

ENCAPSULAMENTO DA CASCA DA UVA ISABEL PARA APLICAÇÃO EM ESPUMANTE ROSE

ANNA CAROLYNA GOULART VIEIRA

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO CORPO DOCENTE DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM
CIÊNCIA DE ALIMENTOS DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS.

Orientadores:

Prof^a. Maria Helena Miguez da Rocha Leão, D. Sc.

Dr. Alexandre Malta Rossi, D. Sc.

**INSTITUTO DE QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
2014**

ENCAPSULAMENTO DA CASCA DA UVA ISABEL PARA APLICAÇÃO EM ESPUMANTE ROSE

Anna Carolyna Goulart Vieira

Dissertação submetida ao corpo docente do curso de pós-graduação em Ciência de Alimentos do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em ciências.

Aprovada por:

Orientadores

Profa. Maria Helena Miguez da Rocha Leão, D. Sc.

Profa. Alexandre Malta Rossi, D.Sc.

Banca Examinadora

Profa. Anna Paola Trindade Rocha Pierucci, D.Sc.

D. Sc. Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana.

Rio de Janeiro, R.J. - Brasil

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

V657e Vieira, Anna Carolyna Goulart
Encapsulamento da casca da uva isabel para
aplicação em espumante rose / Anna Carolyna
Goulart Vieira. -- Rio de Janeiro, 2014.
83 f.

Orientadora: Maria Helena Miguez da Rocha Leão.
Coorientador: Alexandre Malta Rossi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal
do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa
de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2014.

1. encapsulação. 2. resíduo. 3. gelificação
ionotrópica. 4. casca da uva . 5. isabel. I. Rocha
Leão, Maria Helena Miguez da, orient. II. Rossi,
Alexandre Malta, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus amados
Pais,
Ana e Rogério por todos os sacrifícios
feitos para que este momento fosse possível e
ao apoio irrestrito do meu grande amor David*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, ao doador da vida, Deus, por ter me concedido saúde, força e perseverança para trilhar e vencer em mais esta etapa de minha vida.

Aos meus pais Rogério Vieira da Silva e Ana Maria Goulart Vieira, os quais são responsáveis pela minha existência, por todo amor e trabalho concedido além de serem referência em padrões éticos e morais. Além de me ensinarem e se esforçarem por tudo aquilo que sou hoje.

À minha família pelo apoio, força, incentivo e carinho em toda a minha caminhada. Em especial às minhas queridas irmã Anna Clara Goulart Vieira e avó Anna Cecília Lopes da Silveira. Aos meus avós (*in memoriam*), Rogério Jorge Goulart da Silveira e Estephania de Aquino Lopes, os quais me deram apoio e com certeza torcem por mim de onde estiverem.

Ao meu marido e amor da minha vida David Sodré da Silva Ferreira, que ficou ao meu lado em todos os momentos difíceis, sem o qual nada disso seria possível.

Ao meu tio do coração Marcos Fornerolli que mesmo com todo o agravamento de sua doença sempre teve uma palavra de incentivo e lembrava de mim em suas orações.

Ao meu tio Álvaro Goulart pelo apoio incondicional ao longo da minha vida e por sempre me elogiar fazendo com que eu me sinta sempre especial e aos meus primos Arthur e Júnior pela ajuda na obra no meu apartamento. Pois, sem essa ajuda ou eu ficava sem casa ou sem concluir o Mestrado.

Às minhas grandes e queridas amigas Marianna Rocha, Bárbara Dutra, Luisa Fernandes, Domethila Aguiar e Monique Costa pelo incentivo, pela ajuda em todos os sentidos e por me jogar para cima nos momentos em que tudo parecia desmoronar. Em especial à Cecília França que me incentivou a fazer a prova de seleção do Mestrado e cursou diversas disciplinas comigo junto com o nosso amigo Genilton.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por minha formação e pelo apoio neste projeto.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a. Maria Helena, pela dedicação, disponibilidade, confiança, presteza e boa vontade com as quais sempre se apresentou, permitindo que este trabalho fosse realizado. Obrigada pela sua preocupação com a minha formação profissional incentivando sempre o aperfeiçoamento, estudo diário e a busca incessante por conhecimento de diversos saberes.

