

COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE FARINHA DO SUPRODUTO DE UVA

**Débora Lourenço Lemos de Mello¹, Laines Cassiano Sumera², Eduarda Flores Lima²,
Beatriz Bolanho Cervejeira Barros²**

¹ Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, Brasil
(deboralourencolemos@gmail.com)

² Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, Brasil

RESUMO: O bagaço de uva é o principal resíduo das indústrias de sucos e vinhos, e seus produtos derivados, como as farinhas, podem ser uma rica fonte de compostos antioxidantes. Este estudo teve como objetivo realizar a caracterização da farinha do subproduto de uva (FSU) quanto ao teor de compostos bioativos e potencial antioxidante. A FSU apresentou compostos fenólicos totais (619,57 mg/100g) e flavonoides totais (67,97 mg/100g). Estes compostos foram associados com os resultados de atividade antioxidante obtidos, mostrando a atuação dos mesmos no sequestro de radicais livres como DPPH e ABTS, e a redução do ferro (método FRAP). Portanto, a farinha do subproduto da uva pode ser uma opção para sua utilização pelas indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas, como aditivos ou suplementos, para melhorar o potencial antioxidante e o teor de bioativos de seus produtos.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos; Fenólicos; Flavonoides; Indústrias.

1 INTRODUÇÃO

A indústria alimentar aposta na criação de produtos inovadores que atendam à crescente procura, o que estimula a grande procura por novos ingredientes. Os pesquisadores têm focado em fomentar a produção ecologicamente correta, a qual se beneficia da reutilização de resíduos, também conhecidos como subprodutos, provenientes do agronegócio (Marianne et al., 2024).

As uvas são consideradas uma das frutas mais valorizadas do mundo, sendo 75% da produção destinada ao processamento de vinho (Alencar et al., 2022). Os resíduos da vinificação e da indústria do suco de uva têm atraído a atenção, pois esses subprodutos contêm inúmeros compostos com propriedades funcionais. Além disso, os consumidores tornaram-se mais interessados em práticas industriais sustentáveis (Monteiro et al., 2021).

As indústrias processadoras geram cerca de sete milhões de toneladas de bagaço de uva anualmente em todo o mundo (Garrido et al., 2022). A vitivinicultura Brasileira ocupa uma área de 75 mil hectares, com uma produção de 1,5 milhão de toneladas

(EMBRAPA, 2021). Assim, a quantidade de resíduos (subprodutos) gerada diariamente durante todas as fases de produção nas indústrias alimentares causam preocupações, devido a possibilidade de se tornarem graves problemas ambientais (Difonzo et al., 2023).

O subproduto de uva consiste principalmente de cascas (peles), sementes e caules e representa cerca de 15 a 30% do peso das uvas esmagadas para a produção de vinho (Kandyliis et al., 2021). Mais de 70% dos polifenóis da uva permanecem no bagaço após o processo de vinificação, o que traz uma grande oportunidade de recuperá-los para usos mais nobres, como corantes naturais, conservantes e/ou antioxidantes em produtos alimentícios (Beres et al., 2019).

Este subproduto também apresenta fibras alimentares e compostos antioxidantes. Os antioxidantes podem ajudar a preservar o sabor e a cor, evita a destruição de vitaminas nos alimentos e protege as células vivas do dano oxidativo, sendo uma alternativa para sua aplicação como ingrediente alimentício, o que pode promover o enriquecimento nutricional de produtos (Bender et al., 2016).

Com isso, o interesse no estudo de compostos polifenólicos tem aumentado devido às suas

propriedades antioxidantes e ao seu provável papel na prevenção de diversas doenças (crônicas). A capacidade dos antioxidantes de proteger as células dos danos dos radicais livres e de prevenir doenças, incluindo doenças cardiovasculares, cancerígenas e neurodegenerativas, tem sido associada às suas atividades anti-inflamatórias, anticarcinogênicas e antibacterianas. Devido a essas características, os polifenóis têm sido utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentícios (Abouelenein et al., 2023).

Sendo assim, a utilização do bagaço de uva não apenas permite que as indústrias reduzam seu impacto ambiental pela produção circular, mas também trazem um benefício econômico derivado do reaproveitamento, gerando produtos inovadores, com maior valor agregado (Garrido et al., 2022). Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o teor de compostos fenólicos totais, teor de flavonoides totais e atividade antioxidante de farinha do subproduto de uva.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A farinha de subproduto de uva (FSU) foi adquirida no comércio de Umuarama – PR – Brasil. A FSU, foi peneirada utilizando um conjunto de peneiras granulométricas, sendo a fração retida no mesh 100 (0,150 mm), utilizada no experimento.

