entre 47,7 a 107 mg/dL. Estudos relatam que *trans*-resveratrol pode estimular a absorção de glicose independente da ação da insulina, assim melhorando o transporte de glicose. Quando usado por um longo período de tempo pode reduzir quadros de hiperglicemia, no entanto, essa reação não afetou os animais com nível glicêmico normal (SZKUDELSKA & SZKUDELSKI, 2010; NAYLOR, 2009). Considerando isso, sugerese que o tempo de tratamento realizado no presente estudo possa não ter sido o suficiente para mostrar uma melhora nos níveis glicêmicos dos animais testados.

## 5.7.3 Análise da concentração plasmática de colesterol total

Os valores obtidos para a concentração plasmática de colesterol total dos grupos de ratas em relação ao grupo controle estão expressos na Figura 14. Os valores encontrados para os grupos de ratos controle, vinho e resíduo foram: 79,68 ± 15,03; 69,67 ± 25,83; 69,22 ± 12,15 (mg/dL), respectivamente e para os grupos de ratas controle, vinho e resíduo, respectivamente foram: 83,17 ± 9,68; 79,99 ± 12,10; 68,66 ± 4,92 (mg/dL). No grupo dos ratos não houve diferença estatística significante dos grupos testes comparado ao grupo controle. O grupo de ratas tratados com resíduo durante os 30 dias, notou-se uma diferença significativa na redução da concentração plasmática do colesterol total em relação ao grupo controle.



**Figura 14 -** Dosagem de colesterol total em ratos e ratas (mg/dL) (n=7).

Cataneo et al. (2008), relatam ao estudar a atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho, os resultados obtidos indicaram que o resíduo da produção de vinho é um produto com capacidade antioxidante significativa e estão correlacionados ao conteúdo de compostos fenólicos totais.

Os resultados encontrados em relação ao colesterol total para os grupos das ratas está de acordo com as considerações de Yugarani et al. (1992), quando estudou ratos hiperlipidêmicos induzidos por dieta, quando tratados com flavonoides obtiveram redução significativa neste parâmetro.

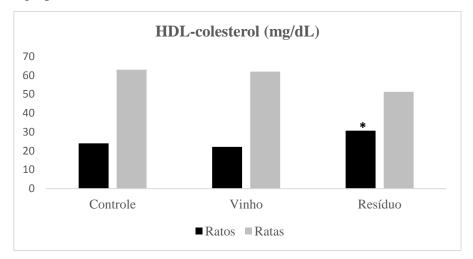
Estudando o efeito redutor de colesterol dos flavonóides do extrato de semente e de casca de uva (*Vitis vinifera*) em ratos Wistar submetidos a uma dieta hipercalórica (ração acrescida de 10% de óleo vegetal) no período de 20 semanas, a partir da 4ª semana de vida, Medeiros et al. (2013), observaram uma média de redução dos níveis de colesterol total de 14% para os animais que receberam uma dieta a base do extrato da casca da uva e de 17,65% para os animais que receberam a dieta a base do extrato com a semente da uva quando comparado ao grupo controle.

### 5.7.4 Análise da concentração plasmática da fração HDL-colesterol

A Figura 15, ilustra os valores encontrados na concentração plasmática da fração de HDL-colesterol do grupos teste de ratos e ratas, respectivamente em relação ao grupo controle. Os valores encontrados nos grupos de ratos controle, vinho e resíduo foram:  $23.95 \pm 2.93$ ;  $22.16 \pm 4.98$ ;  $30.68 \pm 4.07$  (mg/dL), respectivamente. E, os valores deparados nos grupos de ratas controle, vinho e resíduo foram:  $63.00 \pm 6.02$ ;  $62.04 \pm 10.24$ ;  $51.29 \pm 1.65$  (mg/dL) respectivamente. Não foi observada diferença significativa

em relação aos grupos testes de ratas quando comparados ao grupo controle no período de um mês. Entretanto, constatou-se diferença significativa no aumento deste parâmetro no grupo de ratos tratados com resíduo em relação a seu grupo controle.

**Figura 15** - Dosagem de HDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (\*p<0,05 em relação ao grupo controle)



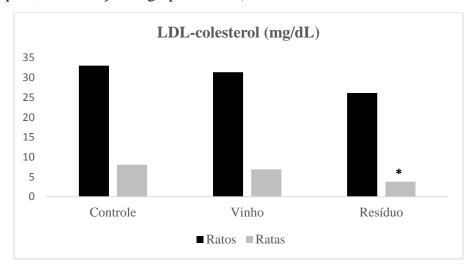
Melo et al. (2011), avaliaram o teor de compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante e a composição fenólica de resíduos gerados por agroindústrias brasileiras: resíduo de uva Isabel, resíduo de uva Verdejo e resíduo de goiaba. Os resultados mostraram que os resíduos agroindustriais analisados, principalmente os vinícolas, se mostraram ricos em compostos bioativos, dentre os quais compostos fenólicos. Ao analisar os resultados deste parâmetro observa-se que o resíduo proporcionou alterações significativas nos níveis de concentração de HDL-colesterol, estando de acordo com o que é relatado na literatura que os flavonoides provoca um aumento na concentração de HDL-colesterol, contribuindo desta forma na redução dos níveis de colesterol (OLIVEIRA et al., 2002). O aumento da capacidade antioxidante do plasma, aumento dos níveis de HDL colesterol, diminuição da peroxidação lipídica e, dos níveis do LDL-colesterol, são alguns efeitos da ingestão de polifenóis (JANIQUES et al., 2013). Assim, é possivel que o resíduo por ser rico em polifenóis, proporcionou um aumento dos níveis de HDL-colesterol do grupo que recebeu sua ingestão durante os 30 dias de tratamento.

