

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS
ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

ÍCARO RAYMUNDO CHINAZZO

**INFLUÊNCIA DA CULTIVAR E DO TIPO DE AGRICULTURA NA
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM ÓLEOS
DE SEMENTE DE UVA**

Porto Alegre/RS

2010

ÍCARO RAYMUNDO CHINAZZO

**INFLUÊNCIA DA CULTIVAR E DO TIPO DE AGRICULTURA NA
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM ÓLEOS DE
SEMENTE DE UVA**

Trabalho de conclusão apresentado como requisito
para a graduação em Engenharia de Alimentos na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre/RS

2010

ÍCARO RAYMUNDO CHINAZZO

**INFLUÊNCIA DA CULTIVAR E DO TIPO DE AGRICULTURA NA
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM ÓLEOS DE
SEMENTE DE UVA**

Monografia apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito obrigatório para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Aprovada em 17 de dezembro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Orientador

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Maria Julia Ledur Alles
Engenheira de Alimentos UFRGS

RESUMO

Diversas são as pesquisas que estudaram a composição e a qualidade nutricional dos rejeitos oriundos das indústrias de vinho e suco de uva. Na semente de uva pode-se encontrar uma grande quantidade de compostos fenólicos, e especificamente, teores significativos de vitamina E, *trans*-resveratrol e catequinas, porém esses valores variam conforme a cultivar da uva. Atualmente, o consumo de alimentos orgânicos vem aumentando no Brasil, e uma das razões para essa maior demanda são as alegações de tais alimentos serem mais saudáveis. Na literatura, pode-se encontrar uma série de pesquisas que alegam que o tipo de agricultura está diretamente ligada a constituição do alimento. Contudo esse trabalho teve como objetivo realizar a extração do óleo das sementes de rejeito a fim de quantificar e comparar as características físico-químicas e concentrações de antioxidantes (vitamina E, catequinas, *trans*-resveratrol e compostos fenólicos totais) existentes nos seguintes óleos: óleo de semente de uva convencional da cultivar Isabel (IC), óleo de semente de uva orgânica da cultivar Isabel (IO) e óleo de semente de uva orgânica da cultivar Bordo (BO). As análises físico-químicas indicaram um elevado teor de peróxidos nas amostras, sendo resultado de um longo armazenamento das sementes de uva em condições ambientes. A amostra BO apresentou as maiores concentrações de *trans*-resveratrol (62,53 µg/100g de óleo) e catequina (40,02 mg/100g de óleo) em relação aos óleos IO e IC. Além disso, o óleo BO também foi o óleo que apresentou o maior teor de fenólicos totais (5,61 mg Ácido de Gálico/g de óleo) indicando ser um óleo mais rico em tais compostos do que as amostras IC (2,85 mg Ácido de Gálico/g de óleo) e IO (5,17 mg Ácido de Gálico/g de óleo). Contudo, para vitamina E o BO apresentou menor concentração (0,115 mg/100g de óleo) em comparação a IO (0,429 mg/100g de óleo), porém superior a IC (0,037 mg/100g de óleo). Avaliando a influência do tipo de agricultura da uva, a amostra IO obteve maiores concentrações de *trans*-resveratrol, vitamina E e compostos fenólicos totais que a amostra IC, evidenciando que o óleo IO tende a ter maiores concentrações de compostos antioxidantes que o óleo IC.

Palavras-chave: óleo de uva, agricultura orgânica, compostos antioxidantes.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PRODUÇÃO BRASILEIRA DE UVA EM TONELADAS	10
TABELA 2 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL UTILIZADA PARA A CLAE <i>TRANS-RESVERATROL</i>	26
TABELA 3 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL UTILIZADA PARA A CLAE DE CATEQUINAS	27
TABELA 4 – ÍNDICE DE PERÓXIDOS PARA ÓLEOS SEMENTE DE UVA	29
TABELA 5 – RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA O ÓLEO SEMENTE DE UVA ISABEL ORGÂNICA	30
TABELA 6 – TEORES MÉDIOS DE VITAMINA E NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SEMENTE DE UVA	32
TABELA 7 – TEORES MÉDIOS DE <i>TRANS-RESVERATROL</i> NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	35
TABELA 8 – TEORES MÉDIOS DE CATEQUINA NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	38
TABELA 9 – QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA DA CATEQUINA	16
FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO <i>TRANS</i> -RESVERATROL	17
FIGURA 3 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE TOCOFERÓIS E TOCOTRIENÓIS	18
FIGURA 4 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA VITAMINA E NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	31
FIGURA 5 – AMPLIAÇÃO DO CROMATOGRAMA DA AMOSTRA IC PARA VITAMINA E	32
FIGURA 6 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA <i>TRANS</i> -RESVERATROL NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	34
FIGURA 7 – AMPLIAÇÃO DO CROMATOGRAMA DA AMOSTRA IC PARA <i>TRANS</i> -RESVERATROL	35
FIGURA 8 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA CATEQUINAS NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA	37

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	08
1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1.1 - PANORAMA ATUAL DA VITICULTURA BRASILEIRA	10
1.2 - AGRICULTURA ORGÂNICA	11
1.3 - ALIMENTOS ORGÂNICOS <i>VERSUS</i> CONVENCIONAIS	12
1.4 - SEMENTE DE UVA	13
1.5 - ÓLEO DE SEMENTE DE UVA	15
1.6 - COMPOSTOS FENÓLICOS	16
1.7 - VITAMINA E	17
2 - MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.1 - COLETA DAS AMOSTRAS	21
2.2 - EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA	21
2.3 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA	22
2.3.1 - Determinação de Umidade e Matéria Volátil a 105°C	22
2.3.2 - Determinação do Índice de Refração (IR)	22
2.3.3 - Determinação do Índice de Acidez	22
2.3.4 - Determinação do Índice de Peróxidos (I.P.)	23
2.3.5 - Determinação da Matéria Insaponificável	24
2.4 - ANÁLISES QUANTITATIVAS DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES	24
2.4.1 - Reagentes e Padrões	25
2.4.2 – Instrumentos	25
2.4.3 - Análise Quantitativa de Vitamina E	25
2.4.4 - Análise Quantitativa de <i>Trans</i> -Resveratrol	26
2.4.5 - Análise Quantitativa de Catequinas	27
2.4.6 - Análise Quantitativa de Compostos Fenólicos Totais	27
3 – ANÁLISE DOS RESULTADOS	29
3.1 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	29
3.2 - CONTEÚDO DE VITAMINA E	31

3.3 – CONTEÚDO DE <i>TRANS</i> -RESVERATROL	33
3.4 - CONTEÚDO DE CATEQUINA	36
3.5 – CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	38
CONCLUSÃO	40
BIBLIOGRAFIA	41

INTRODUÇÃO

A produção de suco de uva, em larga escala, necessita métodos rápidos de elaboração com alto rendimento para que a comercialização seja lucrativa. Assim, a busca de parâmetros eficientes pode gerar problemas, como a obtenção de uma grande quantidade de biomassa residual cujo direcionamento torna-se uma questão de pouca relevância para as indústrias (MANFROI, 1998-2001, p. 27-28).

Após a extração do suco de uva, os grãos se tornam resíduos sólidos do processo. A massa obtida é composta essencialmente por casca, bagaço, engaço e semente. Atualmente a maior parte desses não é aproveitada, sendo necessário um tratamento para os resíduos sólidos, como a compostagem, caso o contrário, gerarão uma significativa poluição ambiental (GIOVANNINI, 1998-2001, p. 58).

Diversas são as pesquisas que estudaram a composição e a qualidade nutricional dos rejeitos oriundos das indústrias de vinho e suco de uva (IACOPINI et al., 2008; KAMMERER et al., 2004; RUBIO et al., 2009; OBREQUE-SLIER et al., 2010; DEIANA et al., 2009; MAKRISA, BOSKOU, ANDRIKOPOULOS, 2007; RAYNE, KARACABEY, MAZZA, 2008). A identificação, quantificação e atividade antioxidante de compostos fenólicos são os principais focos dos estudos citados.

Mendes e Araújo (2006, p. 3-4) sugerem o reaproveitamento desses subprodutos em outros alimentos, ou até mesmo, no desenvolvimento de novos produtos, pois o resíduo de uva, em geral, é uma rica fonte de compostos fenólicos e minerais.

A produção de óleo de uva é uma opção de destino para as sementes residuais da indústria vitícola e tal operação já é rotineira na Europa, onde o consumo deste óleo está bem difundido. Na literatura pesquisada, não foi encontrada avaliações sobre a potencialidade do óleo de semente de uva orgânica.

Atualmente, o setor de orgânicos é um assunto muito discutido nas grandes redes supermercadistas, pois já é considerado um elemento estratégico importante na busca de clientes de classe média e alta, mais informados, e de maior poder aquisitivo (ESCOLA e LAFORGA, 2006, p.6). Diversas pesquisas mostram que no Brasil o consumo de alimentos orgânicos vem crescendo, uma vez que são mais saudáveis e são cultivados através de uma agricultura sustentável ao meio ambiente. Além disso, muitos estudos buscam associar uma qualidade nutricional superior aos alimentos orgânicos, quando comparados com alimentos provenientes

de agricultura convencional. Apesar disso, ainda não se tem uma resposta conclusiva para tal afirmação, pois ainda existem muitos estudos contraditórios.

Portanto o presente trabalho apresentou como objetivos:

- Verificar a qualidade do óleo de semente de uva orgânica da cultivar Isabel, através de análises físico-químicas (índice de refração, matéria volátil a 105°C, índice de acidez, índice de peróxidos e índice de insaponificação) e comparar os resultados com a legislação descrita pela FAO/WHO no Codex *Stan* 210-2003.
- Quantificar a concentração de compostos fenólicos totais por espectrofotometria e de compostos antioxidantes (catequinas, *trans*-resveratrol e vitamina E) por cromatografia líquida de alta eficiência nos óleos de IO, IC e BO.
- Analisar a composição de antioxidantes, entre os óleos de uvas de diferentes cultivares, determinando a variação na composição do óleo em razão da cultivar da uva entre as amostras de IO e BO.
- Analisar a composição de antioxidantes, entre os óleos de uvas de diferentes cultivos, sugerindo uma variação na composição do óleo em razão do sistema de agricultura adotado na produção de uva. Para tal determinação serão utilizadas amostras de IO e IC.

1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 - PANORAMA ATUAL DA VITICULTURA BRASILEIRA

O Brasil é o 15º produtor de uvas no mundo (FAO/WHO, 2007), sua viticultura ocupa uma área de aproximadamente 71 mil hectares, com vinhedos estabelecidos desde o extremo Sul do país até as regiões próximas da Linha do Equador (PROTAS, 2008, p. 17). A tabela 1 mostra a produção brasileira de uva, nos últimos 4 (quatro) anos, e as contribuições dos principais Estados produtores.

TABELA 1 – PRODUÇÃO BRASILEIRA DE UVA EM TONELADAS

Estado/Ano	2006	2007	2008	2009
Rio Grande do Sul	623.847	705.228	776.027	737.363
São Paulo	195.357	193.023	192.976	177.934
Pernambuco	155.783	170.326	162.977	158.515
Paraná	95.357	99.180	101.500	102.080
Bahia	89.738	120.654	97.481	90.508
Santa Catarina	47.787	54.554	58.330	67.546
Minas Gerais	12.318	11.995	13.711	11.773
Brasil	1.220.187	1.354.960	1.403.002	1.345.719

FONTE: MELLO (2009, p. 1).

De acordo com a tabela 1, nota-se que a produção nacional de uvas gira ao redor de 1,3 milhões de toneladas ao ano, sendo o Estado do Rio Grande do Sul o maior produtor. A Serra Gaúcha é a principal região produtora de uva do Estado, onde cerca de 80% da produção é de uvas americanas (*Vitis labrusca*, *Vitis bourquina*) e híbridas, sendo a Isabel a cultivar de maior expressão (PROTAS; CAMARGO; MELLO, 2010).

Conforme Mello (2009, p. 2) aproximadamente 50% da safra de uva brasileira de 2009, foi utilizada para o processamento de vinhos, suco de uva e derivados, sendo a outra metade comercializada para o consumo “in natura” no mercado interno e externo. A produção de suco é apenas um dos possíveis segmentos de mercado existentes para a uva colhida. O fácil processo de elaboração de suco natural de uva, juntamente com o seu alto valor nutricional contribuem para o crescente aumento de sua comercialização. Segundo Rizzon e Meneguzzo (2007, p.9) o suco natural de uva contribui para uma dieta alimentar de qualidade, pois a sua composição nutricional é muito semelhante à composição apresentada pela uva “in natura”.