Para as análises foram utilizados reagentes químicos Folin-Ciocalteu, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), Trolox (ácido 6-hidroxi- 2, 5, 7, 8 – tetrametilcroman-2-carboxílico), ABTS (2,2-azinobis [ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico]), TPTZ (2,4,6-tris[2-piridil]-1,3,5-triazina) e ácido gálico foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Carbonato de sódio, etanol, hidróxido de sódio, cloreto de sódio, ácido clorídrico e sulfato de zinco foram adquiridos da Anidrol.

2.2 Preparo do extrato

Para a preparação do extrato, misturou-se 1 g da FSU com 40 mL de etanol 80% em tubos de centrífuga. Após, foi realizada agitação orbital (Shaker, E-141, TECNAL) a 200 rpm e 25 °C por 2 h.

Em seguida, as amostras foram centrifugadas (MTD III PLUS, Metroterm) por 10 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi coletado e o procedimento foi repetido duas vezes. Os sobrenadantes foram misturados e armazenados sob congelamento até o

momento de realização das análises, conforme descrito a seguir.

2.3. Composição do extrato

Para a determinação de compostos fenólicos totais (CFT) foi adicionado 0,5 mL do extrato, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5% em um tubo de ensaio seguido de agitação. Foi realizada incubação da mistura por 5 min em banho termostaticado (SSD – 5 L, SolidSteel) a 50 °C. Após, foi realizada a leitura da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, 1900). Soluções de ácido gálico (25 a 500 mg/L) foram usadas para a curva analítica ($R^2 > 0,99$) e os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG).

O teor de flavonóides totais (FT) foram quantificados de acordo com Boateng et al. (2008) com algumas modificações. Para quantificação, 0,5 mL dos extratos foram diluídos em 2 mL de água deionizada. Incubou-se a diluição com 150 µL de NaNO_2 (50 g L^{-1}) em banho-maria a 50 °C por 5 minutos. Em seguida, adicionou-se 15 µL de AlCl_3 incubando-se a mistura por mais 5 minutos. Na sequência 1,5 mL de NaOH (1M) foi adicionado em conjunto com 1,5 mL de água deionizada. A solução foi agitada e lida a 415 nm em espectrofotômetro. O teor de FT foi calculado com base na curva padrão de quercetina e expresso em mg de equivalente de quercetina (EQ).

2.4. Determinação da atividade antioxidante

O método do poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) descrito por Benzie e Strain (1996) foi utilizado com adaptações. A solução do reagente FRAP foi obtida a partir da mistura de 25 mL da solução tampão acetato 0,3 mM pH 3,6; 2,5 mL de uma solução TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina) 10 mM em HCl 40 mM e 2,5 mL de cloreto férrico 20 mM. Em um tubo de ensaio foi adicionado 90 µL do extrato diluído, 0,27 mL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. Após a homogeneização, a amostra foi incubada a 37 °C por 30 min e a leitura realizada a 595 nm. A curva analítica da atividade antioxidante FRAP foi preparada com solução de Trolox com concentrações entre 0,20 a 0,75 mM ($R^2 = 0,99$). Assim, os resultados foram expressos em mmol equivalente de Trolox (ET).

A determinação antioxidante pelo método do radical livre ABTS foi realizada de acordo com Thaipong et al. (2006), com algumas adaptações. O radical ABTS foi preparado a partir da reação de 10 mL da solução estoque de ABTS 7 mM com 0,18 mL

da solução de persulfato de potássio 140 mM. A mistura foi armazenada em frasco âmbar em temperatura ambiente por 16 h. Após, foi feita uma solução etanólica de ABTS+ a partir da mistura de 1 mL da solução estoque com 100 mL de álcool etílico até se obter absorvância de $0,70 \pm 0,05$ nm a 734 nm. A partir desta, em um tubo de ensaio foi transferido 30 μ L do extrato diluído para 3 mL da solução ABTS. Após 6 min de reação, foi realizada a leitura a 734 nm utilizando álcool etílico como branco. A curva analítica da atividade antioxidante ABTS foi preparada com solução de Trolox com concentrações entre 0,1 a 2,0 mM ($R^2 = 0,99$), para expressar os resultados μ mol ET/100g.

A determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazil) foi realizada segundo Ravichandran et al. (2012), com algumas modificações. Uma solução estoque de 0,01 g de DPPH e 25 mL de etanol foi preparada. Após, fez-se uma solução etanólica de DPPH a partir da mistura de 3 mL da solução reserva com 50 mL de etanol com absorvância de $0,8 \pm 0,02$. A partir desta, em um tubo de ensaio misturou-se 3,9 mL da solução etanólica de DPPH e 0,1 mL do extrato. Os tubos foram mantidos a temperatura ambiente por 30 min no escuro e a absorvância lida a 517 nm em espectrofotômetro (UV-VIS Femto, 700 Plus), utilizando álcool etílico como branco. A curva analítica foi preparada com uma solução de Trolox com concentrações entre 0,05 a 0,7 mM ($R^2 = 0,99$). Os resultados foram expressos em mmol ET por 100g de amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 está apresentada a caracterização do extrato obtido da farinha de subproduto de uva, em que é possível observar a presença de compostos fenólicos, flavonoides e a capacidade de atividade antioxidante por diferentes métodos avaliados.

