OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DE CASCA E SEMENTE DE UVA BORDEAUX E BAGAÇO CERVEJEIRO.

Carolina Turnes Pasini Deolindo (PIBIC), Janio Sousa Santos (Co-orientador), Daniel Granato (Orientador), e-mail: granatod@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Engenharia de Alimentos.

Ciência e Tecnologia de Alimentos (5.07.00.00-6).

Palavras-chave: antioxidantes, fenólicos, desenvolvimento de produtos

Resumo

As uvas são consideradas fontes de compostos fenólicos, entretanto sub-produtos como casca e semente são desperdiçados sem aproveitamento. O estudo avaliou a composição fenólica e atividade antioxidante *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de casca e semente de uva Bordeaux. Sete proporções entre casca e semente de uva foram estudadas seguindo um planejamento experimental. Após a extração, os extratos foram caracterizados em relação ao seu conteúdo fenólico total, flavonoides totais, flavonóis totais, *orto*-difenóis, antocianinas, taninos condensados, e capacidade antioxidante de captura do DPPH, capacidade de redução de íon férrico (FRAP), capacidade redutora total e capacidade redutora do reagente de Folin-Ciocalteu. A amostra composta por 100% de semente apresentou o maior ($p<0,05$) conteúdo de fenólicos, flavonoides, flavonóis, *orto*-difenóis, taninos condensados, atividade antioxidante frente ao DPPH, FRAP, capacidade redutora total e capacidade redutora do Folin-Ciocalteu. O estudo evidenciou que tal extrato hidroalcóolico é potencial fonte de compostos bioativos com atividade antioxidante para desenvolvimento de alimentos potencialmente funcionais.

Introdução

Os compostos fenólicos são substâncias comumente encontradas no reino vegetal e são essenciais ao crescimento e reprodução das plantas. Estudos com compostos fenólicos e flavonoides demonstram sua capacidade antioxidante, antiviral, antiinflamatória, entre outras. Uma das maiores fontes de compostos fenólicos, em comparação a outros vegetais, são as uvas, e tais compostos podem ser classificados em flavonóides e não-flavonóides (Abe et al., 2007). O bagaço de brasagem é o principal subproduto da indústria cervejeira, encontrado em grande quantidade durante todo o ano, devido ao volume de produção da indústria cervejeira. Este produto apresenta flavonoides, antocianinas e β carotenos (Almeida et al., 2014), tais resíduos são pouco aproveitados como subproduto, normalmente sendo descartados ou encaminhados para alimentação animal (Karnopp et al., 2015). O presente estudo avaliou a composição fenólica e atividade antioxidante *in vitro* de diferentes extratos hidroalcoólicos de casca e semente de uva Bordeaux e bagaço cervejeiro, e combinações entre os mesmos.

Materiais e Métodos

Os resíduos foram triturados em moinho analítico em tamanho de 60 Tyler mesh, a semente foi moída em 45 Tyler mesh. Para determinar o teor de álcool etílico a ser utilizado na extração, a atividade antioxidante pela captura do radical DPPH foi determinada em seis soluções com teor alcoólico variando em 20%. A extração ocorreu em banho ultrassônico por 1 h a 25 ºC. Após, o melhor sistema de

extração (relação água:álcool etílico) foi identificado através de análise de variâncias seguido do teste de Tukey ($p<0,05$). Tanto casca quanto a semente de uva foram extraídos por 1 h a 25ºC em banho ultrassônico e o teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método do Azul da Prússia (Margraf et al., 2015), o teor de flavonoides totais foi quantificado pelo método colorimétrico proposto por Jia, Mengchenge Jianming (1999) e modificado por Herald, Gadgile Tilley (2012), o conteúdo de flavonóis em extratos vegetais foi estimado pela metodologia descrita por Yermakov et al. (1987), o teor de taninos condensados foi determinado segundo Horszwald, e Wilfried (2011), o teor de *orto*-difenólicos foi determinado segundo Durán et al. (1991) e o conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi determinado pelo método do pH diferencial. A atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP) foi determinada segundo Benzie e Strain (1996), a atividade antioxidante pela captura do radical DPPH, descrita por Brand-Williams et al. (1995), a determinação da capacidade redutora total foi baseada no método de Folin-Ciocalteu modificado por Berker et al. (2013), a capacidade redutora do Folin-Ciocalteu foi determinada por Singleton e Rossi (1965).