Ao meu orientador Prof. Alexandre Rossi, por ter aceitado o desafio de orientar uma Nutricionista/ Gastrônoma, por sempre estar disposto a me ajudar, interessado em ouvir minhas idéias, sendo um grande incentivador desse projeto e estando sempre muito solícito criando um ambiente de harmonia para a execução do trabalho.

À Pós Doutora Gizelle pelos ensinamentos, por me ajudar, co-orientar, incentivar o meu trabalho a todo o momento, mesmo quando os resultados não estavam de acordo com o esperado e principalmente pela amizade.

À professora Maria Alice por disponibilizar toda a infraestrutura do BIOSE para realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Biomateriais do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas pela realização das análises de difração de raios X, em especial a Silvia pela prontidão em ajudar.

Ao professor Alexandre Guedes do Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, por ter permitido o uso das instalações de seu laboratório para as análises de compostos fenólicos e antocianinas.

À aluna de Doutorado Ellen pela amizade, disponibilidade e por me ensinar a quantificar os compostos fenólicos e as antocianinas.

Ao aluno de Doutorado Marcelo Tanaka que me ajudou com as análises de microscopia eletrônica de varredura.

Ao professor Eduardo Ricci do Laboratório de desenvolvimento galênico da Faculdade de Farmácia da UFRJ, por ter me ajudado nas análises de digestão *in vitro* no dissolutor. Agradeço pelos ensinamentos transmitidos e pela amizade.

À turma do laboratório 103: Fernanda, Etel, Verônica, Rose, Ariane, Mariana, Naíra, Vanessa, Raísa e todos os outros que freqüentaram o laboratório do BIOSE, pela ajuda e amizade.

Ao apoio financeiro da CAPES.

À todos os meus amigos, que direta ou indiretamente participaram de minhas alegrias e tristezas, durante toda esta caminhada tão importante para mim.

*“Não basta saber, é preciso também aplicar;
não basta querer, é preciso também agir.”*

Goethe

Resumo da proposta de pesquisa apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IQ/UFRJ) como parte integrante da dissertação de Mestrado.

VIEIRA, Anna Carolyn Goulart. **Encapsulamento da casca da uva Isabel para aplicação em espumante rose**. Rio de Janeiro, 2014. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

As indústrias que processam a uva no Brasil são na sua maioria vinícolas que consideram o bagaço (cascas e sementes) de uva como subproduto. Apesar de se tratar de um resíduo biodegradável, o acúmulo deste produto pode se tornar um sério problema ambiental. A importância em reutilizar o bagaço deve-se ao fato de seu conteúdo ser rico em compostos fenólicos, antioxidantes, antocianinas e corantes. A proposta deste trabalho foi otimizar o encapsulamento do resíduo do processamento agroindustrial da uva isabel para aplicação das pérolas em espumante rosê. As pérolas foram preparadas por gotejamento da solução de alginato e do resíduo do processamento agroindustrial da uva isabel (*Vitis labrusca*) em solução de CaCl_2 . Para a otimização, foi realizado um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , variando as concentrações de alginato, resíduo do processamento agroindustrial da uva isabel, CaCl_2 e tempo de complexação. Os dados indicam que o grau de erosão das esferas liofilizadas variou de 20,3 à 63,7 e das esferas secas na estufa foi 24,3 à 62,8%, com os diferentes níveis das variáveis independentes. O grau de intumescimento variou de 224,4 à 436,6% nas esferas liofilizadas na e de 119,2 à 261,8% nas esferas secas na estufa, também com os diferentes níveis das variáveis independentes. De acordo com o diagrama de Pareto, confirmou-se que a variável com maior efeito sobre o grau de intumescimento foi a concentração de alginato. O efeito da concentração de alginato é negativo, indicando que níveis maiores de alginato levariam ao menor grau de intumescimento. O resultado da análise estatística mostrou que a variável com maior efeito sobre o grau de erosão foi a concentração de CaCl_2 , seguido pelo tempo de complexação, tendo ambas efeito positivo. Indicando que maiores níveis de CaCl_2 e de tempo de complexação levariam a maiores porcentagens de grau de erosão. O mesmo efeito é encontrado no grau de erosão do encapsulado liofilizado. O tempo de sedimentação foi outro parâmetro a ser analisado. Dentre as esferas secas na estufa o maior tempo de sedimentação foi de 2,99 segundos e o menor de 1,10 segundos. Analisando as esferas secas pelo método de liofilização encontramos sedimentação a partir do sétimo dia. Verificou-se que durante 120 min em fluido gástrico, as esferas apresentaram-se estáveis, enquanto que em fluido entérico, foi observada total degradação. Em microscópio eletrônico de varredura, foi verificado a análise morfológica do encapsulamento, em que foram encontrados formatos próximos ao esférico. De acordo com a difração de raios X a encapsulação foi um sucesso, pois o resultado apresentou a diminuição dos picos indicando que o material era bastante amorfo. Assim, o presente trabalho otimizou e caracterizou o encapsulamento da farinha da casca da uva em matriz de alginato, obtendo um produto tecnológico com possibilidade de aplicação futura em alimentos com alegação funcional, por uso de suas características nutricionais.