Segundo Ritschel e Camargo (2007, p. 1), no Rio Grande do Sul, as cultivares Isabel, Concord e Bordô (*Vitis labrusca*) são os tipos de uva destinados à elaboração de sucos. O emprego de tais uvas para a produção de sucos é explicado pelo fato dessas cultivares terem um adequado teor glicométrico e uma adequada relação açúcar/acidez. Além disso, as características organolépticas (cor, aroma e o sabor) do suco extraído de tais cultivares se assemelham muito com as características organolépticas da uva fresca. Rizzon e Meneguzzo (2007, p.13) afirmam que as cultivares de *Vitis vinifera*, freqüentemente, originam sucos com gosto de cozido devido as operações de extração à quente e pasteurização.

1.2 - AGRICULTURA ORGÂNICA

A conscientização da população por hábitos alimentares mais saudáveis e a sensibilização com os impactos ambientais trazidos pela agricultura convencional ao meio ambiente vêm acelerando o desenvolvimento do mercado de orgânicos. Além disso, a confiança dos consumidores aumentou em relação aos alimentos orgânicos, uma vez que leis e normas de certificação passaram a controlar esse segmento de mercado (WINTER e DAVIS, 2006, p.R-123).

As chamadas agriculturas alternativas foram deixadas de lado durante décadas, pois sempre foram rotuladas como “retrógradas” e sem validade científica. Mas no final dos anos 60, os danos ambientais provocados pela agricultura moderna tornaram-se mais evidentes (ESCOLA e LAFORGA, 2006, p.4). Nos anos 80, a noção de agricultura orgânica já apresentava um campo conceitual mais preciso e, em 1984, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) reconheceu sua importância formulando a seguinte definição:

A agricultura orgânica é um sistema de produção que evita ou exclui amplamente o uso de fertilizantes, praguicidas, reguladores de crescimento e aditivos para a alimentação animal compostos sinteticamente. Tanto quanto possível, os sistemas de agricultura orgânica baseiam-se na rotação de culturas, esterco animal, leguminosas, adubação verde, lixo orgânico vindo de fora da fazenda, cultivo mecânico, minerais naturais e controle biológico de pragas para manter a estrutura e produtividade do solo, fornecer nutrientes para as plantas e controlar insetos, ervas daninhas e outras pragas (USDA, 1984, p.10).

De acordo com as estatísticas publicadas pela *International Federation Organic Agriculture Movement* (IFOAM), em 2009, existiam 35 milhões de hectares com produção orgânica certificada, distribuídos em 154 países. A Austrália possui a

maior parte dessa área, sendo seguida por Argentina, China, Estados Unidos e o Brasil. O mercado global de produtos orgânicos cresceu 235% entre 1999 e 2008, uma taxa média de 21 % ao ano (IFOAM, 2009).

O mercado de produtos orgânicos cresce lentamente no Brasil. Há registros de aproximadamente 350 certificados emitidos até o ano de 2006. Em comparação com o mercado europeu, na França, a Ecocert, uma das maiores certificadoras de orgânicos, autorizou a utilização do selo orgânico para cerca de 2,3 mil indústrias (ESCOLA e LAFORGA, 2006, p.7).

Atualmente São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Espírito Santo são responsáveis por cerca de 70% da produção nacional de alimentos orgânicos. As exportações brasileiras ainda são muito recentes e têm ocorrido, principalmente, para a União Européia, Estados Unidos e Japão. Os principais produtos exportados são: café, cacau, soja, açúcar mascavo, erva-mate, suco de laranja, óleo de dendê, frutas secas e castanhas de caju (ESCOLA e LAFORGA, 2006, p.6).

1.3 - ALIMENTOS ORGÂNICOS *VERSUS* CONVENCIONAIS

Segundo Ferreira et al. (2003, p.99) a expansão do mercado brasileiro de alimentos orgânicos é resultado das informações levantadas por dois temas atuais: a preocupação com a qualidade dos alimentos ingeridos e a crescente conscientização ecológica.

Borguini e Silva (2004, p.32) relatam as principais motivações que levam os consumidores a comprar alimentos orgânicos. O fator apontado como o mais incentivador para o consumo de alimentos orgânicos foi a proteção à saúde (58,3%), seguido pela afirmação de não conter agrotóxicos (22,3%). Outras razões mencionadas foram a qualidade superior e a preocupação com o meio ambiente.

A qualidade nutricional é outro ponto levado em questão por parte dos consumidores de produtos orgânicos. Logo a questão é verificar se alimentos orgânicos são realmente mais nutritivos. Ainda não se tem uma resposta concreta para essa incógnita, pois os estudos comparativos entre elementos nutritivos (vitaminas, minerais e etc.) ainda são inconclusivos para a maior parte dos alimentos (STRINGHETA, 2003).

Dani et al. (2009, p. 1111) e Dani et al. (2007, p. 2574) encontraram níveis de catequinas, resveratrol e compostos fenólicos totais superiores em sucos de uvas orgânicas, quando comparados com os teores encontrados em sucos de uva de

agricultura convencional. Os artigos sugerem a tendência de produtos derivados de uva orgânica apresentarem, em sua composição, uma maior concentração de compostos antioxidantes.

Ao contrário dos resultados obtidos acima, Vian et al. (2006, p. 5234) relataram que uvas cultivadas em sistemas convencionais apresentaram uma concentração de antocianinas superior quando comparadas com uvas de agricultura orgânica. Segundo tais autores o resultado foi surpreendente, pois o acúmulo de compostos fenólicos é diretamente proporcional à carga de estresse que as plantas são submetidas. Como na agricultura orgânica as uvas não estavam protegidas por pesticidas, logo, teoricamente, sofreram uma carga de estresse maior que as uvas convencionais. Portanto as uvas orgânicas deveriam apresentar maior quantidade de compostos fenólicos.

1.4 - SEMENTE DE UVA

No Brasil, parte das sementes de uva, resíduo das indústrias Vitícolas, é destinada à produção de ração animal e adubos após um preparo dessa biomassa. Porém, é possível realizar uma utilização mais nobre desses resíduos, ou seja, empregá-los no mercado como fonte de compostos de interesse às indústrias de fitoterápicos e óleos vegetais (MARASCHIN et al., 2002, p. 143).

A semente de uva já é reaproveitada para a produção de óleos na Europa. Existem diversas pesquisas que relatam a presença de compostos fenólicos em sementes de uva. Os flavanóis são os compostos fenólicos encontrados em maiores quantidades na semente, sendo os polímeros catequinas, oligômeros epicatequinas e os monômeros proantocianidinas, as estruturas de presença dominante (REVILLA, BOURZEIX e ALONSO, 1991; OSZMIANSKI e SAPIS, 1989; CHIRA et al., 2008; FULEKI e SILVA, 1997; FULEKI e SILVA, 2003; HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ et al., 2009; CASTILLO et al. 2000 e KAMMERER et al., 2004).

Conforme Kammerer et al. (2004, p. 4365) a semente da uva Weisser Riesling tem uma quantidade de 790,2 mg de catequinas/kg de matéria seca, enquanto que a casca da mesma cultivar apresenta 226,7 mg/kg de matéria seca. Por outro lado, a casca da uva é uma fonte mais rica em *trans*-resveratrol que sua semente, apresentando, respectivamente, 86,4 e 14,2 mg/kg de matéria seca. Chira et al. (2009, p. 547) também afirmam que as sementes da cultivar Cabernet Sauvignon apresentam maiores teores de catequinas que as suas cascas, 12,94 e

0,45 mg/g de matéria seca respectivamente. Portanto, segundo os autores citados acima, as sementes apresentam maiores concentrações de proantocianidinas que as cascas da mesma cultivar.

Fuleki e Silva (1997) analisaram 17 cultivares de uvas produzidas no Canadá, integrando uvas rosadas e brancas. A cultivar híbrida Vincent foi a que apresentou o maior teor de catequinas totais, tendo uma concentração de 439 mg/100g de semente. Os autores ainda sugerem que a quantidade de catequinas é influenciada por fatores genéticos, pois, no geral, sementes de uvas rosadas detêm maiores teores de proantocianidinas que as sementes de uvas brancas. Fuleki e Silva (1997, p. 1159) alegam que as uvas rosadas têm maior facilidade de sintetizar compostos fenólicos.

Oszmianski e Sapis (1989, p. 1296) identificaram e isolaram 10 compostos fenólicos oriundos de proantocianidinas em semente de uva da cultivar Carignane. O monômero catequina foi o principal composto encontrado, representando uma parcela de 32,5% do total de compostos identificados. A epicatequina foi o segundo nutriente em maior quantidade, tendo uma contribuição de 19,0% do total. Por outro lado, Revilla, Bourzeix e Alonso (1991, p. 468), ao analisarem sementes de uva da cultivar Chardonnay, encontraram quantidades de epicatequinas superiores às de catequinas, sendo tais teores de 41,75 e 30,12 mg/100g de sementes, respectivamente.

Entretanto compostos fenólicos da família dos flavonóis, como a quercitina, e dos estilbenos, como o *trans*-resveratrol, também são encontrados na semente da uva, porém em quantidades inferiores aos flavanóis (KAMMERER et al., 2004 e SUN e SPRANGER, 2005). Kammerer et al. (2004, p. 4364) obtiveram os valores de 790,2 e 14,2 mg/kg de matéria seca para as concentrações de catequinas e *trans*-resveratrol, respectivamente, nas sementes de uva Weisser Riesling (*V. vinifera*). Os resultados de Kammerer et al. (2004) demonstraram o predomínio de proantocianidinas na composição de sementes de uva.

A concentração de cada composto fenólico, na semente de uva, varia de acordo com uma série de fatores que abrangem o ciclo de vida da uva desde a sua plantação. Fatores como cultivar da uva, safra, local de cultivo e tipo de agricultura são os mais elencados como causadores dessas diferenças quantitativas nas concentrações entre uma uva e outra (CHIRA et al., 2008; FULEKI e SILVA, 1997; FULEKI e SILVA, 2003; KAMMERER et al., 2004 e DANI et al., 2009).

1.5 - ÓLEO DE SEMENTE DE UVA

O consumo de óleos vegetais vem aumentando no Brasil, segundo Turatti (2000, p. 20), e o valor nutritivo desses óleos contribui com esse incremento. Óleos como de girassol, oliva, linhaça e palma já possuem um valor comercial significativo, devido à presença de componentes com propriedades funcionais em sua composição.

O óleo de uva também entra nesse segmento de mercado e diversos são os estudos que buscam explicar a composição química funcional de tal óleo. Freitas (2007), Crews et al. (2006), Bail et al. (2008) e Nakamura, Tsuji e Tonogai (2003) são alguns dos trabalhos que buscaram quantificar compostos fenólicos e vitamina E em óleos de uvas.

Mendes e Araújo (2006, p. 4) relataram que a semente de uva contém cerca de 10% a 20% de óleo comestível de boa qualidade, variando conforme a cultivar da uva. Basile (1986, p. 19) descreve que as sementes de uvas apresentam em sua composição um óleo comestível de alto valor nutricional, de cor clara, tendendo ao verde, sem odor e de gosto muito agradável.

Rubio et al. (2009, p. 2814) encontraram em óleo de sementes de uvas *Vitis vinifera* maduras, extraído com solvente, uma quantidade aproximada de 67,61% de ácido linoléico, sendo o composto de maior quantidade, seguido pelo ácido oléico com uma concentração de 18,73%.

Conforme o *Codex Alimentarius* (2003, p. 5), o óleo de uva original deve apresentar entre 58-78% de ácido linoléico e 12-28% de ácido oléico. Além de ser conhecido por sua constituição de alto teor de ácidos graxos insaturados, linoléico e oléico, o óleo de uva apresenta propriedades antioxidantes devido à presença da vitamina E (FREITAS, 2007, p. 2).

Assim como acontece na semente, a composição nutricional do óleo de uva também varia conforme a cultivar, local de plantio, maturidade da uva e outros fatores (CREWS, 2006, p. 6265). Freitas et al. (2008, p. 82) aferiram as concentrações de catequinas e vitamina E em seis óleos de uvas, de diferentes cultivares, sujeitos a diferentes métodos de extração. O resultado foi que os óleos de uvas extraídos por líquido pressurizado, utilizando hexano, sempre apresentaram concentrações de vitamina E superiores aos extraídos por solventes ou por pressão mecânica. Foi observada também a tendência da extração mecânica preservar mais a vitamina E em relação à extração com solventes.