Resultados e Discussão

Os valores da atividade antioxidante para determinar a solução extratora padrão estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de atividade antioxidante pela captura do radical DPPH frente às soluções etanólicas para cada composto analisado.

Etanol (%)	Semente de uva (mg AAE/100 g)	Casca de uva (mg AAE/100 g)	Bagaço cevada (mg AAE/100 g)
0	1614 ± 31^{e}	364 ± 13^{c}	0 ± 0^{d}
20	2498 ± 9^{c}	914 ± 16^{b}	0 ± 0^{d}
40	2239 ± 21^{d}	867 ± 32^{b}	22 ± 1^{b}
60	3637 ± 4^{a}	1033 ± 10^{a}	17 ± 1^{c}
80	3241 ± 2^{b}	865 ± 29^{b}	35 ± 3^{a}
100	2702 ± 24^{c}	358 ± 31^{c}	0 ± 0^{d}

Tendo em vista a maior atividade antioxidante na semente de uva e na casca de uva em solução etanólica 60%, a mesma foi utilizada como solução extratora padrão. Devido à baixa atividade antioxidante evidenciada na solução de bagaço cervejeiro, este foi excluído do planejamento experimental, não sendo utilizado nas demais análises. A amostra composta por 100% de semente apresentou o maior ($p<0,05$) conteúdo de compostos fenólicos exceto em relação ao conteúdo de antocianinas monoméricas, onde foi maior na amostra composta por 100% de casca de uva, resultado esperado visto que, é característica dessa parte do vegetal, a presença de antocianinas (Malacrida e Motta, 2005). Em relação à atividade antioxidante, a mesma amostra apresentou os maiores valores ($p<0,05$) em relação aos outros extratos testados frente ao radical DPPH, em relação ao FRAP, capacidade redutora total e capacidade redutora do Folin-Ciocalteu. O teor de antocianinas monoméricas, apresentou correlação negativa ($r=-0,949$, $r=-0,998$, $r=-0,990$, $r=-0,982$) em relação aos ensaios antioxidantes DPPH, FRAP, CRT e

capacidade redutora do Folin-Ciocalteu, respectivamente, evidenciando o efeito positivo dos compostos provenientes da semente, como os taninos.

Os valores médios para os compostos fenólicos e atividade antioxidante, estão dispostos na Tabela 2 e Tabela 3, respectivamente. Foram constatadas diferenças significativas para todas as variáveis de resposta por meio do teste de ANOVA unifatorial ($p<0,001$).

Tabela 2: Compostos fenólicos para diferentes proporções de Casca e Semente de Uva.

Casca/ Semente (%)	Compostos Fenólicos totais (mg AGE/100 g)	Flavonoides totais (mg CE/100 g)	Antocianinas monoméricas totais (mg/100 g)	*orto*-Difenóis (mg CAE/100 g)	Flavonóis totais (mg QE/100 g)	Taninos condensados (mg CE/100 g)
100/0	1546 ± 53^{e}	1504 ± 99^{g}	1054 ± 10^{a}	609 ± 10^{f}	122 ± 4^{d}	4656 ± 201^{c}
0/100	3886 ± 124^{a}	6736 ± 276^{a}	60 ± 14^{g}	1260 ± 9^{a}	215 ± 13^{a}	10635 ± 753^{a}
33/67	3410 ± 169^{b}	5353 ± 321^{c}	375 ± 8^{e}	962 ± 1^{c}	199 ± 6^{b}	8489 ± 491^{b}
67/33	2403 ± 151^{d}	3437 ± 75^{e}	665 ± 12^{c}	766 ± 1^{e}	143 ± 5^{c}	8479 ± 438^{b}
75/25	2263 ± 61^{d}	2886 ± 37^{f}	754 ± 28^{b}	751 ± 9^{e}	142 ± 7^{c}	7521 ± 368^{b}
25/75	3594 ± 179^{b}	6209 ± 71^{b}	311 ± 5^{f}	1124 ± 1^{b}	185 ± 8^{b}	10385 ± 720^{a}
50/50	2691 ± 58^{c}	4471 ± 177^{d}	511 ± 7^{d}	918 ± 0^{d}	183 ± 14^{b}	10552 ± 774^{a}
p - ANOVA	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Tabela 3: Atividade antioxidante para diferentes proporções de Casca e Semente de Uva.