Notou-se alto teor de CFT na FSU, sendo que o teor de FT representa cerca de 10% destes compostos. Derakhshan et al. (2018) e Iuga & Mironeasa (2020), explicam que o alto conteúdo de fenólicos são devido aos altos níveis de antocianinas e flavonóis presentes na polpa, semente e casca da uva. Tami et al. (2022) encontraram 7156 mg/100g de CFT na extração da semente da uva, resultado este maior em relação a este estudo. Kandyliis et al. (2021) reportaram que a diferença dos teores de CFT deve-se as condições climáticas, características do solo, práticas vitícolas e maturidade da uva.

Os flavonóides são o maior grupo de compostos fenólicos de ocorrência natural no bagaço de uva (Rockenbach et al., 2011). Akca & Akpınar (2021) relataram 3,8 mg/100g de flavonóides totais na extração da semente da uva, um valor relativamente baixo em relação ao atual trabalho, pois o subproduto utilizado para este estudo também envolve a casca da uva.

Tabela 1. Caracterização da farinha de subproduto de uva quanto a composição

PARÂMETROS	SUBPRODUTO DA UVA
Compostos Fenólicos totais (mg EAG/100g)	619,57 $\pm$ 9,40
Flavonóides totais (mg EQ/100g)	67,97 $\pm$ 1,33

EAG – equivalente de ácido gálico, EQ – equivalente de quercetina. Fonte: Autora (2023).

Os resultados mostraram que os compostos fenólicos e flavonoides presentes na FSU promoveram atividade antioxidante pelos métodos de análise realizados, assim como pode ser observado na Tabela 2. Isso demonstra que esses compostos podem atuar sequestrando radicais livres como DPPH e ABTS e promovendo a redução do ferro (método FRAP). A capacidade de sequestrar radicais está diretamente relacionada à estrutura dos compostos fenólicos, pois a atividade antioxidante depende do número e posição dos grupos carboxila (Beres et al., 2019). Tami et al. (2022) e Monteiro et al., (2021) relataram potencial antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH para o subproduto de uva.

Tabela 2. Atividade antioxidante da farinha de subproduto de uva

PARÂMETROS	SUBPRODUTO DA UVA
ABTS (μ mol ET/100g)	5,53 $\pm$ 0,03
FRAP (mmol ET/100g)	2,38 $\pm$ 0,08
DPPH (mmol ET/100g)	1,33 $\pm$ 0,01

Fonte: Autora (2023).

A adição de antioxidantes é uma forma eficaz de controlar a oxidação lipídica nos alimentos, o que pode levar a odores e sabores rançosos, encurtar o prazo de validade, alterar a textura e a cor e reduzir o valor nutricional dos alimentos. Uma vez que o uso de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido questionado sobre sua inocuidade, pois apresentam

potencial de toxicidade (Silva et al., 2022), pesquisas se concentram em encontrar compostos naturais com propriedades funcionais. Diante da presença dos compostos fenólicos, flavonoides e do desempenho como antioxidantes, mostra-se a importância da aplicação de subprodutos agroindustriais, como o de uva, visto que esse aproveitamento também é importante para o enriquecimento de produtos alimentícios, como as bebidas lácteas. Além de conter compostos antioxidantes, são um importante aspecto do desenvolvimento sustentável ambiental (minimizando o descarte inadequado) e econômico (via valorização da cadeia produtiva).

4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste estudo comprovaram a presença de compostos fenólicos, flavonóides, e atividade antioxidante na farinha de subproduto da uva. Com isso, este subproduto possui potencial para seu reaproveitamento e pode contribuir em diversos aspectos, tais como, cosméticos, fármacos e/ou como agregar valor nutricional aos alimentos, favorecendo o desenvolvimento sustentável.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio e colaboração para o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

ABOUELENEIN, D; MUSTAFA, A; CAPRIOLI, G; RICCIUTELLI, M. SAGRATINI, G; VITÓRIO, S. Phenolic and nutritional profiles, and antioxidant activity of grape pomaces and seeds from Lacrima di Morro d'Alba and Verdicchio varieties. **Food Bioscience**. v. 53. Jun 2023.

AKCA, S; AKPINAR, A. The Effects of Grape, pomegranate, Sesame Seed Powder and Their Oils on Probiotic Ice Cream: Total phenolic contents, antioxidant activity and probiotic viability. **Food Bioscience**. v. 42. p. 101203. Ago 2021.