Freitas (2007, p. 136-137) demonstrou que óleos de uva Isabel extraídos por líquido pressurizado, em hexano, apresentaram maiores concentrações de catequinas e demais compostos fenólicos. Entretanto, óleos extraídos por prensagem mecânica não apresentaram concentrações identificáveis de compostos fenólicos.

1.6 - COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são estruturas orgânicas sintetizadas pelos vegetais. Nos organismos vegetais, os compostos orgânicos fazem parte dos metabólitos secundários, ou seja, não participam diretamente no crescimento da planta. Segundo Iacopini et al. (2008, p. 589) os compostos fenólicos são divididos em dois grupos, conforme suas configurações químicas, os flavonóides (antocianinas, flavonóis e flavanóis) e os não flavonóides (estilbenos). O grupo fenólico mais encontrado, em vegetais, é o flavonóide, tendo como monômero principal a catequina (Figura 1) (FERREIRA, OLIVEIRA e SANTOS, 2008, p. 58).

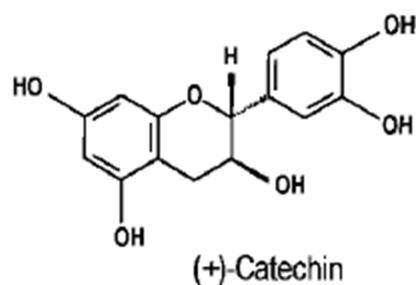


FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA DA CATEQUINA

FONTE: NAKAMURA, TSUJI e TONOGAI (2003, p. 49).

Historicamente os estudos de compostos fenólicos se baseiam em seus possíveis benefícios à saúde através da sua ingestão. Iacopini et al. (2008, p. 597) afirmam que catequina e *trans*-resveratrol, entre outros compostos fenólicos, são elementos nutracêuticos de elevada capacidade antioxidante.

Natella et al. (2002, p. 7720) concluíram que uma alimentação suplementada com proantocianidinas pode minimizar o estresse oxidativo pós-prandial, pois os níveis de antioxidantes, no plasma sanguíneo, aumentam, diminuindo os oxidantes. Como consequência, há o aumento da resistência à modificação oxidativa do colesterol LDL. Puiggròs et al. (2005, p. 6080) vão mais além, afirmando, de acordo

com seu estudo, que as procianidinas não só atuam como agentes antioxidantes, mas também interferem na expressão do gene do sistema de enzimas antioxidantes.

As proantocianidinas também auxiliam na proteção dos DNAs de hepatócitos, evitando mutações genéticas, e como consequência, o surgimento de cânceres (LLÓPIZ et al., 2004, p. 1083) e, em alguns alimentos, retardam a rancificação oxidativa (RABABAH, HETTIARACHCHY e HORAX, 2004, p. 5186).

Os estilbenos, assim como todos os compostos fenólicos, também são conhecidos por sua capacidade antioxidante. Por isso, a literatura também reconhece propriedades nutracêuticas para estilbenos, principalmente para o *trans*-resveratrol cuja estrutura química é mostrada na figura 2.

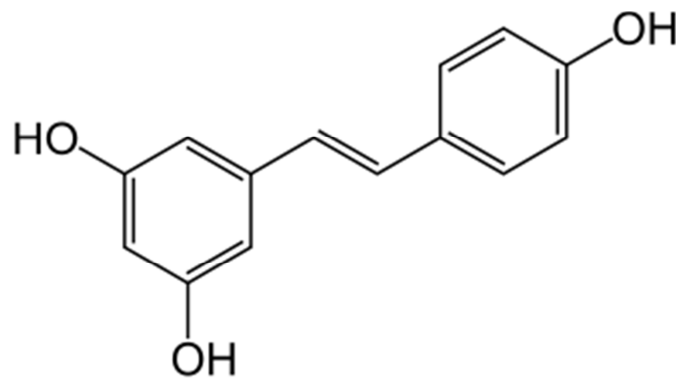


FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO *TRANS*-RESVERATROL

FONTE: BASTOS, ROGERO e ARÊAS (2009).

De acordo com Rivière et al. (2010, p. 3441), o *trans*-resveratrol e outros estilbenos podem ser considerados como excelentes inibidores da agregação de peptídeo beta-amilóide às células neurais. O acúmulo desse peptídeo tóxico é um dos principais processos neurodegradativos que ocorrem durante a progressão da doença de Alzheimer.

Khan et al. (2010, p. 146) sugerem o consumo de *trans*-resveratrol com o objetivo de reduzir o dano oxidativo nas células cerebrais, auxiliando na prevenção e no tratamento da doença de Parkinson.

1.7 - VITAMINA E

A vitamina E é um antioxidante lipossolúvel que abrange dois grupos de compostos (figura 3), com quatro elementos em cada: os tocoferóis (alfa, beta, gama e delta) e os tocotrienóis (alfa, beta, gama e delta) (USORO e MOUSA, p. 414,

2010). Naturalmente, o alfa-tocoferol é a forma mais abundante e ativa da vitamina E (SAREMI e ARORA, p. E56, 2010). A grande maioria dos estudos realizados a respeito de vitamina E são baseados na estrutura alfa-tocoferol, pois é a forma mais absorvida pelo metabolismo humano, além disso, eventuais deficiências nesse nutriente são, normalmente, corrigidas com suplementação de alfa-tocoferol (CLARKE, BURNETT e CROFT, 2008, p. 417).

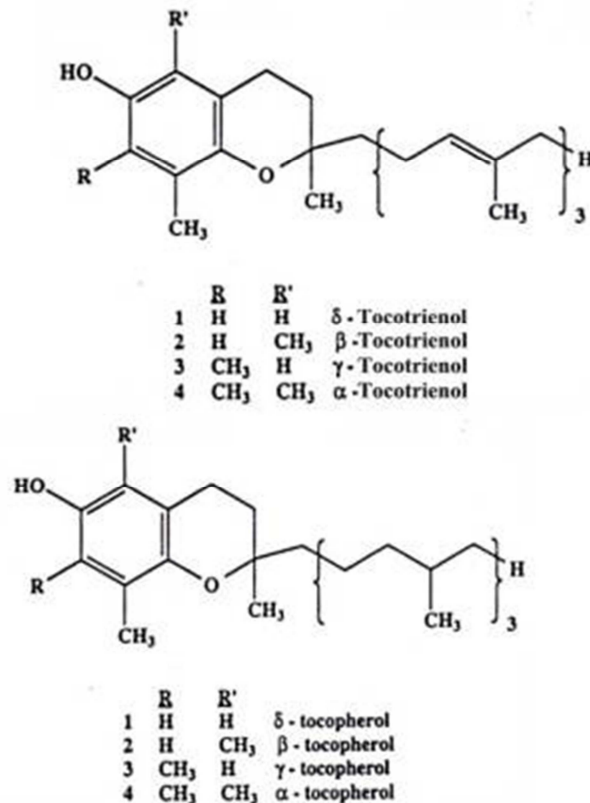


FIGURA 3 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE TOCOFERÓIS E TOCOTRIENÓIS

FONTE: COLOMBO (2010, p. 2105).

A ocorrência de radicais livres, no organismo humano, é normal, pois são produtos de reações espontâneas do metabolismo. Geralmente o DNA, proteínas e fosfolipídios poliinsaturados são alvos das ações oxidantes dos radicais livres, ocasionando danos nas membranas celulares (DIPLOCK, 1991, p. S189). O resultado mais eminente, encontrado na literatura, das ações dos radicais livres sobre a saúde humana é o estresse oxidativo de diversas células, um dano fortemente associado ao aparecimento de diversas doenças crônicas (DIPLOCK, 1991; HALLIWELL, 1991 e COCHEME e MURPHY, 2010).

Tanto os danos causados pelos radicais livres no organismo humano como a redução de suas ações na presença de compostos antioxidantes, dependendo o

metabolismo, já são princípios concretizados no mundo acadêmico (CLARKE, BURNETT e CROFT, 2008, p. 417). Por esse motivo uma gama de trabalhos, que procuram a viabilidade de uma dieta rica em antioxidantes como uma possível prevenção de doenças crônicas, é encontrada na literatura. A vitamina E, presente naturalmente em frutas e vegetais, é um dos antioxidantes naturais mais associados a estudos na prevenção de doenças crônicas (ARAIN e QADEER, 2010; SAREMI e ARORA, 2010; BATISTA, COSTA E PINHEIRO-SANT'ANA, 2007; BLUM et al, 2010 e KURIBAYASHI, 2010).

A atividade antioxidante da vitamina E é freqüentemente associada à prevenção de doenças cardiovasculares. De acordo com Clarke, Burnett e Croft (2008, p. 417), a principal razão dessa correlação é a prevenção de oxidações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e, por conseguinte, a inibição da aterosclerose (formação de placas nas paredes dos vasos sanguíneos), por parte do alfa-tocoferol. Evidências de ações anti-ateroscleróticas, em razão de uma dieta rica em vitamina E, são freqüentemente relatadas em pesquisas científicas (SAREMI e ARORA, 2010; HALLIWELL, 1991; SINGH e DEVARAJ, 2007; GAZIANO, 2004 e RAINWATER et al., 2010).

Apesar de evitar a aglomeração de lipídeos nos vasos sanguíneos, existem diversas fontes que contestam a eficiência da vitamina E na prevenção de doenças cardiovasculares. Uma série de autores relataram que uma dieta rica em vitamina E não seria suficiente para se proteger de doenças crônicas cardiovasculares (LEE et al., 2005; PHAM e PLAKOGIANNIS, 2005). Saremi e Arora (2010, p. E56) afirmam que a própria Associação Americana do Coração (*American Heart Association*) não sustenta a idéia de prevenir doenças cardiovasculares apenas com certa dose de ingestão diária de vitamina E. Há somente o incentivo em consumir alimentos ricos em vitaminas e antioxidantes.

O cérebro contém uma significativa quantidade de lipídeos susceptíveis à oxidação cujo resultado pode ser o desenvolvimento de doenças crônicas neurodegenerativas. A oxidação de lipídeos no cérebro pode ser evitada na presença de antioxidantes (KONTUSH e SCHEKATOLINA, 2004, p. 249). De acordo com Kontush e Schekatolina (2008, p. 261), baixas concentrações de vitamina E são seguidamente detectadas no líquido cefalorraquidiano de pacientes da doença de Alzheimer, sugerindo que tocoferóis e tocotrienóis retardam o desenvolvimento da doença neurodegenerativa. Entretanto, segundo Brodaty e Berman (2004, p. 807),

terapias que visam o consumo de vitamina E como prevenção de doenças neurológicas ainda não são convincentes.

Segundo a literatura, as prevenções de outras doenças crônicas também podem estar associadas ao consumo de vitamina E, como são os casos de câncer colorretal (ARAIN e QADEER, 2010), osteonecrose (KURIBAYASHI et al., 2010) e cânceres de esôfago, estômago (CARMAN et al., 2009) e pulmão (ROSWALL et al., 2010).

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de sementes de uva orgânica, das cultivares Isabel e Bordo, foram cedidas pela empresa Econatura Produtos Ecológicos e Naturais LTDA, localizada no município de Garibaldi, no Estado do Rio Grande do Sul. As sementes destinadas à extração de óleo compõem os resíduos oriundos do processamento de suco de uva integral orgânico produzido pela própria empresa nos meses de Janeiro, Fevereiro e Março do ano de 2010.

A empresa Econatura, durante a produção de sucos de uva, obteve uma mistura de resíduos cujos componentes eram: sementes, engaços, cascas e bagaços de uva. A matéria residual do processamento foi seca através de uma corrente de ar a 70°C, durante 4 horas, em um secador rotatório horizontal. Segundo Basile (1986), as sementes devem ser secas até atingirem uma umidade de aproximadamente 10% a fim de evitar sua rancificação. Depois de ajustada a umidade, as sementes foram separadas do restante dos resíduos através de um processo de peneiragem. Posteriormente as sementes foram armazenadas, durante 3 meses, em sacos de fibra de sisal e a temperatura ambiente.

As amostras de sementes de uva Isabel de agricultura convencional foram fornecidas por outro produtor da região de Garibaldi e receberam o mesmo tratamento acima descrito.