# 5.7.5 Análise da concentração plasmática da fração LDL-colesterol

Os resultados encontrados de concentração plasmática da fração de LDL-colesterol neste estudo estão expressos na Figura 16. Foram quantificados para o grupo de ratos controle, vinho e resíduo foram:  $33,01 \pm 15,65$ ;  $31,36 \pm 22,95$ ;  $26,13 \pm 11,30$  (mg/dL), respectivamente. Não houve diferenças estatísticas significantes dos grupos

testes quando comparados ao grupo controle. Já para os grupos de ratas controle, vinho e resíduo os valores encontrados foram:  $8,06 \pm 3,37$ ;  $6,90 \pm 3,32$ ;  $3,80 \pm 1,25$  (mg/dL) respectivamente, como ilustra a Figura 16. Constatou-se diferença estatística significante na redução da fração LDL-colesterol apenas no grupo teste resíduo quando comparado ao grupo controle.

**Figura 16** - Parâmetros referentes a dosagem de LDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7) (\*p<0,05 em relação ao grupo controle).



Estudos relatam que os fenólicos encontrados em uvas e vinhos tintos podem inibir a oxidação in vitro da lipoproteína humana de baixa-densidade (LDL), assim como é possível seu uso na prevenção de aterosclerose (FRANKEL et al., 1995).

Santos (2015), ao realizar ensaios *in vivo* com ratos da raça Wistar, os mesmo recebiam dietas de vinhos tintos comerciais da mesma variedade, porém de fabricantes diferentes da região do Vale do Submédio do São Francisco, não encontrou diferença significativa para este parâmetro.

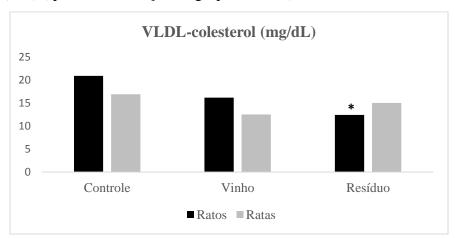
Estudos relataram que ao realizar experimento *in vivo*, com a participação de 20 voluntários (8 homens e 12 mulheres) com idade média de 29 anos, os quais consumiram vinho tinto (300 mL), suco de uva (300 mL) em 30 a 45 minutos; amostras de sangue foram coletadas antes e depois da ingestão destas bebidas. A atividade antioxidante foi significativa na inibição da oxidação do LDL colesterol (lipoproteínas de baixa densidade) com vinho tinto, mas não com suco de uva. Os autores concluem que o efeito antioxidante do vinho tinto e do suco de uva *in vitro* foi associado à abundância de flavonoides destas bebidas. Sendo assim, os resultados encontrados nesta pesquisa estão de acordo com a literatura, evidenciando que o consumo dos compostos fenólicos

presente nas uvas tintas induz uma proteção contra os radicais livres, o que por sua vez resulta em benefícios para o organismo, como a inibição da peroxidação do LDL (MIYAGI et al. 1997).

## 5.7.6 Análise da concentração plasmática da fração VLDL-colesterol

A concentração plasmática da fração de VLDL-colesterol dos grupos teste de ratos e ratas, respectivamente, em relação ao grupo controle estão expressos na Figura 17. Os resultados encontrados neste estudo para o grupo de ratos controle, vinho e resíduo foram:  $20.91 \pm 3.30$ ;  $16.16 \pm 5.96$ ;  $12.40 \pm 3.13$  (mg/dL), respectivamente. Houve diferenças estatísticas significantes na redução da fração VLDL-colesterol do grupo tratado com resíduo quando comparados ao grupo controle. Já para os grupos de ratas controle, vinho e resíduo os valores encontrados foram:  $16.91 \pm 7.61$ ;  $12.51 \pm 5.78$ ;  $15.01 \pm 7.37$  (mg/dL), respectivamente. Não foi constatado diferença estatística significante dos grupos testes em relação ao grupo controle.

**Figura 17 -** Parâmetros referentes a dosagem de VLDL-colesterol em ratos e ratas (mg/dL) (n=7) (\*p<0,05 em relação ao grupo controle).

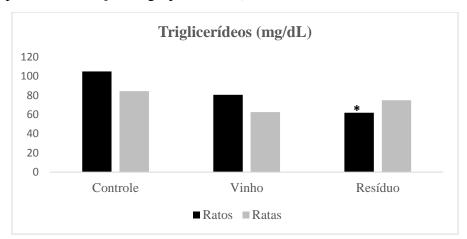


Estudos comprovaram que as proantocianidinas podem exercer uma ação semelhante à da insulina, regulando o metabolismo lipídico e que a ingestão destes polifenóis por ratos, proporciona uma redução na secreção de VLDL e LDL (BLADÉ et al., 2010). Correlacionando essas informações com os dados encontrados neste estudo, já que um dos grupos teste de ratos tratado com o resíduo obteve redução significativa no parâmetro VLDL analisado.

## 5.7.7 Análise da concentração plasmática de triglicerídeos

Os valores encontrados para este parâmetro dos grupos testes de ratos em relação ao grupo controle, estão expressos na Figura 18. Para os grupos dos ratos controle, vinho e resíduo foram:  $105,10 \pm 15,43$ ;  $80,73 \pm 29,79$ ;  $61,94 \pm 15,69$  (mg/dL) respectivamente. Houve diferença estatística significante no grupo que recebeu como tratamento o resíduo, quando comparado ao grupo controle. Os valores encontrados para os grupos de ratas controle, vinho e resíduo foram:  $84,51 \pm 37,99$ ;  $62,58 \pm 28,92$ ;  $74,97 \pm 36,84$  (mg/dL) respectivamente. Neste parâmetro não houve diferença estatística significante dos grupos teste em relação ao grupo controle. Esses resultados podem ser justificados pela presença de polifenóis na uva e nos seus subprodutos (vinho e resíduo), como foi observado neste estudo, sendo possível apresentarem benefícios quanto a redução dos triglicerídeos

**Figuara 18 -** Parâmetros referentes a dosagem de triglicerídeos em ratos e ratas (mg/dL) (n=7). (\*p<0,05 em relação ao grupo controle).