Abstract of the research proposition presented to the Instituto de Química of the Universidade Federal do Rio de Janeiro (IQ/UFRJ) as one of the requirements to fulfill the Mestrado.

The industries that process the grapes in Brazil are mostly wineries that consider the pomace (skins and seeds) grape as a byproduct. Although this is a biodegradable waste, the accumulation of this product can become a serious environmental problem. The importance of reuse in the pulp due to the fact that its content is rich in phenolic compounds, antioxidants, colorants and anthocyanins. The purpose of this study was to optimize the encapsulation of the residue of the agroindustrial processing isabel grape application of pearls sparkling rosé. The beads were prepared by dropping the alginate solution and the residue of the agro-industrial processing of Isabel grape (*Vitis labrusca*) in CaCl_2 solution. For the optimization, we performed a fractional factorial design 24-1, varying the alginate concentrations, the agro-industrial waste processing Isabel grape, CaCl_2 and complexation time. The data indicate that the degree of erosion of lyophilized pellets ranged from 20.3 to 63.7 and the oven dried spheres was 24.3 to 62.8%, with different levels of independent variables. The degree of swelling ranged from 224.4 to 436.6% in the lyophilized pellets and 119.2 to 261.8% in the dry balls in the greenhouse, also with the different levels of the independent variables. In accordance with the Pareto diagram, it is confirmed that the variable with the largest effect on the degree of swelling was the concentration of alginate. The effects of the alginate concentration is negative, indicating that higher levels of alginate would lead to a lower degree of swelling. The result of the statistical analysis showed that the variable with the largest effect on the degree of erosion was the concentration of CaCl_2 , followed by complexation time, having both positive effect. Indicating that higher levels of CaCl_2 and complexing of time would lead to higher degree of erosion percentages. The same effect is found in the degree of erosion of the encapsulated freeze dried. The settling time was another parameter to be analyzed. Among the dried spheres in the oven as long sedimentation was 2.99 seconds, and the lowest of 1.10 seconds. Analyzing the dried spheres by lyophilization method found sedimentation from the seventh day. It was found that for 120 min in gastric fluid, the beads were stable, while in enteric fluid, the total degradation was observed. In a scanning electron microscope, it was found the morphological analysis of encapsulation, in which were found near spherical shapes. According to X-ray diffraction encapsulation was successful, because the result was a decrease in peak indicating that the material was quite amorphous. The present work

optimized and characterized the encapsulation of flour grape skins in alginate matrix, obtaining a technological product with the possibility of future application in foods with functional claim, for use of their nutritional characteristics.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE TABELAS.....	xv
ÍNDICE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xvi
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – OBJETIVO.....	3
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1) A uva	4
3.2) A beleza como valor agregado e o mercado gastronômico de luxo	6
3.3) A importância da sustentabilidade no panorama mundial	9
3.4) Histórico da encapsulação	10
3.5) Alginato	14
3.6) Fatores que interferem na concentração de compostos fenólicos	17
3.7) O vinho e a saúde	19
4 –MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. Materiais.....	24
4.2. Equipamentos.....	24
4.3. Obtenção da farinha	25
4.4. Encapsulamento do bagaço da uva	26
4.5. Otimização do grau de erosão e de intumescimento das pérolas	26