2.2 - EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA

A extração do óleo foi realizada por um extrator tipo rosca sem fim de aço carbono cromado. O óleo foi extraído a frio, ou seja, só houve aquecimento por parte de forças abrasivas da própria semente. O óleo extraído sofreu um processo natural de decantação, sendo deixado em repouso durante 72 horas, no escuro, a temperatura ambiente.

Após a completa decantação do óleo, retirou-se o precipitado e congelou-se o óleo bruto obtido em temperaturas inferiores a -10°C. Para a realização das análises os óleos foram mantidos em temperatura média de 5°C até descongelamento. Os óleos obtidos para as análises foram óleo de semente de uva Isabel convencional (IC), óleo de semente de uva Isabel orgânica (IO) e óleo de semente de uva Bordo Orgânica (BO).

2.3 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA

As análises físico-químicas dos óleos de semente de uva foram realizadas de acordo com Moretto et al. (2002) e estão descritas a seguir. Os resultados foram obtidos a partir de análises realizadas em duplicata para cada amostra.

2.3.1 - Determinação de Umidade e Matéria Volátil a 105°C

Uma quantidade de 2 g de óleo foi pesada em uma cápsula de porcelana, previamente aquecida por 1 h em estufa a 105 °C, resfriada em dessecador e pesada. A amostra foi levada à estufa a 105 °C durante 5 horas. Posteriormente, a amostra foi resfriada a temperatura ambiente no mesmo dessecador. Após o resfriamento, a amostra foi pesada. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até que o material não apresentasse diferença entre pesagens superior a 0,01 g.

Os teores de Umidade e Matéria Volátil a 105°C foram calculados por gravimetria e expressos sobre a porcentagem do peso de óleo.

2.3.2 - Determinação do Índice de Refração (IR)

Um refratômetro de Abbé foi previamente ajustado com água destilada (IR 20°C = 1,333). Duas gotas de óleo foram colocadas entre os prismas, em seguida, foi realizada leitura na temperatura ambiente. A correção da leitura para o índice de refração a 40°C seguiu a seguinte equação:

$$\begin{aligned} 40^{\circ}\text{C} - T_a &= T \\ T \times 0,000326 &= y \\ \text{IR}(T_a) - y &= \text{IR}(40^{\circ}\text{C}) \end{aligned}$$

Onde:

T_a = Temperatura Ambiente;

$\text{IR}(T_a)$ = Índice de refração da amostra a temperatura ambiente;

$\text{IR}(40^{\circ}\text{C})$ = Índice de refração da amostra a 40°C.

2.3.3 - Determinação do Índice de Acidez

Em um erlenmeyer, foram adicionados 2 g de óleo e 25 mL da solução neutra de éter/álcool (2:1, v/v), em seguida, a mistura foi agitada. Depois de agitada,

foram adicionadas à mistura duas gotas de indicador de fenolftaleína para a titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N até a obtenção da cor rósea. O índice de acidez foi obtido a partir da fórmula 1.

$$\text{Índice de Acidez (mg KOH / g)} = \frac{V \times f \times 5,61}{P} \quad (1)$$

Onde:

V = número de mL de solução de NaOH 0,1N gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de NaOH 0,1N;

P = massa em gramas de óleo;

5,61 = equivalente-grama do KOH 0,1N.

2.3.4 - Determinação do Índice de Peróxidos (I.P.)

Foram pesados 5 g de óleo em um frasco erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada. Em seguida, foram adicionados 30 mL da solução ácido acético/clorofórmio (3:2, v/v) e agitou-se até a dissolução da amostra. Adicionou-se 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio deixando em repouso ao abrigo da luz por 1 minuto. Acrescentou-se 30 mL de água e titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,1N até o conteúdo ficar levemente alaranjado. Após a permanência da coloração alaranjada, adicionou-se 0,5 mL de solução aquosa de amido a 1% e continuou-se a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul e a predominância da cor branca. Preparou-se uma prova em branco, nas mesmas condições e titulou-se.

O índice de peróxido é expresso em termos miliequivalentes de peróxidos que oxidam o iodeto de potássio por 1 kg de óleo (meq/kg). Os índices de peróxidos foram obtidos a partir da fórmula 2.

$$\text{Índice de Peróxidos (meq / kg)} = \frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{P} \quad (2)$$

Onde:

A = volume em mL de solução de tiosulfato de sódio 0,1N gasto na titulação da amostra;

B = volume em mL de solução de tiosulfato de sódio 0,1N gasto na titulação do branco;

f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,1N;

N = normalidade de solução de tiosulfato de sódio;

P = massa em gramas de óleo;

2.3.5 - Determinação da Matéria Insaponificável

Pesou-se 2 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, onde foram adicionados 25 mL de solução etanólica de hidróxido de potássio 0,5N. O erlenmeyer foi adaptado em um condensador de refluxo e aquecido à ebulição durante uma hora. Depois do resfriamento da amostra, o conteúdo do frasco foi transferido para um funil de separação de 250 mL, onde foi lavado com 50 mL de água destilada, seguida por outra lavagem de 50 mL de éter etílico. O funil de separação foi agitado e deixado em repouso até a separação em duas fases. Foi retornada a fase aquosa ao funil de saponificação para mais duas lavagens com éter etílico e a fase etérea foi transferida para um segundo funil de separação.

Os extratos etéreos das três extrações foram misturados e, em seguida, lavados com duas porções de 20 mL de água destilada e depois sucessivamente com 20 mL de solução aquosa KOH 0,5N e 10 mL de água destilada. A lavagem do extrato etéreo foi repetida por três vezes ou até que não apresentasse alcalinidade no teste com fenolftaleína. A solução etérea foi transferida para um frasco tarado, onde o solvente foi evaporado em uma chapa aquecedora. Foram adicionados 2 a 3 mL de acetona e depois a mistura foi seca, até peso constante, em estufa a 80°C. A quantidade de matéria insaponificável, ou índice de insaponificação, é dada em termos de porcentagem com relação ao peso inicial da amostra e é obtida através da fórmula 3.

$$\text{Matéria Insaponificável (\%)} = \frac{\text{Peso do resíduo seco} \times 100}{\text{Peso da Amostra}} \quad (3)$$

2.4 - ANÁLISES QUANTITATIVAS DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

As análises quantitativas dos compostos antioxidantes descritas a seguir foram aplicadas nos óleos de semente de uva obtidos na seção 2.2. Os resultados

foram obtidos a partir de análises realizadas em duplicata de extração e duplicata de injeção para cada amostra.

2.4.1 - Reagentes e Padrões

As análises cromatográficas foram realizadas com solventes de grau HPLC, os produtos utilizados para tais pesquisas foram: metanol e acetonitrila (Panreac). Os padrões utilizados para a construção de curvas de calibração foram: (\pm)-Catechin hydrate puriss., $\geq 98.5\%$ (HPLC, FLUKA), *Trans*-Resveratrol, $>99.6\%$ (HPLC, FLUKA), (\pm)- α -Tocopherol, 99.5% (HPLC, SULPECO) e Gallic acid $97.5-102.5\%$ (TITRATION).

2.4.2 - Instrumentos

As análises de cromatografia líquida, necessárias para a quantificação de vitamina E, *trans*-resveratrol e catequinas, foram realizadas em um cromatógrafo líquido da Agilent equipado com desgaseificador, uma bomba quaternária de solventes e detector de UV/Vis. Os compostos foram separados em coluna C₁₈ polimérica Vydac (218TP54), com 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e 5 μm de tamanho de partícula. As análises de compostos fenólicos totais foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Visível Modelo Ultrospec 3100 pro.

2.4.3 - Análise Quantitativa de Vitamina E

A extração da vitamina E do óleo de semente de uva foi realizada conforme o método desenvolvido por Tasioula-Margari e Okogeri (2001, p. 378), metodologia que sugere duas etapas extrativas em temperatura ambiente. Na primeira extração amostras de 10 g de óleo foram extraídas através de duas porções de 25 mL de metanol. Na segunda etapa, o resíduo do passo anterior foi extraído com duas porções de 25 mL de metanol/isopropanol (80:20, v/v). As duas etapas de extração foram realizadas sob agitação magnética, os respectivos extratos foram misturados e secos em um evaporador rotatório a 40 °C. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de metanol e, posteriormente, analisado por CLAE.

O método de cromatografia líquida descrito por Freitas (2007, p. 52-53) foi utilizado para a análise quantitativa da vitamina E presente no óleo de semente de uva. O instrumento utilizado nesse experimento foi o descrito na seção 2.4.2, estabelecendo um comprimento de onda de 292 nm para a detecção de vitamina E.

A análise foi realizada em modo isocrático, tendo como fase móvel uma solução metanol/água (96:4, v/v) ao fluxo de 1 mL/minuto durante 10 minutos. A temperatura da coluna foi mantida a 30°C e volume de injeção utilizado foi de 10 µL. Para a quantificação utilizou-se o método de padronização externa, através de uma curva de calibração determinada através de soluções individuais de α -tocoferol diluídas em metanol, na faixa de concentração de 0,002 – 0,303 mg/mL, com injeções em duplicata, para cada um dos cinco pontos da curva, sendo obtido um R^2 igual a 0,9995.

2.4.4 - Análise Quantitativa de *Trans*-Resveratrol

A obtenção de *trans*-resveratrol, a partir do óleo de semente de uva, foi realizada pela metodologia de extração de Sun e Spranger (2005, p.82). Amostras de 10 g de óleo foram extraídas em 100 mL de metanol/ácido clorídrico 0,1%, durante 40 minutos, com auxílio de um agitador magnético. O extrato foi misturado com 100 mL de água deionizada e evaporado em um evaporador rotatório a 40 °C até a completa separação do metanol. O resíduo aquoso sofreu um processo de extração através de 4 porções de 25 mL de acetato de etila em um funil de separação. Os extratos foram combinados e novamente levados a um evaporador rotatório a 40 °C, o resíduo foi dissolvido em 1 mL de acetonitrila para posterior injeção no cromatógrafo (seção 2.4.2).

A análise de CLAE realizada para *trans*-resveratrol foi a descrita por Sun e Spranger (2005, p. 81). A fase móvel foi constituída de água e acetonitrila, seguindo o gradiente de concentração apresentado na tabela 2. Usou-se um volume de injeção de 10 µL e um fluxo de 1 mL/min durante 27 minutos. A coluna foi mantida a 30° C, a detecção de *trans*-resveratrol foi obtida no comprimento de onda de 285 nm.

TABELA 2 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL UTILIZADA PARA A CLAE DE *TRANS*-RESVERATROL

Tempo (min)	Água	Acetonitrila
0,0	95,0%	5,0%
27,0	69,8%	30,2%

Utilizou-se o método de padronização externa para a quantificação. Para tanto foi determinada uma curva de calibração através de soluções individuais de

trans-resveratrol, na faixa de concentração de 1,3 – 80,6 µg/mL, com injeções em duplicata, para cada um dos seis pontos da curva, sendo obtido um R^2 igual a 0,9999.

2.4.5 - Análise Quantitativa de Catequinas

A extração de catequinas do óleo de semente de uva foi realizada pelo método descrito por Sun e Spranger (2005, p. 67). A extração foi realizada em amostras de 10 g de óleo, em agitação magnética durante 10 minutos, através de três porções de 25 mL de metanol 80% em água. O extrato foi evaporado em um evaporador rotatório a 40 °C e o resíduo foi dissolvido em 0,8 mL de metanol para a análise cromatográfica.

A análise realizada para a quantificação de catequinas foi a CLAE proposta por Freitas (2007, p. 52-54). O instrumento utilizado nesse experimento foi o descrito na seção 2.4.2, estabelecendo um comprimento de onda de 280 nm, que é o indicado para a detecção de compostos fenólicos.

A temperatura da coluna foi mantida a 30°C e volume de injeção utilizado foi de 5 µL. A fase móvel utilizada foi composta por metanol e por uma solução água/ácido acético (97:3) ao fluxo de 1 mL/min durante 12 minutos, o gradiente de concentração da fase móvel utilizado é mostrado na tabela 3.

TABELA 3 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL UTILIZADA PARA A CLAE DE CATEQUINAS

Tempo (min)	Água / Ácido Acético (97:3)	Metanol
0,0	100,0%	0,0%
12,0	81,1%	18,9%

Soluções estoques de catequina, em diferentes concentrações, diluídas em metanol, foram utilizadas para a construção de uma curva de calibração. A faixa de concentração utilizada foi de 14,0 – 81,7 µg/mL, realizando injeções em duplicata, para cada um dos cinco pontos da curva, sendo obtido um R^2 igual a 0,9997.