Segundo estudos onde utilizaram-se extrato da casca da uva *Vitis vinifera* observou uma redução dos níveis de triglicerídeos dos ratos hipertensos tratados durante 90 dias com o extrato da casca da uva, quando comparado com os valores do grupo controle, observou-se que polifenóis presentes nas uvas (fruto e casca) apresentaram um benefício na redução dos triglicerídeos (COSTA, 2008). É possível que os resultados encontrados neste estudo tenha correlação aos encontrados na pesquisa exemplificada, onde os polifenóis presentes nas uvas reduziram a concentração de triglicerídeos.

## 6 CONCLUSÕES

- A uva in natura destacou-se com relação a atividade antioxidante, conteúdo de compostos fenólicos totais, antocianinas, flavanóis, flavonóis e do estilbeno transresveratrol. No entanto, o resíduo apresentou maiores quantidades desses compostos e atividade antioxidante do que o vinho, que apenas destacou-se no conteúdo total de ácidos fenólicos, sobretudo nos ácidos cafeico e gálico.
- 50% dos fenólicos totais presentes na amostra de uva *in natura* ainda permaneceram presentes na amostra de resíduos;
- Relacionando as amostras de resíduo e vinho, os resultados dos estudos in vivo relataram que os ratos tratados com resíduo consumiram uma quantidade maior de ração, apresentaram maior evolução ponderal, o mesmo também proporcionou diminuição na concentração plasmática de triglicerídeos e VLDL-colesterol, como também aumentou a concentração plasmática de HDL-colesterol;
- Nas ratas o resíduo proporcionou maior evolução ponderal quando comparado ao vinho, diminuiu a concentração plasmática de colesterol total e LDL-colesterol;
- Não houve diferença estatística significante na concentração plasmática de glicose dos animais de ambos os sexos tratados com vinho e resíduo;
- Sugere-se um possível benefício cardiovascular relacionado com a ingestão dos
  polifenóis presentes no resíduo, porém, mais estudos são necessários para a
  comprovação de seus benefícios, tanto em animais, quanto em humanos.
- Desta forma, ressalta-se o potencial que os resíduos da indústria vinícola da região do Vale do Submédio do São Francisco possuem para serem explorados como fonte natural de compostos fenólicos com atividade antioxidante, podendo ser utilizados como ingrediente de alto valor agregado pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V. da; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400. 2007. Acesso em: 10 de abril de 2016.
- ALI, K., MALTESE, F., CHOI, Y., & VERPOTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, 357–378. 2010.
- ANDERSEN, O. M.; MARKHAM, K. R. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, (Chapter 10). 2006.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., & SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203. 2006.
- BALESTRO, E. A.; SANDRI, I. G.; FONTANA, R. C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, p. 203-209. 2011.
- BARCIA, M. T. Estudo dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante de subprodutos do processo de vinificação. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas-SP. 2014.
- BARRETO, V. N. S. Avaliação de parâmetros fisiológicos e morfológicos de animais experimentais utilizados pela Universidade Federal do Vale do São Francisco. 2013, 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina. 2013.
- BARROSO, D. D.; ARAUJO, G. G. L.; HOLANDA JUNIOR, E. V.; GONZAGA NETO, S.; MEDINA, F. T. Desempenho bioeconômico de ovinos terminados em confinamento alimentados com subproduto desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, p. 192-198. 2007.
- BATISTA, P. F. Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades de videiras do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido. 2014. 161 p. Tese Doutorado em Agronomia: Fitotecnia Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN.
- BIASOTO, A. C. T. **Vinhos tintos de mesa produzidos no Estado de São Paulo:** caracterização do processo de fabricação, de parâmetros físico-quimicos, do perfil sensorial e de aceitação. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP. 2008.
- BINDON, K.; VARELA, C.; KENNEDY, J.; HOLT, H.; HERDERICH, M. Relationships between harvest time and wine composition in Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1696-1705. 2013.

- BLADÉ, C.; AROLA, L.; SALVADÓ, M. J. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 54. p. 37-59. 2010.
- BLOUIN, J.; GUIMBERTEAU, G. Principales componentes de la uva y evolución durante la maduración. In: J. Blouin; G. Guimberteau (Ed.). **Maduración y madurez de la uva**. (p.57-100). Madri: Mundi-Prensa. 2002.
- BRALLEY, E. E.; HARGROVE, L. J.; GREENSPAN, P.; HARTLE, K. D. Topical antiinflammatory activities of Vitis rotundifolia (muscadine grape) extracts in the tetradecanoylphorbol acetate model of ear inflammation. **Journal of Medicinal Food**, v.10, p.636–642. 2007.
- BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER, M. E; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Leb Wis Tec., v. 28, p. 25-30. 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento MAPA. Instrução Normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005. Dispõe sobre Manual Operacional de Bebidas e Vinagres. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/legislacao">http://www.agricultura.gov.br/legislacao</a> >Acesso em: 21 nov.2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento MAPA. Portaria nº 259 de 31 de maio de 2010. Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e derivados da uva e do vinho. Disponível em: <a href="http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta">http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta</a>>Acesso em: 21 nov.2013.
- BRINCO, A. V. **Análise do perfil lipídico em animais submetidos a um modelo de estresse ambiental**. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo. 2007.
- BUIARELLI, F.; COCCIOLI, F.; MEROLLE, M.; JASIONOWSKA, R.; TERRACCIANO, A. Identification of hydroxycinnamic acid–tartaric acid esters in wine by HPLC–tandem mass spectrometry. Food Chemistry, Volume 123, p.827-833. 2010.
- BURIN, V. M.; FALCÃO, L. D.; GONZAGA, L. V. FETT, R.; ROSIER, J. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Ciência e Tecnologia deAlimentos**, 30(4): 1027-1032, out.-dez. 2010.
- CABRAS, P.; ANGIONI, A.; GARAU, V. L.; MINELLI, E. V.; MELIS, M.; PIRISI, F. M. Pesticides in the distilled spirits of wine and its byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 2248–2251. 1997.
- CADOT, Y.; CHEVALIER, M.; BARBEAU, G. Evolution of the localization and composition of phenolics in grape skin between veraison and maturity in relation to water availability and some climatic conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 1963–1976. 2011.
- CAMARGO, A. C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; BIASOTO, A. C. T. Low Molecular Weight Phenolics of Grape Juice and Winemaking Byproducts: Antioxidant Activities and Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoprotein Cholesterol