4.6. Análise de composição centesimal	27
4.7. Análise de compostos bioativos e atividade antioxidante	28
<i>4.7.1) Análise de compostos fenólicos totais</i>	<i>28</i>
<i>4.7.2) Análise de antocianinas totais</i>	<i>28</i>
<i>4.7.3) Análise de FRAP E TEAC</i>	<i>29</i>
4.8. Análise do tempo de desintegração das pérolas no suco gástrico	30
4.9. Caracterização das pérolas.....	31
<i>4.9.1) Estudo de intumescimento das pérolas</i>	<i>31</i>
<i>4.9.2) Estudo do grau de erosão (GE) das matrizes</i>	<i>32</i>
<i>4.9.3) Tempo de sedimentação</i>	<i>33</i>
<i>4.9.4) Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	<i>33</i>
<i>4.9.5) Difração de raios X</i>	<i>33</i>
<i>4.9.6) Tamanho das esferas</i>	<i>33</i>
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1. Otimização do grau de erosão e de intumescimento das pérolas	34
5.2. Análise da composição centesimal	40
5.3) Análise de compostos bioativos	42
<i>5.3.1) Análise de compostos fenólicos totais e antocianinas</i>	<i>42</i>
<i>5.3.2) Análise de FRAP E TEAC</i>	<i>43</i>
5.4. Análise do tempo de desintegração das pérolas no suco gástrico	44
5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura	45
5.6) Difração de Raio X	48
5.7) Tamanho das pérolas	51

6 – CONCLUSÕES	52
7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	53
PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	54
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 3.1. Uva Isabel	5
FIGURA 3.2 - Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz (microsfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas (ARSHADY, 1993; GIBBS,1999).	11
Figura 3.3: Ácido manurónico (M) e ácido gulurónico (G). Fonte: Alginate Industry Co., Ltd.	14
Figura 3.4: Modelo de “egg-box” do processo de gelificação do Alginato (Calvo, 2011)	16
Figura 3.5. Esquema representativo do método de microencapsulação baseado na propriedade de gelificação do alginato em presença cátions di e trivalentes. (FINOTELLI, 2006)	17
Figura 3.6. Representação esquemática das diferentes classes de compostos fenólicos. Fonte: Adaptação de Guerra e Barnabé (2005).	21
Figura 5.1. Fotografia das pérolas úmida logo após a produção (a), após a secagem a 37°C na estufa (b) e após a secagem no liofilizador	38
Figura 5.2. Fotografia das pérolas após imersão por quatro semanas no espumante, esfera previamente submetida a secagem na estufa (a) e a do liofilizador (b)	38
Figura 5.3. Diagrama de Pareto para o grau de intumescimento (A) e grau de erosão (B) do encapsulado liofilizado de cada variável do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1}	39
Figura 5.4. Diagrama de Pareto para o grau de intumescimento (A) e grau de erosão (B) do encapsulado seco na estufa de cada variável do planejamento	40

fatorial facionado 2^{4-1}

Figura 5.5. Correlação entre o conteúdo total de fenólicos e o poder redutor pelo método FRAP	45
Figura 5.6: Micrografia da amostra submetida ao processo da estufa	47
Figura 5.7: Micrografia das amostras submetidas ao processo de liofilização	47
Figura 5.8: Micrografia da amostra úmida “fresca”	48
Figura 5.9: Micrografia da amostra liofilizada após 4 semanas no espumante	49
Figura 5.10: Micrografia da amostra submetida ao processo da estufa após 4 semanas no espumante	49
Figura 5.11: DRX do alginato	50
Figura 5.12: DRX do pó da casca da uva	51
Figura 5.13: DRX das pérolas liofilizada e seca na estufa	51

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 4.1. Fatores e níveis a serem analisados no planejamento experimental 2^{4-1}	27
Tabela 4.7 – pH fisiológico a serem considerados nos testes de dissolução	31
Tabela 5.1. Experimentos gerados pelo software Statística 7.0 para o planejamento fracionado do encapsulado liofilizado.	36
Tabela 5.2. Experimentos gerados pelo software Statística 7.0 para o planejamento fracionado do encapsulado seco na estufa.	37
Tabela 5.3: Composição centesimal do pó da casca da uva Isabel	41
Tabela 5.4: Composição centesimal da farinha elaborada com o resíduo do processamento do suco da uva Isabel (DCA /UFLA 2010)	41
Tabela 5.5: Tamanho médio e desvio-padrão das pérolas úmida logo após a produção (a), após a secagem a 37°C na estufa (b) e após a secagem no liofilizador	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL alginato