ALENCAR, M. G; QUADROS, C. P; LUNA, A. L. L. P. L; NETO, A. F; COSTA, M. M; QUEIROZ, M. A. A; CARVALHO, F. A. L; ARAÚJO, D. H. S; GOIS, G. C; SANTOS, V. L. A. S; FILHO, J. R. V. S; RODRIGUES, R. T. S. Grape skin flour obtained from

wine processing as an antioxidant in beef burgers. **Meat Science**. v.194. Dez 2022.

BENDER, A.B.B; LUVIELMO, M. M; LOUREIRO, B. B; SPERONI, C. S; BIGOLIN, A. A; SILVA, L. P; PENNA, N. G. Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an extruded snack. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 19. p. 1-9. Maio 2016.

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, p. 70-76. Jul 1996.

BERES, C; FREITAS, S. P; GODOY, R. L. O; OLIVEIRA, D. C. R; DELIZA, R; IACOMININ, M; SILVA, C, M; CABRAL, L. M. C. Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. **LTW- Food Science and technology**. v. 56. p.276-285. Jan 2021.

BOATENG, J.; VERGHESE, M.; WALTER, L.T; OGUTU, S (2008). Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp. L.*). **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie (LWT)**, Amsterdam, v.20, p.1-8. Nov 2008.

DERAKHSAN, Z; FERRANTE, M; TADI, M; ANSARI, F; HEYDARI, A; HOSSEINI, M. S; CONTI, G. O; SADRABAD, E. K. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. **Food and Chemical Toxicology**. v. 114. p. 108-111. Abr 2018.

DIFONZO G; TROILO, M; ALLEGRETTO, I; PASQUALONE, A; CAPONIO, F. Grape skin and seed flours as functional ingredients of pizza: Potential and drawbacks related to nutritional, physicochemical and sensory attributes. **LWT- Food Science and Technology**. v. 175. Fev 2023.

EMBRAPA (2021). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Vitivinicultura brasileira: panorama. (Comunicado Técnico Embrapa 199). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-geral/-/busca/LEITE?buscaPortal=LEITE>. Acesso em: 10 jan. 2024.

GARRIDO, A. B. M., BASTANTE, M. J. C., HEREDIA. F. J., GILETE. M. L. E. Revalorization of residues from the industrial exhaustion of grape by-products. **LWT - Food Science and Technology**. v. 156. Fev 2022.

GARRIDO, A. B. M., BASTANTE, M. J. C., HEREDIA. F. J., GILETE. M. L. E. Revalorization

of residues from the industrial exhaustion of grape by-products. **LWT- Food Science and Technology**. v. 156. Fev 2022.

guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 19, p. 669-675. Set-Nov 2006.

IUGA, M; MIRONEASA, S. Potential of grape byproducts as functional ingredients in baked goods and pasta . **Food Science and Food Safety**. v. 19. p. 2473-2505. Jul 2020.

KANDYLIS, P; DIMITRELLOU, D; MOSCHAKIS, T. (2021). Recent applications of grapes and their derivatives in dairy products. **Trends in Food Science & Technology**. v. 114. p. 696-711. Ago 2021.

MARIANNE, L. C; LUCIA, A. G; JESUS, M. S. M; LEONARDO, H. M. E; SANCHEZ, M. M. Optimization of the green extraction process of antioxidants derived from grape pomace. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**. v. 37. Fev 2024.

MONTEIRO, G. C; MINATEL, I. O; JUNIOR, A. P; GOMEZ, H. A; CAMARGO, J. P. C; DIAMANTE, M. S; BASÍLIO, L. S. P; TECCHIO, M. A; LIMA, G. P. P. L. Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. **LTW- Food Science and technology**. v. 135. Jan 2021.

RAVICHANDRAN, K.; AHMED, A. R.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. **Food Research International**. v. 48, p. 16-20. Ago 2012.

ROCKENBACH, I. I.; GONZAGA, L. V.; RIZELIO, V. M.; GONÇALVES, A. E. S. S.; GENOVESE, M. I.; FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**. v.44, n.4, p.897-901. Maio 2011.

SILVA, E. M. D; SILVA, É. J. F. D; OLIVEIRA, R. B; SILVA, A. F. Prospecting within the production of natural antioxidants for insertion in the food market. **Prospecting notebooks**. v. 15. p. 245-260. Jan 2022.

TAMI, S. H; ALY, E; DARWISH, A. A; MOHAMED, E.S. Buffalo stirred yoghurt fortified with grape seed extract: New insights into its functional properties. **Food Bioscience**. v. 47. p.101752. Jan 2022.

THAIPONG. K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from