2.4.6 - Análise Quantitativa de Compostos Fenólicos Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais do óleo de semente de uva foi realizada conforme o método utilizado por Capannesi et al. (2000, p. 554). A quantificação dos polifenóis seguiu-se da seguinte forma: 2,5 g de óleo de uva foram

diluídos em 2,5 mL de hexano em um tubo de ensaio. Posteriormente, foram realizadas três extrações de 10 mL com metanol/água (80:20, v/v) por 3 minutos em um agitador do tipo vortex. Os três extratos foram misturados em um balão volumétrico, onde foram adicionados 2,5 mL do reagente de Folin Ciocalteau (0,5N) e 5 mL de carbonato de sódio (7,5%). O volume da mistura foi completado com água destilada até que se atingisse um total de 50 mL.

As amostras foram armazenadas, durante a noite, em temperatura ambiente. Em seguida, a absorção da amostra foi lida em um comprimento de onda de 765 nm no espectrofotômetro descrito na seção 2.4.2. A quantificação foi baseada numa curva de calibração, usando como padrão ácido gálico dissolvido em metanol, obtendo-se resultados em mg de ácido gálico/g de óleo.

A curva de calibração de ácido gálico diluído em metanol foi determinada a partir de seis pontos em duplicata, da seguinte forma: em um balão volumétrico de 50 mL foram adicionados 1 mL de uma solução padrão de ácido gálico, 6 mL de metanol, 2,5 mL de reagente de Folin Ciocalteau (0,5 N) e 5 mL de Na_2CO_3 7,5%, em seguida, o volume foi completado com água destilada. As soluções foram armazenadas durante uma noite e as análises espectrofotométricas foram realizadas em comprimento de onda de 765 nm. A faixa de concentração de ácido gálico utilizada para construção da curva padrão foi de 0,067 – 0,350 mg/ml, sendo obtido um R^2 igual a 0,9915.

3 – ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.1 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados obtidos para o índice de peróxidos (IP) nos três óleos avaliados estão expressos na tabela 4, onde se pode observar que as concentrações para as amostras IC e BO se encontravam acima do permitido pela legislação da FAO/WHO (2003).

TABELA 4 – ÍNDICE DE PERÓXIDOS PARA ÓLEOS SEMENTE DE UVA

Óleos	IP (meq/kg)	Legislação (FAO/WHO, 2003)
Isabel Convencional (IC)	23,8	
Bordo Orgânica (BO)	41,3	Máx. de 15,0 meq/kg
Isabel Orgânica (IO)	2,7	

Segundo Poiana et al. (2009, p. 50) as condições de estocagem das sementes de uva interferem tanto no grau de oxidação do óleo quanto no teor de antioxidantes. Os autores determinaram que em óleo de uva Merlot, cujas sementes foram expostas à luz do dia, durante 3 meses, em temperatura ambiente, o índice de peróxido foi de 20,84 meq/kg e após sete meses chegou a 31,12 meq/kg. As sementes, em condições de armazenamento controladas, 10°C e no escuro, durante 7 meses, originaram um óleo com índice de peróxidos inferior a 20 meq/kg.

Poiana et al. (2009, p. 50) concluem que o processo de oxidação nos primeiros meses de armazenamento foi mais afetado pela luz do que pela temperatura. Além disso, a oxidação dos óleos são retardadas, se as condições de armazenamento adequadas são escolhidas.

Tendo em vista os problemas de saúde relacionados à ingestão de peróxidos, os óleos IC e BO foram classificados como impróprios para consumo humano, descartando a necessidade de realizar demais análises físico-químicas. Por outro lado, o óleo IO apresentou um teor de peróxidos aceitável pela FAO/WHO (2003), portanto as demais análises físico-químicas foram realizadas apenas para tal óleo.

Os resultados de índice de acidez, índice de refração, índice de insaponificação e matéria volátil a 105°C para o óleo IO estão expressos na tabela 5. Todos os valores encontrados para cada análise físico-química do IO se encontram dentro dos parâmetros estipulados pela FAO/WHO (2003), o que o classifica como um óleo apropriado para consumo.

TABELA 5 – RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA O ÓLEO SEMENTE DE UVA ISABEL ORGÂNICA

Análises		Legislação (FAO/WHO, 2003)
Índice de Acidez (meq KOH/g)	2,5	Máx. de 4,0 meq KOH/g
Índice de Refração	1,470	1,467 - 1,477
Índice de Insaponificação (%)	0,5	Máx. de 2,0%
Matéria Volátil a 105°C (%)	0,17	Máx. de 0,20% (m/m)

A acidez livre de uma gordura decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, reação essa que é catalisada na presença de luz e calor. Sendo assim, o índice de acidez pode ser visto como uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e com as condições de conservação da gordura (MORETTO et al., 2002).

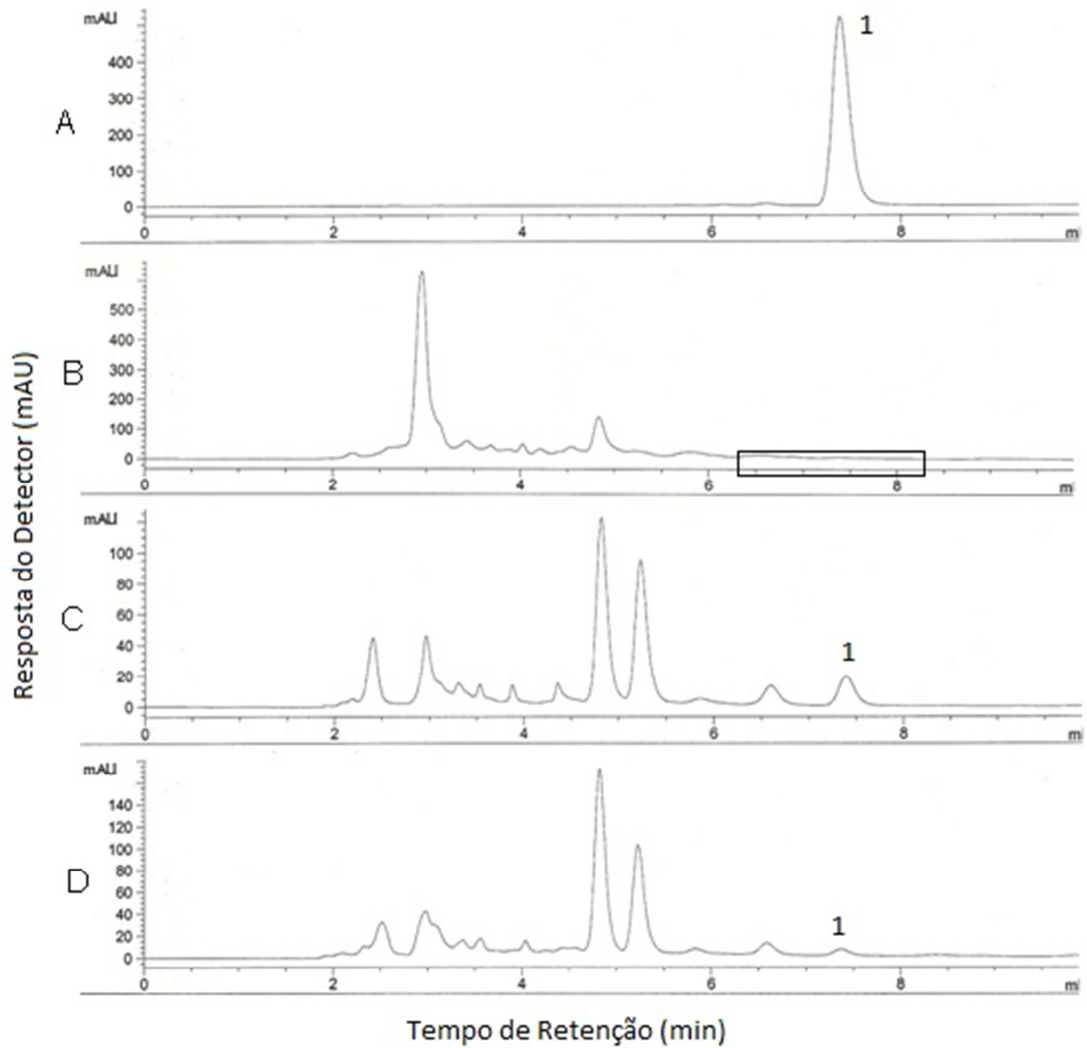
O índice de peróxidos é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras, pois a ingestão de peróxidos orgânicos, formados no início da rancificação dos óleos e gorduras, é prejudicial ao organismo humano (MORETTO et al., 2002).

Os óleos e as gorduras possuem poderes de refringência diferentes e, de acordo com sua natureza desviam, com maior ou menor intensidade, os raios luminosos que os atravessam. Assim, o índice de refração de uma gordura aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos. Portanto o índice de refração de óleos e gorduras é muito usado como critério de qualidade e identidade (MORETTO et al., 2002).

3.2 - CONTEÚDO DE VITAMINA E

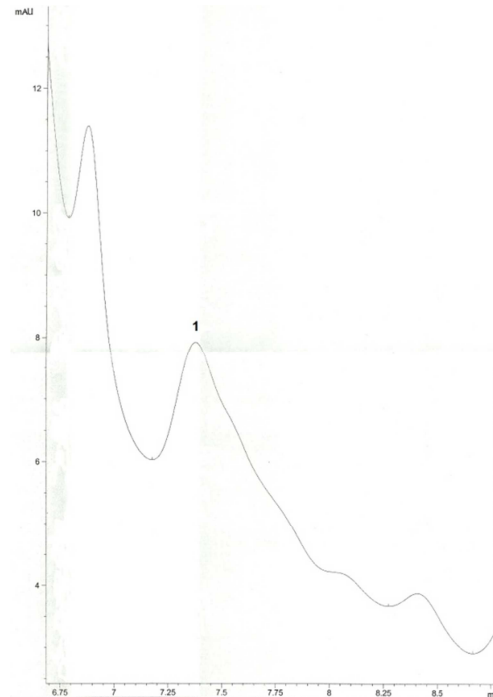
A figura 4 mostra os cromatogramas obtidos na análise de CLAE de vitamina E para as amostras de óleo IC, IO e BO. A vitamina E apresentou um tempo de retenção de 7,4 minutos e limites de detecção e quantificação de 0,09 e 0,17 µg/mL respectivamente. A figura 5 amplia o intervalo selecionado no cromatograma da amostra IC (figura 4, cromatograma B), a fim de facilitar a visualização do pico de vitamina E indicado pelo número um.

FIGURA 4 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA VITAMINA E NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA



Os picos identificados pelo número 1 representam as concentrações de vitamina E: A) Padrão de vitamina E, B) Isabel convencional, C) Isabel orgânica e D) Bordo orgânica.

FIGURA 5 – AMPLIAÇÃO DO CROMATOGRAMA DA AMOSTRA IC PARA VITAMINA E



A partir de uma análise de variância simples ($p > 0,05$), pode-se verificar diferença significativa entre os teores de vitamina E encontrados em cada óleo de semente de uva. A tabela 6 mostra as concentrações médias de vitamina E nos óleos de uva analisados.

TABELA 6 – TEORES MÉDIOS DE VITAMINA E NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SEMENTE DE UVA

Amostra	mg Vit. E / 100g de Óleo
Isabel Convencional (IC)	$0,037 \pm 0,001^c$
Isabel Orgânica (IO)	$0,429 \pm 0,019^a$
Bordo Orgânica (BO)	$0,115 \pm 0,011^b$

Letras diferentes nas colunas representam diferença estatística pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

O óleo que apresentou o maior nível de vitamina E, em sua composição, foi o óleo IO, apresentando uma concentração praticamente quatro vezes superior à concentração encontrada no óleo BO. Portanto pode-se observar a tendência da semente da cultivar Isabel ter maiores concentrações de vitamina E em seu óleo.

Foi encontrado também diferença nas concentrações de vitamina E nos óleos IC e IO, valores de 0,037 e 0,429 mg de vitamina E/100g de óleo, respectivamente. O óleo IO superou em onze vezes o óleo IC no teor de vitamina E.