AOAC Association of Official Analytical Chemistry

AVC acidente vascular cerebral

Ca⁺² - íons cálcio

CaCl₂ Cloreto de cálcio

CBPF Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas

DAC doença arterial coronária

DRX Difração de raios X

EUA Estados Unidos da América

FAO Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

Fe²⁺ íon ferroso

Fe³⁺ íon férrico

FRAP Fluorescence recovery after photobleaching

GI Grau de Intumescimento

GE Grau de erosão

HDL Lipoproteína humana de alta-densidade

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Labcbrom Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico

LDL Lipoproteína humana de baixa-densidade

MEV Microscopia eletrônica de varredura

NCR National Cash Register Corporation

OIV Organização Internacional da Vinha e do Vinho

OMS Organização mundial da saúde

TPTZ tripiridiltriazina

TEAC Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

UFRJ Universidade Federal do Rio de Janeiro

USP Farmacopéia dos Estados Unidos

1- INTRODUÇÃO

Atualmente a crescente preocupação da população com questões relacionadas à saúde tem desencadeado no desenvolvimento contínuo de novos produtos com propriedades funcionais, os quais possuem compostos com potencial para retardar o estabelecimento de doenças e, com isso, melhorar a qualidade e a expectativa de vida ao promover a saúde (SGARBIERI,1999). No que tange compostos com propriedades funcionais, em destaque aparecem os antioxidantes, os quais ajudam a combater o estresse oxidativo, que está associado ao aumento da incidência de câncer e outras doenças degenerativas (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000).

A uva é uma importante fonte de compostos fenólicos e antocianinas, no entanto, a quantidade e a composição destes compostos variam de acordo com a espécie, variedade, maturidade, tipo de cultivo e condições climáticas (Rizzon *et al.*, 1998).

No Brasil as indústrias que processam a uva são em sua maioria vinícolas, as quais consideram o bagaço da uva como subproduto. Dados da indústria mostram que para 100 litros de vinho produzido geram-se 31,7 kg de resíduos, dos quais 20 kg são de bagaço (CAMPOS, 2005). Esses resíduos agroindustriais apresentam uma larga variedade de espécies biologicamente ativas que são desperdiçadas. Estima-se que, após o processamento das indústrias vinícolas, cerca de 13% do peso total das uvas sejam descartados (CATANEO *et al.*, 2008).

Apesar de se tratar de um resíduo biodegradável, o acúmulo deste pode acarretar um sério problema ambiental, uma vez que precisa de um tempo mínimo para ser mineralizado (CATANEO, 2008). Desta forma, é de suma importância o estudo de formas de reaproveitamento pela indústria.

Os compostos fenólicos presentes na casca da uva atuam como antioxidantes naturais, além de serem compostos alternativos com finalidade de evitar a deterioração oxidativa dos alimentos, também podem exercer um importante papel fisiológico, minimizando os danos oxidativos no organismo animal (BLOCK, 1992; SANT'ANA; MANCINI FILHO, 1999; MELO; GUERRA, 2002.). Segundo estudos, os compostos fenólicos encontrados em uvas e vinhos tintos podem inibir a oxidação *in vitro* da lipoproteína humana de baixa-densidade (LDL) (FRANKEL;

WATERHOUSE; TEISSEDRE, 1995), assim como seu uso na prevenção de aterosclerose (KOVAC; PEKIC, 1991).

A maioria dos compostos fenólicos se encontram classificados em dois principais grupos: os ácidos carboxílicos fenólicos e os flavonóides, sendo os flavonóides derivados do 2-fenilbenzopireno e classificados como o grupo mais importante (BITSCH, 1996).

O resíduo da indústria vitivinícola é utilizado como ração animal ou como adubo de vinhedos, mas uma grande quantidade ainda é desperdiçada. A importância em se reutilizar o bagaço deve-se ao fato do seu conteúdo ser rico em compostos fenólicos, antioxidantes, antocianinas e corantes, dentre outros com atividades fitoterápicas, os quais são de suma importância para as indústrias farmacêutica, alimentícia e de cosméticos (Rockenbach *et al.*, 2011).