- and DNA Strand Breakage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 12159-12171. 2014.
- CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Cultivares. In: NACHTIGAL, J. C.; SCHNEIDER, E. P de. **Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2007, 68 p.
- CAMARGO, U. A; MAIA, J. D. G. Cultivares de uvas rústicas para regiões tropicais e subtropicais. In: BOLIANI, A. C.; FRACARO, A. A.; CORRÊA, L. de S. **Uvas rústicas:** cultivo e processamento em regiões tropicais. Jales: Universitária Gráfica e Editora; 2008. 368 p.
- CAMPOS, L. M. A. S. Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvingnon (*Vitis vinifera*): Parâmetros de processo e modelagem matemática. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina SC. 2005.
- CASTILLO, J.; BENAVENTE-GARCIA, O.; LORENTE, J.; ALCARAZ, M. J.; REDONDO, A.; ORTUNO, A. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from grape seeds (Vitis vinifera): Comparative study versus other phenolic and organic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(5), p.1738–1745, 2000.
- CASTILLO-MUÑOZ, N.; GOMEZ-ALONSO, S.; GARCIA-ROMERO, E.; GOMES, M. A.; VELDERS, A. H.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonol 3-0- Glycosides Series of Vitis vinifera Cv. Petit Verdot Red Wine Grapes. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 57, p. 209-219. 2009.
- CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, p. 93-102. 2008.
- CBHSF, Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco. Disponível em: www.saofrancisco.cbh.gov.br. Acesso em: 19 de abril de 2016.
- CHRISTAKI, T; TZIA, C. Quality and safety assurance in winemaking. **Food Control**, Guildford, v.13, p.503 -517, 2002.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: **fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- COHEN, S. D.; TARARA, J. M.; GAMBETTA, G. A.; MATTHEWS, M. A.; KENNEDY, J. A. Impact of diurnal temperature variation on grape berry development, proanthocyanidin accumulation, and the expression of flavonoid pathway genes. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 2655–2665. 2012.
- COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.7, p.66-74. 1996.
- COOMBE, B.G. **The development of flesh fruits**. Annual Review of Plant Physiology, v. 27, p. 507-528. 1976.

- CORTÉS, S.; RODRÍGUEZ, R.; SALGADO, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M. Comparative study between Italian and Spanish grape marc spirits in terms of major volatile compounds. **Food Control**, v. 22, p. 673-680. 2011.
- COSTA, G. F. Efeito do extrato da casca de uva Vitis Vinifera (GSE) na pressão arterial, no perfil lipídico e glicídico e no estresse oxidativo em ratos espontaneamente hipertensos. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Fisiopatologia Clínica e Experimental), Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.
- CRIPPEN, J.R.; MORRISON, J.C. The effects of sun exposure on the phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. Amer. Journal of Enol and Vitic, v.37, n. 4, p.243-247, 1986.
- DANTAS, J. A.; AMBIEL C. R.; CUMAN, R. K. N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C. A. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta sci., Health sci**, v. 28, n. 2, 2006.
- DAS, D. K. Resveratrol and red wine, healthy heart and longevity. Heart Fail Reviews, 15, p. 467-477, 2010.
- DE MOURA, R. S. et al. MADEIRA S. V. F.; REZENDE A. C.; Mechanism of endothelium-dependent vasodilatation and the antihypertensive effect of Brazilian red wine. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 44, n. 3, p. 302-309. 2004.
- DELMAS, D.; JANNIN, B.; LA TRUFF, N. Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and againg. **Nutritional Food Research**, v. 49, p. 377-395. 2005.
- DENNY, C.; LAZARINI J.G.; FRANCHIN, M.; MELO, P.S.; PEREIRA, G. E.; DIAZ, M. J.; MADEJÓN, E.; LÓPEZ, F.; LÓPEZ, R.; CABRERA, F. Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1143–1150. 2002.
- DENNY, C., LAZARINI, J. G., FRANCHIN, M., MELO, P. S., PEREIRA, G. E., MASSARIOLI, A. P. Bioprospection of Petit Verdot grape pomace as a source of antiinflammatory compounds. **Journal of Functional Foods**, 8, 292–300. http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.016. 2014.
- DIEBOLT, M.; BUCHER, B.; ADRIANTSIOHAINA, R. Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation, and induce gene expression. **Hypertension**, v. 38, p. 159-165. 2001.
- DIMITRIOS, B. Soucers of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, p. 505-5012. 2006.
- DOMENEGHINI, D. C. S. J.; LEMES, S. A. F. Efeitos dos componentes do vinho na função cardiovascular. **Nutrire**, São Paulo, v. 36, p. 163-176. 2011.
- FALCÃO, L. D. Caracterização analítica e sensorial de vinhos cabernet sauvignon de diferentes altitudes de Santa Catarina. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2007.

- FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Produção de uvas no mundo. Disponível em: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 19. abril. 2016.
- FARIAS, T. F. Viticultura e enologia no semiárido brasileiro (Submédio do Vale do Submédio do São Francisco). Reletório final de curso (Engenharia Agronômica), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2011.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; ALMELA, L.; MUÑOZ, J. A.; HIDALGO, V.; CARREÑO, J. Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. **Food Research International**, Great Britain, v. 31, p. 667-672. 1999.
- FERREIRA, J. C. T. D. O vinho e a medicina. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, Sorocaba, v.6, p.49-52. 2004.
- FLANZY, C. Enología: **Fundamentos Científicos y Tecnológicos.** (2° Ed.). Madrid: A. Madrid Vicente. 2003.
- FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE. A.L.; TEISSEDRE, P.L. Principle phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoprotein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 43, p. 890–894. 1995.
- GALLICE. C. W. Caracterização do potencial antioxidante de vinhos e quantificação de fenóis totais e transresveratrol utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas multivariadas. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.
- GARCIA, J.; NICODEMUS, N.; CARABANO, R.; DE BLASS, J. C. Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 162-170. 2012.
- GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols. A chemical perspective. **Food Research International,** v. 44, p. 3134-3148. 2011.
- GIEHL, M. R.; BOSCO, S. M. D.; LAFLOR, C.M.; WEBER, B. Eficácia dos flavonoides da uva, vinho tinto e suco de uva tinto na prevenção e no tratamento secundário da aterosclerose. **Scientia Médica,** Porto Alegre, v. 17, n. 3, p. 145-155. 2007.
- GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa.** 2. ed. Porto Alegre: Renascença, 2005. 368 p.
- GIRARDELLO, R.C. Evolução dos compostos fenólicos durante a maceração do mosto de uvas Malbec e Syrah submetidas a diferentes processos. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. 2012.
- GRANATO, D. Associação entre atividade antioxidante in vitro e características químicas, sensoriais, cromáticas e comerciais de vinhos tintos Sul-Americanos. 140f.

- Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos- Área de Nutrição Experimental) Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, São Paulo-SP. 2011.
- GRIS, E. F.; MATTIVI, F., FERREIRA, E. A.; VRHOVSEK, U.; PEDROSA, R. C.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. **Food Chemistry**, v. 126, p.213–220, 2011.
- GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF / APPCC, legislação e mercado**. 1° ed. São Paulo, p. 423-451. 2005.
- 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, C.C.; ZANUS, M.C. Uvas 1998 1998 Vitis viníferas para processamento em regiões de clima temperado. Embrapa Uva e Vinho, Sistema de Produção 4. ISSN 1678-8761 versão eletrônica. 2003.
- GUERRA C. C.; Bebidas fermentadas Vinho tinto In: VENTURINI FILHO, W. G.(Coord.) **Bebidas.** Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia. Edgard Blucher LTDA, 2010. Vol. 1, chap.11,p. 209-233.
- GUERRA, C. C.; PEREIRA, G. E.; LIMA, M. V.; LIRA, M. M. P. Vinhos tropicais: novo paradigma enológico e mercadológico. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, p. 100-104, 2007.
- HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL; LIMA, U. A. (Coord.) **Biotecnologia industrial**. Biotecnologia na produção de alimentos. vol. 4, p. 21-68. 2001.
- HASHIZUME, T. Fundamentos de tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.de A.; Blücher, 1983. p. 14-43.
- HRAZDINA, G.; PARSONS, G. F.; MATTICK, L. R. Physiological and Biochemical Events During Development and Maturation of Grape Berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 35, p. 220-227. 1984.
- IANSSEN, C.; MARASCHIN, R. dos P.; ABREU, M. F. de; ARSEGO, J. L.; VENDRUSCOLO, L. F.; DIAS, P. F.; PEDROTTI, E. L.; MARASCHIN, M. Análise do conteúdo de *trans*-resveratrol, fenóis totais e antocianinas em vinhos tintos e sucos de uva produzidos em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental; SBF, 2002. 1 CD-ROM.
- IGLESIAS, J.; PAZOS, M.; TORRES, J. L.; MEDINA, I. Antioxidant mechanism of grape procyanidins in muscle tissues: Redox interactions with endogenous ascorbic acid and a-tocopherol. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1767–1774, 2012.
- IVANOVA-PETROPULOS, V.; RICCI, A.; NEDELKOVSKI, D.; DIMOVSKA, V.; PARPINELLO, G. P.; VERSARI, A. Targeted analysis of bioactive phenolic compounds

- and antioxidant activity of Macedonian red wines. **Food Chemistry**, v. 171, p. 412–420. 2015.
- JACKSON, R. S. **Wine science:** Principles, practice and perception. (3rd ed.). San Diego, CA, USA: Elsevier. 2008.
- JANIQUES, A. G. P. R.; LEAL, V. O.; MOREIRA, N. X.; SILVA, A. A. M.; MAFRA, D. Compostos fenólicos e DRC. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr**. São Paulo, SP, v. 38, p. 322-337. 2013.
- JORDÃO, A. M.; SILVA, R.; LAUREANO, O. Influência da rega na composição fenólica das uvas tintas da casta Touriga Francesa (Vitis vinifera 1.). **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 2, p. 60-73. 1998.
- JOTZ, G. P.; MENEZES, H. S.; ZETTLER, C. G.; ALVES, R. J. Z.; CHACUR, R.; BUZZATTI, C.; OLIVEIRA, M. D.; MONTES, T. H. M.; HÜBNER, M.; ZETTLER, E. W. Estudo experimental da erva mate (*Ilex paraguariensis*) como agente etiológico de Neoplasia do trata aéreo-digestivo. **International archives of othorhinolaryngology**. São Paulo, v.10, p. 306-311. 2006.
- KALIORA, A. C.; DEDOUSSIS, G. V. Z.; SCHIMIDT, H. Dietary antioxidants in preveventing atherogenesis. **Atheroslerosis**, v. 187, p. 1-17. 2006.
- KATALINIC', V.; MOZ'INA, S. S.; SKROZA, D.; GENERALIC', I.; ABRAMOVIC', H.; MILOŠ, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, v. 119, p. 715–723. 2010.
- KAYS, E. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: V. N. Reinhold, 532p. 1991.
- KONDO T.; YOSHIDA, K.; NAKAGAWA, A.; KAWAI, T.; TAMURA, H.; GOTO, T. Strutural basic of blue-color decelopment in flower petals from Commelina communis. **Nature Chemistry**, v. 358, p. 515-518. 1992.
- KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933. 2003.
- KOYAMA, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; HASHIZUME, K. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). **Biosci Biotechnol Biochem**. v. 71, p. 58-65. 2007.
- LAFKA, T-I.; SINANOGLOU, V.; LAZOS, E.S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1206–1214. 2007.
- LAGO-VANZELA, E. S.; REBELLO, L. P. G.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Chromatic characteristics and color-related phenolic composition of Brazilian young red wines made from the hybrid grape cultivar BRS Violeta ("BRS Rúbea" × "IAC 1398-21"). **Food Research International**, v. 54, p. 33–43. 2013.

- LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. **Effect of drying temperature on the stabilitity of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels.** Journal oj Agriculture and Food Chemistry. v.45, p. 1390-1393.1997.
- LEANÇA, C. C.; PASSARELLI, M.; NAKANDAKARE, E. R.; QUINTÃO, E. C. R. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. **Rev. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 54, p.777-784. 2010.
- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the ph differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International** v.88, p. 1269-1278. 2005.
- LI. Z.;, PAN, Q.; JIN, Z.; MU, L.; DUAN, C. Comparison on phenolic compounds in Vitis vinifera Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China. Food Chemistry, v, 125, p.77-83, 2011.
- LIMA, M. A. C. de. Fisiologia, tecnologia e manejo pós-colheita. In: SOARES, J. M; LEÃO, P. C. de S (Eds.) **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2009, p. 597-656.
- LIMA, M. A. C. de; CHOUDHURY, M. M. Características dos cachos de uva. In: LIMA, M. A. C. de (Ed.). **Uva de mesa**: pós-colheita. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2007, p. 21-30.
- LIMA, M. A. C.; LEÃO, P. C. de S.; SILVA, A. L. da; AZEVEDO S. S. N.; SANTOS, P. de S. **Maturação de uvas para vinho no VSF**. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18. Resumos expandidos. Florianópolis: Epagri: SBF, 2004. 1 CD-ROM. 2004.
- LIMA, M. S. Influência da época de colheita sobre as características físico-químicas de uva Syrah, analíticas e sensoriais do vinho no Vale do Submédio do São Francisco. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro. 2010.
- LIMA, M. S.; SILANI, I. S. V.; TOALDO, I. M.; CORRÊA, L. C.; BIASOTO, A. C. T.; PEREIRA, G. E.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; NINOW, J. L. 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.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S; SILVA, G. S. B; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 53-57. 2004.
- LLOBERA, A.; CAÑELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera): pomace and stem. **Food Chemistry**, v. 101, p. 659–666. 2007.
- LUCENA, A. P. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; MACIEL, J. A. C.; TAVARES, J. X.; BARBOSA-FILHO, J. M.; OLIVEIRA, E. J. Antioxidant activity and phenolics content

- of selected Brazilian wines. **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 23, 30–36. 2010.
- MAKRIS, D.P.; BOSKOUB, G.; ANDRIKOPOULOSB, N.K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 125–132. 2007.
- MARAGKOUDAKIS, P.A.; NARDI, T.; BOVO, B.; D'ANDREA, M.; HOWELL, K.S.; GIACOMINI, A.; CORICH, V. Biodiversity, dynamics and ecology of bacterial community during grape marc storage for the production of grappa. **International Journal of Food Microbiology**, v. 162, p. 143-151. 2013.
- MARASCHIN, R. P. Caracterização química de vinhos Cabernet sauvignon produzidos na serra gaúcha. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. 2003.
- MARTÍNEZ-LÜSCHER, J.; TORRES, N.; HILBERT, G.; RICHARD, T.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; DELROT, S. Ultraviolet-B radiation modifies the quantitative and qualitative profile of flavonoids and amino acids in grape berries. **Phytochemistry**, v. 102, p. 106–114. 2014.
- MASSARIOLI, A. P.; MORENO, I.A.M.; PASCHOAL, J. A. R.; ALENCAR, S. M.; ROSALENA, P. L. Bioprospection of Petit Verdot grape pomace as a source of anti-inflammatory compounds. **Journal of Functional Foods**, v.8, p. 292-300. 2014
- MEDEIROS, H. L. B.; VILAR, M. S. A.; DE OLIVEIRA, T. K. B. Análise comparativa do efeito redutor de colesterol do extrato de semente e casca de uva em ratos wistar. 5º encontro de produção acadêmico científica. Campina Grande. 2013.
- MELLO L. M. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2014. **Comunicado Técnico Nº** 175, 2015. Disponível em: <a href="http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1025934">http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1025934</a> Acessado em 14 de abril de 2016.
- MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2010. **Comunicado Técnico Nº 111**, 2011. Disponível em: < <a href="http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/909852">http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/909852</a> Acesso em: 15 abril de 2016.
- MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012. **Comunicado Técnico Nº 115**, 2013. Disponível em: < <a href="http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2013">http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2013</a>
- MELLO, L. M. R. Vitivinicultura mundial: principais países e posição do Brasil. **Comunicado Técnico Nº 121**, 2012. Disponível em: <a href="http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/ano.html#a2013">http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/ano.html#a2013</a>. Acesso em: 12 de abril de 2016.
- MELLO, L. M. R. Atuação do Brasil no Mercado Vitivincícola Mundial. Panorama 2012. **Comunicado Técnico Nº138**, 2013. Disponível em: < <a href="http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/961582">http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/961582</a> Acesso em: 10 de Abril de 2016.

- MELO, P. S. Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. 2010.
- MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, p.1088-1093. 2011.
- MELO, P. S.; MASSARIOLI, A. P.; DENNY, C.; SANTOS, L. F.; FRANCHIN, M.; PEREIRA, G. E.; VIEIRA, T. M. F. S.; ROSALEN, P. L.; ALENCAR, S. M. Winery byproducts: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. **Food Chemistry**, v. 181, p. 160-169. 2015.
- MENEZES, D. R.; ARAÚJO, G. G. L.; SOCORRO, E. P.; OLIVEIRA, R. L.; BAGALDO, A. R.; SILVA, T. M.; PEREIRA, L. G. R. Níveis de ureia em dietas contendo co-produto de vitivinícolas e palma forrageira para ovinos Santa Inês. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 662-667, 2009.
- MILLER, N.J.; DIPLOCK, A.T.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M.J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Sciense**, v.84, p.407-412. 1993.
- MIYAGI, Y.; MIWA, K.; INOUE, H. Inhibition Of Human Lowdensity Lipoprotein Oxidation By Flavonoids In Red Wine And Grape Juice. **American Journal Cardiology**, v. 80, p.1627-31. 1997.
- MONAGAS, M.; GOMEZ-CORDOVES, C.; BARTOLOME, B.; LAUREANO, O.; RICARDO DA SILVA, J. M. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from Vitis vinifera L. cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, p. 6475–6481, 2003.
- MORAES, V.; LOCATELLI, C. Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. **Evidência-Ciência e Biotecnologia-Interdisciplinar**, Joaçaba, v. 10, n. 1-2, p. 57-68, 2010.
- NASCIMENTO, R. J. B. Desenvolvimento de método de quantificação de resveratrol (cis e trans) e quercetina, determinação de fenólicos totais e ação anti-radicalar em vinhos tintos nacionais e importados. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB. 2010.
- NASSIRI-ASL, M.; HOSSEINZADEH, H. Review of the pharmacological effects of Vitis vinifera (Grape) and its bioactive compounds. **Phytotherapy Research**, v. 23, p.1197-1204. 2009.
- NATIVIDADE, M. M. P.; PEREIRA, G. E.; CORREIA, L. C.; SOUZA, S. V. C.; LIMA, L. C. O.; Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for

- HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. Microchemical Journal, v. 110, p. 665-674, 2013.
- NAYLOR, A. J. D. Cellular effects of resveratrol in skeletal muscle. **Life Sciences**, United States, v. 84, p. 637-640. 2009.
- O.I.V. Recueil des methodes internacionales d'analyse des vins et dês moûts. Office Internacional de la vigne et du vin, Paris. 1990.
- OLIVEIRA, A. C. de; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Revista Química Nova**, v. 32, p. 689-702. 2009.
- OLIVEIRA, T. T.; GOMES, S. M.; NAGEM, T. J.; COSTA, N. M. B.; SECOM, P. R. Efeito de diferentes doses de flavonoides em ratos hiperlipidêmicos. **Rev. De Nutrição**, Campinas, 15(1):45-51. 2002.
- PADILHA, C. V. S. **Perfil químico, sensorial e aceitação de vinhos tropicais do vale do submédio do são Francisco**. Dissertação (Mestrado em em Horticultura Irrigada), Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro. 2015.
- PARADELO, R.; MOLDES, A.B.; BARRAL, M.T. Utilization of a Factorial Design To Study the Composting of Hydrolyzed Grape Marc and Vinification Lees. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 3085-3092. 2010.
- 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, G.E. Os vinhos tropicais em desenvolvimento no Nordeste do Brasil. **Com Ciência** SBPC. Revista Eletrônica de Jornalismo Científico. 2013. Disponível em: < <a href="http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/979795">http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/979795</a> Acesso em 14 de abril de 2016.
- PEREZ-MAGARINO S.; GONZALEZ-SAN JOSE M.L. Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. J. Agric. Food Chem., 52, p. 1181-1189, 2004.
- PORGALI, E.; BUYUKTUNCEL, E. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red winesby high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. Food Research International, 45, p. 145–154, 2012.
- POTTER, G. H. Efeito da desfolha e do armazenamento de cachos em câmara fria antes do esmagamento em uvas e vinhos Chardonnay e Cabernet Sauvignon da região da campanha, RS. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria-RS. 2009.
- REIS, T. A.; GOULART P. F. P.; OLIVEIRA, R. M. E.; OLIVEIRA, L.; ABREU P. S.; AZEVEDO A. O. Parâmetros metabólicos de ratos wistar submetidos à dieta suplementada com estévia e açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1477-1488. 2011.

- RIBEIRO, M. E. M.; MANFROI, V. Vinho e Saúde: uma visão química. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, ano 2, n. 2, p. 91-103. 2010.
- RIBEIRO, T. P. Caracterização de subprodutos do processamento de uvas produzidas no Vale do Submédio do São Francisco. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN. 2015.
- RIBEIRO, T. P. Maturação, qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de uvas americanas e dos sucos elaborados no Submédio do Vale do Submédio do São Francisco. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) Universidade Federal Rural de Semi-Árido, Mossoró-RN. 2011.
- RIBÉREAU-GAYON, J., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., & DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology: The chemistry of wine stabilization and treatments**. (2th ed.). John Wiley & Sons, Ltda. 2006.
- RIZZON, L. A.; DALL' AGNOL I. Etapas do processo de produção. In:\_\_\_\_. **Agricultura familiar**: Vinho Tinto. DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007, chap. 3, p. 17-34.
- ROCKENBACH, I. I. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (Vitis vinifera L. e Vitis labrusca L.). Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis SC. 2008.
- ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (Vitis vinifera) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244. 2008.
- ROTAVA, R. Subprodutos da uva para utilização em dietas de frango de corte. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. 2007.
- RUBERTO, G.; RENDA, A.; DAQUINO, C.; AMICO, V.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C.; DE-TOMMASI, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, v. 100, p. 203-210. 2007.
- RUFINO, M. DO S.M., R.E. ALVES, E.S. DE BRITO, J. PÉREZ-JIMÉNEZ, F.D. SAURA-CALIXTO; J. MANCINI-FILHO. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002. 2010.
- SAIKO, P.; SZAKMARY, A.; JAEGER, W.; SZEKERES, T. Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? **Mutat Res.**, v. 658, p. 68-94. 2008.
- SANT'ANNA, V.; BRANDELLI, A.; MARCZAK, L.D.F.; TESSARO, I.C. Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts. **Separation and Purification Technology**, v. 100, p. 82–87.2012.