Esses dois fatos mostram uma possível influência do tipo de agricultura na concentração de vitamina E, mostrando uma tendência de óleos de semente de uva orgânica apresentarem teores mais elevados de vitamina E em sua composição, quando comparados com óleos de uvas de agriculturas convencionais da mesma cultivar.

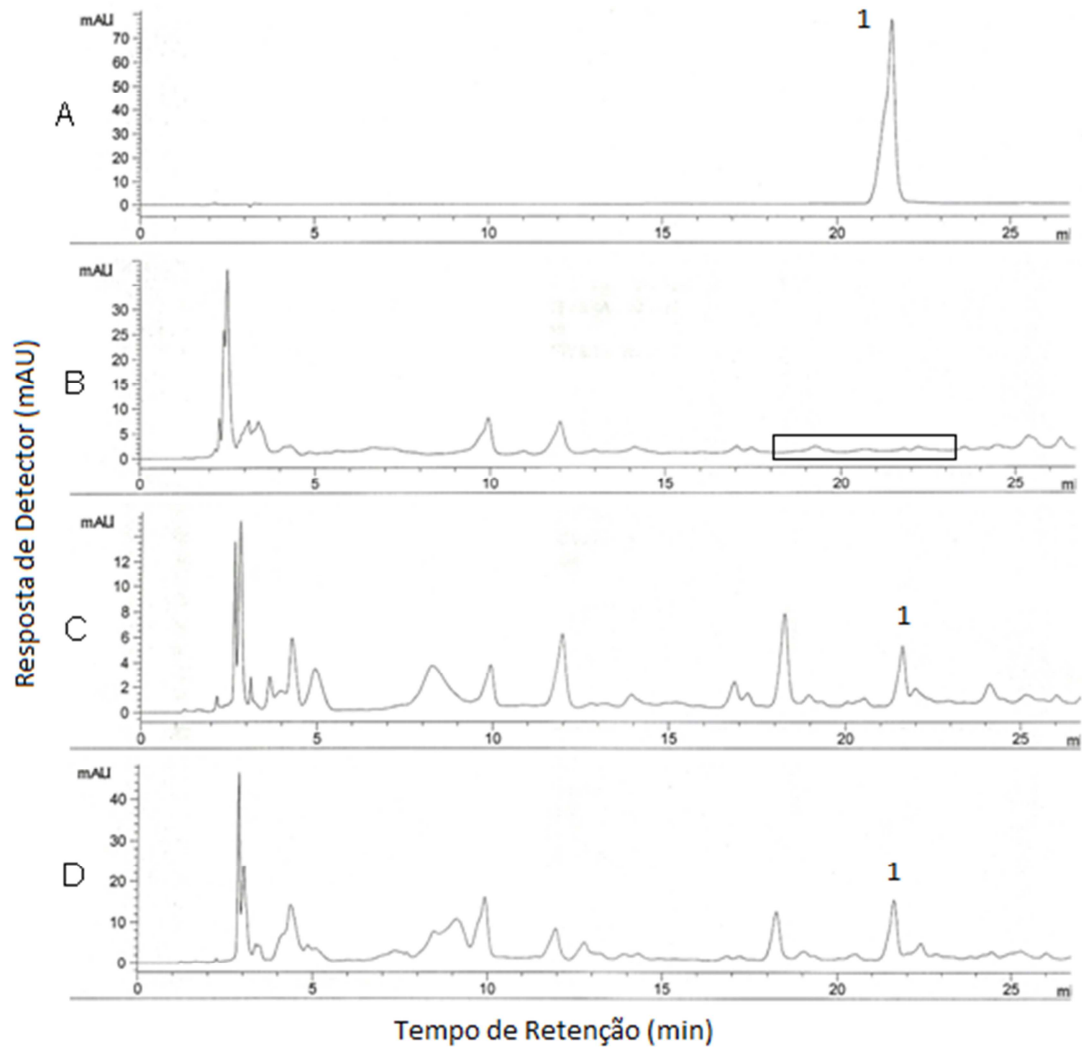
As concentrações de vitamina E encontradas nesse estudo estão de acordo com os valores mencionados na literatura. Freitas et al. (2008, p. 82) em seu estudo identificaram uma concentração de 0,12 mg de vitamina E/100g de óleo de semente de uva Isabel. Cerretani et al. (2010, p. 760) obtiveram uma concentração de 0,58 mg de vitamina E/100g de óleo de uva cuja cultivar não foi citada.

Schwartz et al. (2008, p. 154) analisaram o teor de vitamina E em alguns óleos vegetais, obtendo os seguintes resultados de concentrações de vitamina E: óleo de oliva 24 mg/100g, óleo de girassol 59 mg/100g, óleo de milho 18 mg/100g e óleo de linhaça 1,2 mg/100g. Portanto, a quantidade de vitamina E em óleo de uva é inferior às quantidades encontradas em outros óleos vegetais.

3.3 – CONTEÚDO DE *TRANS*-RESVERATROL

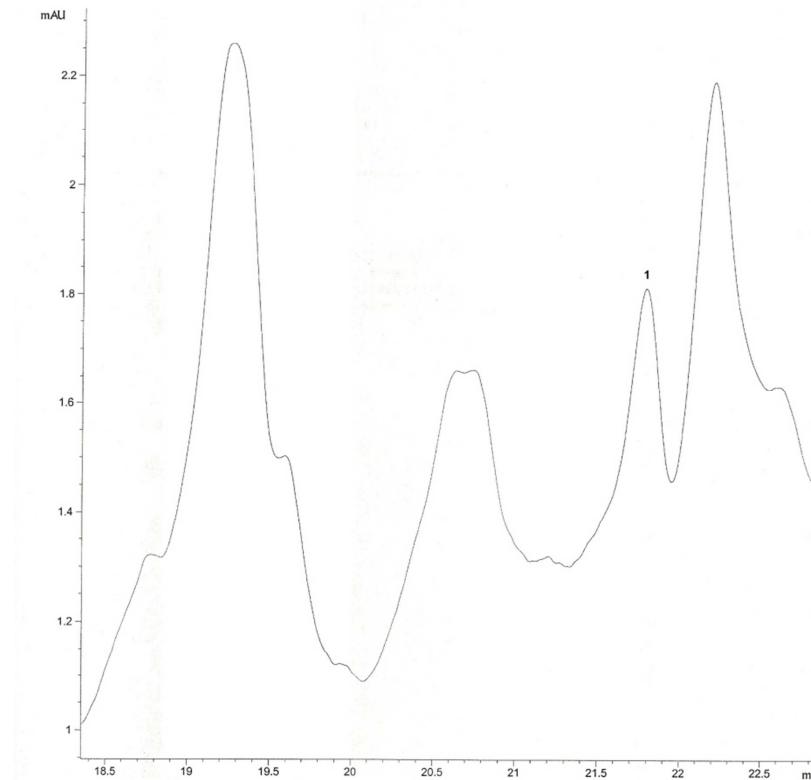
A figura 6 mostra os cromatogramas obtidos na análise de CLAE de *trans*-resveratrol para as amostras de óleo IC, IO e BO. O *trans*-resveratrol apresentou um tempo de retenção de 21,7 minutos e limites de detecção e quantificação de 0,36 – 0,71 µg/mL, respectivamente. A figura 7 amplia o intervalo selecionado no cromatograma da amostra IC (figura 6, cromatograma B), a fim de facilitar a visualização do pico de *trans*-resveratrol indicado pelo número um.

FIGURA 6 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA *TRANS*-RESVERATROL NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA



Os picos identificados pelo número 1 representam as concentrações de *trans*-resveratrol: A) padrão *trans*-resveratrol, B) Isabel convencional, C) Isabel orgânica e D) Bordo orgânica.

FIGURA 7 – AMPLIAÇÃO DO CROMATOGRAMA DA AMOSTRA IC PARA *TRANS-RESVERATROL*



Os resultados das análises de CLAE para teor de *trans-resveratrol* nas amostras de óleo de semente de uva estão expressos na tabela 7, onde verificou-se diferença estatística entre as amostras.

TABELA 7 – TEORES MÉDIOS DE *TRANS-RESVERATROL* NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA

Amostra	μg de <i>Trans-resveratrol</i> / 100g de Óleo
Isabel Convencional (IC)	$2,18 \pm 0,18^c$
Isabel Orgânica (IO)	$14,67 \pm 0,57^b$
Bordo Orgânica (BO)	$62,53 \pm 0,63^a$

Letras diferentes nas colunas representam diferença estatística pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

A amostra que apresentou a maior concentração de *trans-resveratrol* foi o óleo BO, que apresentou $62,53 \mu\text{g}$ de *trans-resveratrol*/100g de óleo. Na comparação entre cultivares o óleo oriundo de sementes de uva Bordo tende a ser mais rico em *trans-resveratrol* que o óleo de uva Isabel.

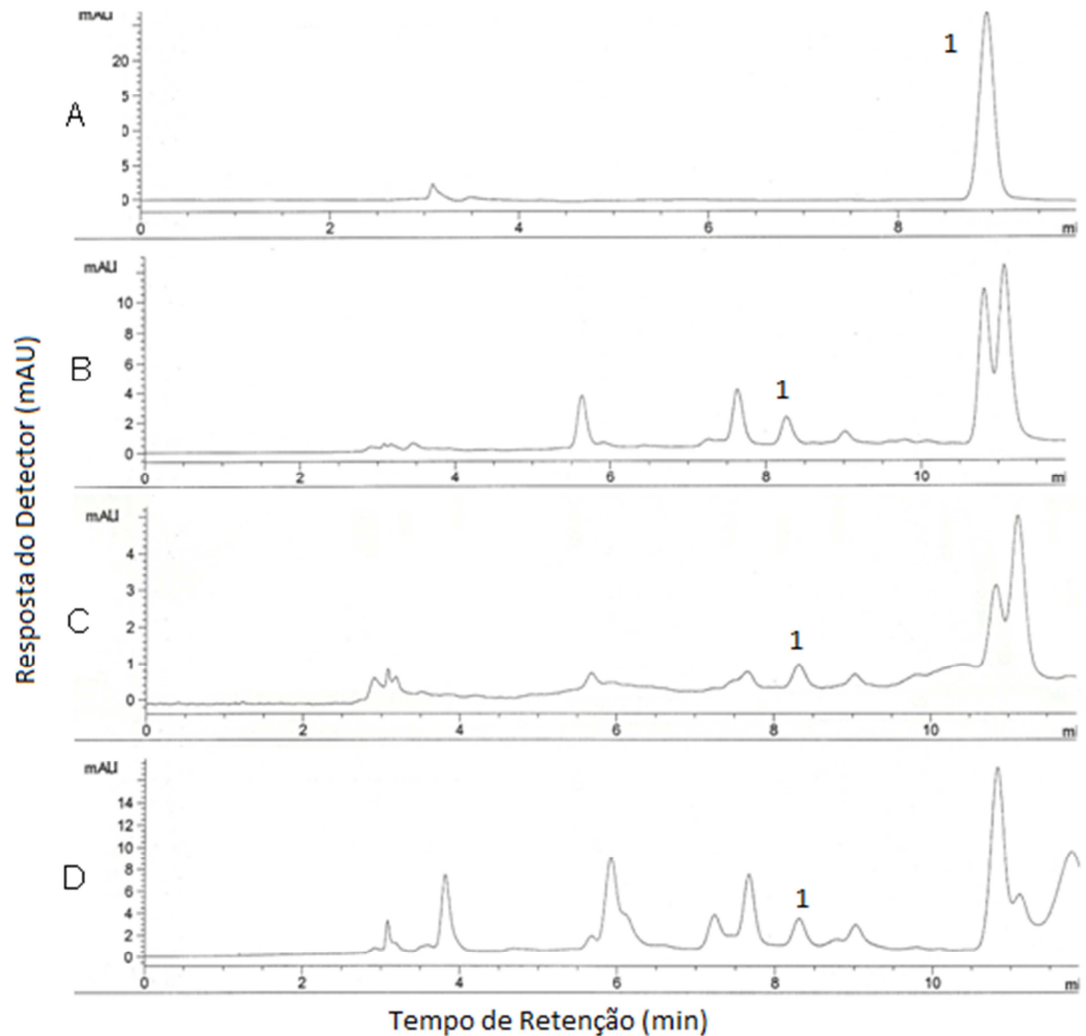
Ao comparar amostras de mesma cultivar, mas de diferentes tipos de agricultura, a amostra IO apresentou uma concentração de *trans*-resveratrol aproximadamente sete vezes superior ao nível de *trans*-resveratrol encontrado para o óleo IC. Assim constata-se uma tendência do óleo IO possuir uma maior concentração de *trans*-resveratrol em sua composição em relação ao óleo IC.