Valduga *et al.* (2008) determinaram, no resíduo da indústria vinícola, a concentração máxima de antocianinas totais e encontraram um valor de 300 mg de cianidina 3-glicosídeo/100 g de bagaço de uva 'Isabel'. Portanto, devido à presença de compostos antociânicos no bagaço de uva, este resíduo pode ter um destino mais nobre, representando uma alternativa para a elaboração de corantes naturais.

Desta forma, esse projeto consiste no desenvolvimento de microesferas do resíduo do processamento agroindustrial da uva Isabel (*Vitis Labrusca*), as quais estarão denominadas como pérolas. Em que, o intuito é reduzir a problemática de descarte de resíduos da agroindústria vitivinícola e o aproveitamento desse resíduo para a confecção de um produto de luxo com alto valor agregado.

2 - OBJETIVO

Objetivo geral

- ✓ Produzir o encapsulado de alginato contendo a farinha da casca da uva para aplicação em espumante rose.

Objetivo específico

- ✓ Otimizar a produção;
- ✓ Conferir um visual diferente e atrativo ao espumante, por meio do encapsulado;
- ✓ Caracterizar as pérolas de casca de uva com relação à morfologia e tamanho;
- ✓ Determinar o grau de intumescimento, erosão das pérolas e tempo de sedimentação;
- ✓ Quantificar a composição de compostos fenólicos na farinha da casca da uva;
- ✓ Avaliar o tempo de desintegração das pérolas no suco gástrico e entérico.

O trabalho está estruturado em quatro partes básicas:

A primeira parte apresenta a revisão bibliográfica, como forma de embasamento aos objetivos propostos neste capítulo, procurando fornecer base teórica bem como os resultados obtidos na literatura referentes ao tema deste trabalho. A segunda parte apresenta os materiais e métodos utilizados para alcançar os objetivos propostos. Na terceira parte são apresentados os resultados e as discussões. Para finalizar, conclusões e sugestões para trabalhos futuros, são apresentados na quarta parte.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1) A uva

A vitivinicultura brasileira ocupou no cenário internacional, em 2011, o 19º lugar em área cultivada com uvas, o 11º em produção de uvas e o 13º em produção de vinhos, segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). No que se refere às transações internacionais, dados da mesma fonte revelam as seguintes posições do Brasil, para o ano de 2010, em relação às quantidades: 14º colocado em uvas exportadas, 17º maior exportador de suco de uvas, 31º exportador de vinho, 32º importador de uvas e 21º importador de vinhos.

No Brasil, as uvas são cultivadas desde o Rio Grande do Sul até o Vale do Rio São Francisco. Em 2013, a produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 830,92 milhões de kg, representando 57,07% da produção nacional. O restante da produção (42,93%) foi destinado ao consumo *in natura* (IBGE, 2013).

De acordo com dados estatísticos disponíveis no portal do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), houve, em 2013, aumento de 1,9% na produção de uvas no Brasil, em relação ao ano de 2012. O maior aumento da produção ocorreu no Estado do Paraná (43,9%). Também ocorreu aumento de produção nos Estados do Rio Grande do Sul (1,2%), Minas Gerais (1,8%) e de São Paulo (0,2%). Nos Estados de Santa Catarina e Bahia, houve redução da produção de uvas de 4,5% e 4%, respectivamente, em relação ao ano de 2012. No Estado de Pernambuco não houve alteração significativa.

Fruto da videira ou vinha, a uva possui a seguinte classificação botânica (MACRAE et al., 1993):

- Ordem: Ramnidea
- Família: Vitacea
- Sub-família: Ampelidea
- Gênero: Vitis
- Sub-gênero: Euvitis

- Espécies: *Vitis vinífera*, *Vitis labrusca*, *Vitis rupestres*, *Vitis aestivalis*, *Vitis riparia*, *Vitis cinérea*, *Vitis rotundifolia*.



Figura 3.1. Uva Isabel

Cada uma das espécies possui diferentes variedades, denominadas cepas ou castas. As espécies *vinífera* e *labrusca* são as mais cultivadas, seja para produção de vinhos ou para consumo na sua forma natural.