Casca/Semente (%)	DPPH (mg AAE/100 g)	FRAP (mg AAE/100 g)	CRT (mg QE/100 g)	Capacidade Redutora do Folin-Ciocalteu (mg AGE/100 g)
100/0	3177 ± 15^{g}	2627 ± 36^{g}	1664 ± 98^{e}	2048 ± 43^{f}
0/100	12872 ± 64^{a}	7733 ± 58^{a}	6774 ± 218^{a}	4726 ± 245^{a}
33/67	10190 ± 61^{b}	6014 ± 75^{c}	5511 ± 90^{b}	3720 ± 135^{c}
67/33	4334 ± 96^{f}	4619 ± 64^{e}	3206 ± 120^{d}	3305 ± 118^{d}
75/25	5373 ± 88^{e}	4028 ± 92^{f}	3206 ± 155^{d}	3035 ± 43^{e}
25/75	8695 ± 112^{c}	6652 ± 275^{b}	5477 ± 418^{b}	4091 ± 238^{b}
50/50	7226 ± 52^{d}	5327 ± 105^{d}	4724 ± 55^{c}	3841 ± 41^{bc}
p - ANOVA	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Conclusões

Segundo análise estatística o extrato hidroalcóolico (60% etanol) contendo 100% semente de uva Bordeaux apresenta elevada atividade antioxidante devido sua composição fenólica e poderá ser utilizado para aplicação tecnológica em produto lácteo devido ter sido superior estatisticamente frente aos outros testados.

Agradecimentos

Agradecimento especial a CAPES pela bolsa de pós-graduação (J. S. Santos), ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao C-LABMU pela infraestrutura, ao CNPq/PIBIC pela bolsa de IC.

Referências

ABE, L. T., DA MOTA R. V., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v. 27(2), p. 394-400, 2007.

ALMEIDA, A. R. Compostos bioativos do bagaço de malte: fenólicos, capacidade antioxidante in vitro e atividade antibacteriana. **Dissertação mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2014.

BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BERKER, K. I., OLGUN, F. A. O., OZYURT, D., DEMIRATA, B., APAK, R. Modified Folin−Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61, 4783-4791, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of free-radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology** ,28, 25-30, 1995.

DURÁN, R. M., PADILLA, R. B., MARTÍN, A. M., URSINOS, J. A. F., MENDOZA, J. A. Biodegradación de los compuestos fenólicos presentes en el alpechín. **Grasas y Aceites**, 42(4), 271-276, 1991.

HORSZWALD, A., WILFRIED, A. Characterization of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. **Journal of Berry Research**, v. 1, p. 189–199, 2011.

JIA, Z., MENGCHENG, T., JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 64, 555–559, 1999.

KARNOPP, A. R., FIGUEROA, A. M., LOS, P. R., TELES, J. C., SIMÕES, D. R. S., BARANA, A. C., KUBIAKI, F. T., OLIVEIRA, J. G. B., GRANATO, D. Effects of whole-wheat flour and bordeaux grape pomace (*Vitis labrusca* L.) on the sensory, physicochemical and functional properties of cookies**. Food Science and Technology**, v. 35(4) p. 750-756, 2015.

MALACRIDA, C. R., MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** 25(4): 659-664, out-dez, 2005.

MARGRAF, T., KARNOPP, A. R., ROSSO, N. D., GRANATO, D. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian blue assays to estimate the total phenolic contentof juices and teas using 96-well microplates. **Journal of Food Science**, 80(11), C2397–C2403, 2015.

SINGLETON, V. L., ROSSI Jr, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture,** v. 16, p.144–158, 1965.

VEIGA, P. G., VIOTTO, W. H. Fabricação de queijo *petit suisse* por ultrafiltração de leite coagulado. Efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** 21(3): 267-272, 2001.

YERMAKOV, A. I., ARASIMOV, V. V., YAROSH, N. P. Methods of biochemical analysis of plants. **Leningrad: Agropromizdat (in Russian**), 1987.