Ao analisar os valores de *trans*-resveratrol no óleo de semente de uva, pode-se perceber que apenas uma pequena fração do *trans*-resveratrol existente na semente de uva permanece no seu óleo extraído. Kammerer et al. (2004, p. 4365) afirmam que as sementes de uva da cultivar Weisser Riesling apresentam uma concentração de 1,42 mg/100g de matéria seca, ou seja, cerca de vinte e três vezes superior a concentração de *trans*-resveratrol encontrada no óleo de BO, óleo cuja concentração de *trans*-resveratrol foi a maior detectada. Sun et al. (2006, p. 382), em cultivares de uvas *Vitis vinifera*, encontraram um teor médio de *trans*-resveratrol de 6,8 mg/kg de matéria seca em suas sementes.

3.4 - CONTEÚDO DE CATEQUINA

A figura 8 mostra os cromatogramas obtidos na análise de CLAE de catequina para as amostras de óleo de IC, IO e BO. A catequina apresentou um tempo de retenção de 8,9 minutos e limites de detecção e quantificação de 1,40 – 2,80 µg/mL respectivamente.

FIGURA 8 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES DE CLAE PARA CATEQUINAS NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA



Os picos identificados pelo número 1 representam as concentrações de catequinas: A) padrão de catequina, B) Isabel convencional, C) Isabel orgânica e D) Bordo orgânica.

Os resultados das análises de CLAE para teor de catequina nas amostras de óleo de semente de uva estão expressos na tabela 8. Através de uma análise de variância simples, ($p > 0,05$), foi constatado que existe uma diferença estatística entre os teores médios de catequina nas amostras.

TABELA 8 – TEORES MÉDIOS DE CATEQUINA NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA

Amostra	mg Catequina / 100g de Óleo
Isabel Convencional (IC)	20,02 ± 0,78 ^b
Isabel Orgânica (IO)	10,48 ± 1,16 ^c
Bordo Orgânica (BO)	40,02 ± 2,11 ^a

Letras diferentes nas colunas representam diferença estatística pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

A amostra que apresentou a maior concentração de catequina foi o óleo BO, que apresentou aproximadamente 40,02 mg de catequina/100g de óleo. Na comparação entre cultivares o óleo oriundo de sementes de uva Bordo tende a ter um teor de catequina superior que o óleo de uva Isabel num mesmo tipo de agricultura.

Freitas (2007) avaliou a concentração de catequina em óleo de semente de uva Isabel convencional, e não detectou a presença de catequina em tal óleo.

Pacheco-Palencia, Mertens-Talcott e Talcott (2008, p. 4634) identificaram compostos fenólicos em óleo de açaí. O teor de catequina encontrado no óleo foi de aproximadamente 6,67 mg/100g. Outro óleo vegetal também foi analisado por Seneviratne e Dissanayake (2006, p. 600) que averiguaram a presença de catequina em óleo de coco tradicional, com um valor de 0,87 mg/kg de óleo. Ao analisar a tabela 8 pode-se sugerir que o óleo de uva é uma fonte mais rica de catequina quando comparada aos óleos de açaí e de coco.

Em relação ao efeito da agricultura sobre a concentração de catequina, pode-se notar que a amostra de IO apresentou uma concentração de catequina inferior ao nível encontrado para o óleo de IC.

3.5 – CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os conteúdos totais de compostos fenólicos identificados em cada amostra estão expressos na tabela 9. A análise de variância simples e o teste de diferença de médias de Duncan mostram que as amostras diferiram estatisticamente entre si quanto a estes teores.

O óleo BO obteve a maior concentração de compostos fenólicos em sua composição: 5,61 mg de ácido gálico/g de óleo. O teor de compostos fenólicos totais, no óleo IO, foi ligeiramente inferior ao óleo BO: 5,17 mg de ácido gálico/g de óleo.

TABELA 9 – QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS NAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE UVA

Amostra	mg Ácido de Gálico / g de Óleo
Isabel Convencional (IC)	2,85 ± 0,12 ^c
Isabel Orgânica (IO)	5,17 ± 0,20 ^b
Bordo Orgânica (BO)	5,61 ± 0,16 ^a

Letras diferentes nas colunas representam diferença estatística pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

A presença de compostos fenólicos no óleo IO foi relativamente superior a concentração no óleo IC. Esse fato pode ser relacionado ao tipo de agricultura.

Os valores de compostos fenólicos totais encontrados nos óleos de uva estudados, no presente trabalho, foram superiores aos valores encontrados na literatura. Bail et al. (2008, p.1130), em sua pesquisa, identificaram um óleo de uva, da cultivar *Cabernet Sauvignon*, extraído a frio, cuja concentração de compostos fenólicos totais foi de 0,115 mg de ácido gálico/g de óleo.

A quantidade de compostos fenólicos, em óleos de uva, mostrou-se bem superior às concentrações de compostos fenólicos totais em outros óleos vegetais. Segundo Cioffi et al. (2010, p.109) o óleo de oliva virgem apresenta um concentração de 0,35 mg/g, e ainda conforme Seneviratne e Dissanayake (2006, p. 597) o óleo de coco tradicional detém uma concentração de compostos fenólicos totais igual a 0,61 mg/g

4 - CONCLUSÃO

Este trabalho identificou a presença de alguns compostos antioxidantes em óleos de semente de uvas híbridas produzidas no Rio Grande do Sul.

Quanto à qualidade nutricional dos mesmos, os óleos IC e BO detinham uma grande concentração de peróxidos, não sendo aconselhada ingestão de tais óleos. O longo período de armazenamento das sementes de uva, em condições ambientes, é a provável causa identificada para os altos índices de peróxidos. A amostra IO apresentou valores adequados para todas as análises físico-químicas.

Quanto às cultivares, o óleo de uva Bordo apresentou as maiores concentrações de *trans*-resveratrol e catequina, em relação aos óleos de sementes de uva Isabel. Além disso, o óleo de sementes de uva Bordo também foi o que apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais.

No que diz respeito ao tipo de agricultura, o óleo de semente de uva IO obteve maiores concentrações de *trans*-resveratrol, vitamina E e compostos fenólicos totais que o óleo IC, ou seja, o óleo IO tende a ter maiores concentrações de compostos antioxidantes.

A concentração de vitamina E, no óleo de uva, é inferior às concentrações encontradas na maioria de outros óleos. Entretanto, o óleo de uva apresentou maiores teores de catequinas e compostos fenólicos totais.

BIBLIOGRAFIA

ARAIN, Mubashir Aslam e QADEER, Asma Abdul. Systematic Review on "Vitamin E and Prevention of Colorectal Cancer". **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 02, p. 125-130, abr 2010. Disponível em: <<http://www.pjps.pk>>. Acesso em: 21 junho 2010.

BAIL, Stefanie et al. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 108, n. 03, p. 1122–1132. jul (2008). Disponível em: <www.elsevier.com/locate/foodchem>. Acessado em 01 de nov. 2010.

BASILE, Daniel. Óleo de semente de uva. In: Alimentos e tecnologia. Rio de Janeiro n. 2 (1986), p. 19

BASTOS, Deborah H. M.; ROGERO, Marcelo M. e ARÊAS José Alfredo G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 05, jul 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 21 junho 2010.

BATISTA, Ellen Cristina da Silva; COSTA, Andre Gustavo Vasconcelos e PINHEIRO-SANT'ANA, Helena Maria. Adding vitamin E to foods: implications for the foods and for human health. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 05, p. 525-535, set-out 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 21 junho 2010.

BERMAN, K. e BRODATY, H. Tocopherol (vitamin E) in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. **CNS Drugs**, v. 18, n. 12, p. 807-825, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15377170>>. Acesso em: 21 junho 2010.

BLUM, Shany et al. Vitamin E Reduces Cardiovascular Disease in Individuals with Diabetes Mellitus and the Haptoglobin 2-2 Genotype. **Pharmacogenomics**, v. 11, n. 05, p. 675-684, mai 2010. Disponível em: <<http://www.medscape.com/viewarticle/722160>>. Acesso em: 21 junho 2010.

BORGUINI, Renata Galhardo. A opinião do consumidor sobre os alimentos orgânicos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 121, p. 26-33, jun. 2004.

CAPANESI, Cecilia et al. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. **Food Chemistry**, v. 71, n. 04, p. 553 – 562, dez 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>>. Acessado em 10 de Julho de 2010.

CARMAN, Sarah et al. Vitamin E intake and risk of esophageal and gastric cancers in the NIH-AARP Diet and Health Study. **International Journal of Cancer**, v. 125, n. 01, p. 165-170, 1 jul 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19326432>>. Acesso em: 21 junho 2010.

CASTILLO, J. et al. 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**, v. 48, n. 05, p. 1738–1745, 21 abr. 2000. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

CERRETANI, Lorenzo et al. Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils by Nanoliquid Chromatography with Ultraviolet-Visible Detection Using a Silica Monolithic Column. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 02, p. 757–761, nov 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org>>. Acessado em 01 de nov. 2010.

CHIRA, Kleopatra et al. Grape Variety Effect on Proanthocyanidin Composition and Sensory Perception of Skin and Seed Tannin Extracts from Bordeaux Wine Grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two Consecutive Vintages (2006 and 2007). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.02, p. 545–553, 23 dez. 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

CIOFFI, Giuseppina et al. Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. **Food Chemistry**, n. 121, v. 01, p. 105–111, jul 2010. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/foodchem>. Acessado em 01 de nov. 2010.

CLARKE, Michael W.; BURNETT, John R. e CROFT, Kevin D. Vitamin E in human health and disease. **Critical Reviews in Clinical Laboratory**, v. 45, n. 05, p. 417–450, set 2008. Disponível em: <<http://www.informaworld.com>>. Acesso em: 21 junho 2010.

COHEME, Helena M. e MURPHY, Michael P. Can antioxidants be effective therapeutics? **Current Opinion in Investigational Drugs**, v. 11, n. 04, p. 426-431, abr 2010. Disponível em: <<http://www.researchgate.net/journal>>. Acesso em: 21 junho 2010.

CODEx ALIMENTARIUS (FAO/WHO). Codex Standard for Named Vegetable Oils, STAN 210-1999. 13f (Alterado em 2003). Codex Alimentarius, Roma, Itália, 2003. Disponível em <http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp>. Acesso em: 20 abr. 2010.

COLOMBO, Maria Laura. An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol Perspectives. **Molecules**, v. 15, n. 04, p. 2103-2113, 24 mar 2010. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/molecules>. Acesso em: 21 junho 2010.

CREWS, Colin et al. Quantitation of the Main Constituents of Some Authentic Grape-Seed Oils of Different Origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.17, p. 6261–6265, 15 jul. 2006. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

DANI, Caroline et al. Antioxidant and Antigenotoxic Activities of Purple Grape Juice Organic and Conventional in Adult Rats. **Journal of Medicinal Food**. v.12, n.5, p.1111-1118, out. 2009. Disponível em <<http://www.liebertonline.com>>. Acesso em 16 de jun. 2010.

DANI, Caroline et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 12, p. 2574-2580, 28 jun. 2007. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17683842>>. Acesso em 16 de jun. 2010.

DEIANA, A.C. et al. Use of grape stalk, a waste of the viticulture industry, to obtain activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v.172, n.01, p. 13-19, 15 dez. 2009. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/jhazmat>>. Acesso em: 21 maio 2010.

DIPLOCK, AT. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention - An Overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 01, p. S189-S193, jan 1991. Disponível em: < <http://www.ajcn.org> >. Acesso em: 21 junho 2010.

FERREIRA, Magna Maria Macedo; OLIVEIRA, Adriano Henrique Cruz de e SANTOS, Nádia Souza dos. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 02, n. 02, p. 57-60, jul-dez, 2008. Disponível em: <<http://www.agroambiente.ufr.br>>. Acesso em: 21 maio 2010.

FERREIRA, Nilvia Daniele de Lima. Estudo de maracujás obtidos a partir da agricultura orgânica e com agroquímicos: Parte II - comparação físico-química. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.109, p.98-100, jun. 2003.