- SANTOS, A. M. T. Avaliação bioquímica e físico-química de vinhos tintos produzidos no Vale do Submédio do São Francisco. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia), Universidade Federal do Vale do São Francisco Petrolina. 2015.
- SANTOS, M. R. V.; SOUZA, V. H.; MENEZES, I. A. C.; BITENCURT, J. L.; REZENDE-NETO, J. M.; BARRETO, A. S.; CUNHA, F.A.; MARÇAL, R.M.; TEXEIRA-SILVA, F.; QUÍNTANS-JÚNIOR, L. J.; BARBOSA, A. P. O. Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (Rattus novergicus linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **SCIENTIA PLENA**, Sergipe, v.6, n.10. 2010.
- SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria-RS. 2003.
- SCOLA, G.; KAPPEL, V.D.; MOREIRA, J.C.F.; DAL-PIZZOL, F.; SALVADOR, M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of winery wastes seeds of *Vitis labrusca*. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1233-1238.
- SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. Z.; FERREIRA, E. I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, vol. 43, P. 153-166. 2007.
- SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. **Revista Millenium**, v. 28, p. 123-133. 2003.
- SILVA, M. J. R. Porta-enxertos na Produção e nas Características Físico-Químicas da Uva e do Vinho de Diferentes Cultivares em Jundiaí, SP 2015. 109f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Horticultura), Faculdade em Ciências Agronômicas, Botucatu-SP, 2015.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p.144–158. 1965.
- SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. de S. **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2009, 756 p.
- SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 059-064. 2008.
- SOARES-FILHO P. B.; CASTRO, I.; STAHLSCHMIDT, A. Effect of red wine associated with physical exercise in the cardiovascular system of spontaneously hypertensive rats. **Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, São Paulo, v. 96, n. 4, p. 277-283. 2010.

- SOBRINHO, M. R. Caracterização físico-química do vinho paulista. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas-SP. 2013.
- SOMERS, T. C.; VERETTE, E.; POCOCK, K. F. Hydroxycinnamate esters of Vitis vinifera: changes during white vinification and effects of exogenous enzymic hydrolysis. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 40, p. 67-78, 1987.
- SOUBEYRAND, E.; BASTEAU, C.; HILBERT, G.; VAN LEEUWEN, C.; DELROT, S.; GOMÈS, E. Nitrogen supply affects anthocyanin biosynthetic and regulatory genes in grapevine cv, Cabernet–Sauvignon berries. **Phytochemistry**, v. 103, p. 38–49. 2014.
- STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 3268-3295. 2007.
- SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, obesity and diabetes. **European Journal of Pharmacology**, Washington, v. 635, p. 1-8. 2010.
- TERRA, X.; VALLS, J.; VITRAC, X.; MERRILLON, J. M.; AROLA, L., ARDEVOL, A. Grapeseed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(11), p. 4357–4365, 2007.
- TORRES, J. L.; VARELA, B., GARCIA; M. T.; CARILLA, J.; MATITO, C.; CENTELLES, J. J.; CASCANTE, M.; SORT, X.; BOBE, R. Valorization of Grape (Vitis vinifera) Byproducts. Antioxidant and Biological Properties of Polyphenolic Fractions Differing in Procyanidin Composition and Flavonol Content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 7548–7555. 2002.
- TOSTO, M.; ARAÚJO, G. G. L. de; OLIVEIRA, R. L.; JAEGER, S. M. P. L.; MENEZES, D. R.; DANTAS, F. R. Utilização de ureia no resíduo desidratado de vitivinícola associado à palma forrageira na alimentação de caprinos: consumo e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science**, v. 37, p. 1890-1896. 2008.
- UVIBRA. União Brasileira de Vitivinicultura. Disponível em: < <a href="http://www.uvibra.com.br">http://www.uvibra.com.br</a> Acesso em: Dezembro de 2012.
- VECHIATTO, C. D.; PAITNER, J. R. T. Efeito dos FLAVONOIDEs presentes no vinho tinto na redução do peso corpóreo, gordura peritoneal, ingestão alimentar e colesterol em ratos da raça wistar. *Anais*... II congresso internacional de saúde, UEM Paraná, 2007.
- VEDANA, M. I. S.; Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alim. Nutr.** Araraquara, v.19, p. 159-165. 2008.
- VELURI, R.; SINGH, R.; LIU, Z.; THOMPSON, J.; AGARWAL, R.; AGARWAL, C. Fractionation of grape seed extract and identification of gallic acid as one of the major active constitution causing growth inhibition and apoptotic death of 134 DU145 human prostate carcinoma cells. Carcinogenesis, 27(7), p. 1445–1453, 2006.

- WANG, S. Y. Maximizing Antioxidants in Fruits. **Acta Horticulturae**, v. 877, p. 81-93. 2010.
- WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals.** Washington: UNSW Press. 262p. 1998.
- WINE INSTITUTE. **Statistics. Per capita Wine Consumption by Country and World Wine Production by Country**. Disponível em: < <a href="http://www.wineinstitute.org/resources/statistics">http://www.wineinstitute.org/resources/statistics</a> Acesso em 15 de outubro de 2013.
- WINKLER, A.J.; COOK, J.A.; KLIEWER, W.M; LIDER, L.A. **General viticulture**.2.ed. Berkeley: University of California Press, 710 p. 1974.
- YADAV, M.; JAIN, S.; BHARDWAJ, A.; NAGPAL, R.; PUNIYA, M.; TOMAR, R.; SINGH, V.; PARKASH, O.; PRASAD, G. B.; MAROTTA, F.; YADAV, H. Biological and medicinal properties of grapes and their bioactive constituents: An update. **Journal of Medicinal Food**, v. 12. 473–484. 2009.
- YAMAKOSHI, J.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; TOKUTAKE, S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(17), p. 4983–4988, 2002.
- YI, C.; SHI, J.; KRAMER, J.; XUE, S.; JIANG, Y.; ZHANG M.; MA, Y.; POHORLY, J. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaling pomace powder. **Food Chemistry**, Barking, v. 114, p. 570-576. 2009.
- YUGARANI, T.; TAN, B.K.H.; TEH, M., DAS, N. P. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. **Lipids, Champaign**, v.27, p.265-290. 1992.
- ZANOELLO, A. M; MELAZZO-MAZZANTI C.; KERPEL G. J.; FILAPPI A.; PRESTES D.; CECIM M. Efeito protetor do Syzygium cumini contra Diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. **Rev. Acta Farmacêutica Bonaerense, Buenos Aires, v.** 21, p. 31-36, 2002.
- ZOECKLEIN, W. C.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B. H, NURY, F.S. Análisis y producción de vino. Tradução de E. L. Macarrón. Zaragoza: Acribia, S. A., 2001. 613p.