FONSECA, Maria Fernanda. Certificação de Sistemas de Produção e Processamento de Produtos Orgânicos de Origem Animal: História e Perspectivas. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.19, n.2, p.267-297, maio/ago. 2002. Disponível em <http://webnotes.sct.embrapa.br/pdf/cct/v19/cc19n2_05.pdf>. Acesso em 16 de mar. 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Top Production Grapes - 2007**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 21 maio 2010.

FREITAS, Lisiane dos Santos. **Desenvolvimento de procedimentos de Extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 205 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em < <http://www.bibliotecadigital.ufrgs.br>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

FREITAS, Lisiane dos Santos et al. Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1200, n. 01, p. 80-83, 18 jul. 2008. Disponível em: < www.sciencedirect.com>. Acesso em: 21 junho 2010.

FULEKI, Tibor e SILVA, Jorge M. Ricardo da. Catechin and Procyanidin Composition of Seeds from Grape Cultivars Grown in Ontario. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 04, p. 1156–1160, 17 abr. 1997. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

FULEKI, Tibor e SILVA, Jorge M. Ricardo da. Effects of Cultivar and Processing Method on the Contents of Catechins and Procyanidins in Grape Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 03, p. 640–646, 2003. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

GAZIANO, JM. Vitamin E and cardiovascular disease - Observational studies. **Vitamin E and Health**, v. 1031, p. 280-291, dez 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15753154>>. Acesso em: 21 junho 2010.

GIOVANNINI, Eduardo. Subprodutos da vinificação. In: **Curso de especialização por tutoria à distância**. Coordenação [de] Paulo Vitor Dutra de Souza et al. Brasília, DF: ABEAS, 1998-2001. 14v. v.11, p.58-63

HALLIWELL, Barry. Free-Radicals and Cardiovascular-Disease. **Saudi Medical Journal**, v. 12, n. 02, p. 84-90, mar 1991. Disponível em: <<http://www.smj.org.sa>>. Acesso em: 21 junho 2010.

HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ, Alberto et al. Grape Skin and Seed Proanthocyanidins from Monastrell x Syrah Grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10798–10803, 26 out. 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

IACOPINI, P. et al. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 08, p. 589-598, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/jfca>>. Acesso em: 21 maio 2010.

INTERNATIONAL FEDERATION ORGANIC AGRICULTURE MOVIMENT (IFOAM). Estados Unidos: IFOAM, 2009. Disponível em < <http://www.ifoam.org>>. Acesso em 20 de mar 2010.

KAMMERER, Dietmar et al. Polyphenol Screening of Pomace from Red and White Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.14, p. 4360-4367, 14 jul. 2004. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

KHAN, Mohd.Moshahid et al. Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of Parkinson's disease. **Brain Research**,v. 1328, p. 139-151, 30 abr. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com> >. Acesso em: 21 junho 2010.

KONTUSH, Anatol e SCHEKATOLINA, Svetlana. Vitamin E in neurodegenerative disorders - Alzheimer's disease. **Vitamin E and Health**, v. 1031, p. 249-262, dez 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16189282>>. Acesso em: 21 junho 2010.

KONTUSH, Anatol e SCHEKATOLINA, Svetlana. An update on using vitamin E in Alzheimer's disease. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v.03, n. 02, p. 261-271, fev 2008. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com>>. Acesso em: 21 junho 2010.

KURIBAYASHI, Masaaki et al. Vitamin E prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. **Acta Orthopaedica**, v. 81, n. 02, p. 206-212, abr 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20170436>>. Acesso em: 21 junho 2010.

LEE, I-Min et al. Vitamin E in the Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. **Journal of The American Medical Association**, v. 294, n. 01, p. 56-65, jul 2005. Disponível em: <<http://jama.ama-ssn.org/cgi/content/abstract/294/1/56>>. Acesso em: 21 junho 2010.

LLÓPIZ, Niurka et al. Antigenotoxic Effect of Grape Seed Procyanidin Extract in Fao Cells Submitted to Oxidative Stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 05, p. 1083–1087, 10 mar. 2004. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 junho 2010.

MAKRIS, Dimitris; BOSKOU, George; ANDRIKOPOULOS, Nikolaos. 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, n.2, p. 125-132, mar. 2007. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/jfca>>. Acesso em: 21 maio 2010.

MANFROI, Vitor. Elaboração de sucos de uva. In: **Curso de especialização por tutoria à distância**. Coordenação [de] Paulo Vitor Dutra de Souza et al. Brasília, DF: ABEAS, 1998-2001. 14v. Brasília: ABEAS, 1999. v.11, p.25-31

MARASCHIN, Renata dos Passos et al. BIOMASSA RESIDUAL PROVENIENTE DA INDÚSTRIA VITI-VINÍCOLA: Perspectivas de aproveitamento. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Florianópolis, v. 29, n. 05, p.142-145, nov-dez. 2002. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/edicoes/ed29.php>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

MELLO, Loiva Maria Ribeiro de. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2009. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2009. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/prodvit2009.pdf>>. Acesso em: 02 abr. 2010.

MENDES, Maycon Andrade e ARAÚJO, José Hilton Bernardino de. Transformação de Resíduos da Indústria Vinícola em Produtos de Interesse Comercial. In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA INTERDISCIPLINAR, I. 2006, Camboriú. Anais UFSC: 2006, p.1-43. Disponível em: <<http://www.seticac.ufsc.br>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

MORETTO, Eliane et al. Óleos e gorduras. In: MORETTO, Eliane et al. **Introdução à Ciência de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 2002. Cap. 4, p. 107-127.

NAKAMURA, Yumiko; TSUJI, Sumiko e TONOGAI, Yasuhide. Analysis of Proanthocyanidins in Grape Seed Extracts, Health Foods and Grape Seed Oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 01, p. 45-54, 2003. Disponível em: <<http://jhs.pharm.or.jp/>>. Acesso em: 21 junho 2010.

NATELLA, Fautá et al. Grape Seed Proanthocyanidins Prevent Plasma Postprandial Oxidative Stress in Humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7720–7725, 20 nov. 2002. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 junho 2010.

OBREQUE-SLIER, Elías et al. Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carmenere and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.06, p. 3591-3599, 17 fev. 2010. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

OSZMIANSKI, Jan e SAPIS, Jean C. Fractionation and Identification of Some Low Molecular Weight Grape Seed Phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.05, p. 1293–1297, set. 1989. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

PACHECO-PALENCIA, Lisbeth A.; MERTENS-TALCOTT, Susanne e TALCOTT, Stephen T. Chemical Composition, Antioxidant Properties, and Thermal Stability of a Phytochemical Enriched Oil from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 12, p. 4631–4636, abr 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org>>. Acessado em 01 de nov. 2010.

PHAM, DQ e PLAKOGIANNIS, R. Vitamin E supplementation in cardiovascular disease and cancer prevention: Part 1. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 39, n. 11, p. 1870-1878, nov 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16189282>>. Acesso em: 21 junho 2010.

POIANA, Mariana-Atena et al. The storage conditions impact on the oxidative stability and antioxidant properties of grape seed oil. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v. 07, n. 02, p. 50-53, abr 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>>. Acessado em 01 de nov. 2010.

PROTAS, José Fernando da Silva; CAMARGO, Umberto Almeida; MELLO, Loiva Maria Ribeiro de. **A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura>>. Acesso em: 03 abr. 2010.

PROTAS, José Fernando da Silva. **A produção de vinhos finos: um flash do desafio brasileiro**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/producao_vinhos_desafio.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2010.

PUIGGRÒS, Francesc et al. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6080–6086, 27 jul 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 junho 2010.

RABABAH, Taha M.; HETTIARACHCHY, Navam S. e HORAX, Ronny. Total Phenolics and Antioxidant Activities of Fenugreek, Green Tea, Black Tea, Grape Seed, Ginger, Rosemary, Gotu Kola, and Ginkgo Extracts, Vitamin E, and *tert*-Butylhydroquinone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5183–5186, 11 ago. 2004. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 junho 2010.

RAINWATER, David L. et al. Vitamin E dietary supplementation significantly affects multiple risk factors for cardiovascular disease in baboons. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86 n.03, p. 597-603, set 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17823422>>. Acesso em: 21 junho 2010.

RAYNE, Sierra; KARACABEY, Erkan; MAZZA, G.. Grape cane waste as a source of trans-resveratrol and trans-viniferin: High-value phytochemicals with medicinal and anti-phytopathogenic applications. **Industrial Crops and Products**, v.27, n.3, p. 335-340, maio 2008. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/indcrop>>. Acesso em: 21 maio 2010.

REVILLA, E.; BOURZEIX, M. e ALONSO, E. Analysis of Catechins and Proanthocyanidins in Grape Seeds by HPLC with Photodiode Array Detection. **Chromatographia**, v.31, n.9/10, p. 465-468, maio 1991. Disponível em: <<http://www.springerlink.com>>. Acesso em: 21 maio 2010.

RITSCHHEL, Patrícia; CIAMARGO, Umberto Almeida. **O Programa de Melhoramento de Uva e o Segmento de Sucos**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

RIVIÈRE, Céline et al. New stilbene dimers against amyloid fibril formation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 01, p. 3441–3443, 01 jun. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 21 junho 2010.

RIZZON, Luiz Antenor; MENEGUZZO, Júlio. **Suco de Uva**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 45 p.

ROSWALL, N. et al. Source-specific effects of micronutrients in lung cancer prevention. **Lung Cancer**, v. 67, n.03, p. 275-281, mar 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20004999>>. Acesso em: 21 junho 2010.

RUBIO, Manuela et al. Characterization of Oil Obtained from Grape Seeds Collected during Berry Development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.07, p. 2812-2815, 3 mar. 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 21 maio 2010.

SAREMI, Adonis e ARORA, Rohit. Vitamin E and cardiovascular disease. **American Journal of Therapeutics**, v.17, n. 03, p. E56-E65, maio-jun 2010. Disponível em: <<http://journals.lww.com/americantherapeutics>>. Acesso em: 21 junho 2010.

SCHWARTZ, Heidi et al. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 02, p. 152–161, mar 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>>. Acessado em 10 de nov de 2010.

SENEVIRATNE, Kapila N. e DISSANAYAKE, Dissanayake M. Sudarshana. Variation of phenolic content in coconut oil extracted by two conventional methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 04, p. 597–602, abr 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acessado em 01 de nov. 2010.

SINGH, U. e DEVARAJ, S. Vitamin E: Inflammation and atherosclerosis. **Vitamins and Hormones**, v. 76, p. 519-549, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17628188>>. Acesso em: 21 junho 2010.

SOARES, Márcia et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.01, Jaboticabal, p. 59-64 mar. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 21 maio 2010.

STRINGHETA. **Alimentos orgânicos: produção, tecnologia e certificação**. Viçosa: UFV, 2003.

SUN, Baoshan e SPRANGER, M. Isabel. Quantitative Extraction and Analysis of Grape and Wine Proanthocyanidins and Stilbenes. **Ciência Téc. Vitiv.** [online], Dois Portos, v. 20, n. 2, p.59-89, 2005. Disponível em <<http://www.scielo.oces.mctes.pt>>. Acesso em 15 de abr. de 2010.

SUN, Baoshan et al. Stilbenes: quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. **Analytica Chimica Acta**, v. 563, n. 01-02, p. 382–390, mar 2006. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/aca>. Acessado em 01 de nov. 2010.

TASIOULA-MARGARI, Maria; OKOGERI, Otu. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. **Food Chemistry**, Ioannina, v. 74, n. 03, p.377-383, 03 mar. 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 15 abr. 2010.

TURATTI, Jane Menegaldo. Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. **Óleos e Gãos**, v. 10, n. 56 (set./out. 2000), p.20-27

USDA (*United States Department of Agriculture*). **Relatório e recomendações sobre a agricultura orgânica**, Brasília: CNPq/Coord. Editorial, 1984 (Trad.Iara Maria Correia Della Senta).

USORO, Owoedimo B. e MOUSA, Shaker A. Vitamin E forms in Alzheimer's disease: a review of controversial and clinical experiences. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 05, p. 414-419, maio 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20373187>>. Acesso em: 21 junho 2010.

VIAN, MA et al. Comparison of the anthocyanin composition during ripening of Syrah grapes grown using organic or conventional agricultural practices. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5230-5235, 26 jul. 2006. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16848499>>. Acesso em 16 de jun. 2010.

WINTER, Carl K.; DAVIS, Sarah F. Organic Foods. **Journal of Food Science**, Chicago, p. R117-R124. 2006. Disponível em: <www.ift.org>. Acesso em: 20 mar. 2010.