Uma das principais cultivares de *Vitis labrusca* é uva ‘Isabel’, espécie originária do Sul dos Estados Unidos. Despertou interesse dos viticultores europeus devido à resistência ao oídio, doença que na década de 1850 causava enorme prejuízo à viticultura mundial (Grigoletti Jr. & Sônego, 1993).

No Brasil foi introduzida, mais precisamente no Rio Grande do Sul entre 1839 e 1842 por Thomas Maister, na Ilha dos Marinheiros e atualmente representa aproximadamente 40% de toda a uva produzida na região. É uma espécie de videira que produz uvas para consumo in natura, produção de vinho tinto comum, suco de uva, vinagre e geléias (Zanuz, 2006; Rizzon et al., 2000; Guerra et al., 2009).

A expansão do cultivo com a cv. Isabel deu-se devido à sua fácil adaptação à variabilidade de condições climáticas, à elevada produtividade, à longevidade e à relativa rusticidade (Zanuz, 1991; Grigoletti Jr. & Sônego, 1993).

O vinho produzido a partir da cv. Isabel apresenta aroma e gosto foxados. Mesmo assim, pelo hábito de consumo, associado às informações indicando os benefícios de pigmentos e taninos existentes nesse vinho, faz com que ainda seja o mais consumido no País e tenha grande potencial de expansão. Essa mesma lógica é válida para outros produtos derivados desse cultivar (Zanuz, 1991; Rizzon et al., 2000).

Assim, a Isabel foi escolhida como base para o desenvolvimento do produto desta dissertação pela importância socioeconômica que essa cultivar apresenta no Brasil.

3.2) A beleza como valor agregado e o mercado gastronômico de luxo

No mundo contemporâneo, em que muito se destaca ideais como política ecológica, economia dos recursos naturais e sustentabilidade, pode ser estranho que ainda sobrevivam os apelos mercadológicos para o consumo dos produtos de luxo, visto que, em princípio, os mesmos exigem dos seus consumidores atitudes nem sempre racionais no momento da decisão pela aquisição.

Castarède (2005) define luxo como brilho, bom gosto, iluminação, elegância – chegando à luxúria – excessivo, aberrante, raro, extremo. Para ele a definição se equilibra entre dois pólos: o parecer e o ser, a aparência e a essência. Seguindo essa linha, um objeto de luxo deve corresponder a uma abordagem personalizada e ser esteticamente belo. Complementa que é luxuoso tudo o que não é nem comum nem usual. O valor agregado das marcas de luxo situa-se naquele algo mais – o estilo, a apresentação, o apelo histórico, o design, a originalidade: “[...] uma boa empresa de luxo mantém a especificidade de imaginar e definir o produto com uma qualidade e uma apresentação da qual só ela tem o segredo.” (CASTARÉDE, 2005, p.87).

Roux (2005) complementa que um produto de luxo é um objeto (produto ou serviço), acrescido de um grupo de representações - imagens, conceitos, sensações - que são associadas a ele e o consumidor compra juntamente com o objeto sendo que está disposto a pagar um preço superior ao que aceitaria pagar por um objeto ou serviço de características funcionais equivalentes, mas sem estas representações associadas. Esta visão corrobora com os estudos realizados por

Dubois e Dequesne (1993) de uma perspectiva hedônica do luxo, na qual os consumidores primeiramente buscam significados simbólicos e de Dubois, Laurent e Czellar (2001), de que o valor de um objeto de luxo não deriva de sua utilidade, mas dos benefícios adicionais que ele proporciona.

A partir desses conceitos que ajudam a caracterizar os produtos de luxo podemos classificá-los em luxo inacessível, intermediário e o acessível. O luxo inacessível composto pela alta joalheria, obras de arte, alta costura, veículos e imóveis, que tem um caráter patrimonial. Há o luxo intermediário, constituído por objetos fabricados em poucas quantidades, como peles, prêt-à-porter, acessórios e artigos de escrita. Por fim, há o luxo acessível representado pelos perfumes e bebidas – os quais atendem às demandas hedônicas do cliente, sendo voltado essencialmente à qualidade e ao bem-estar (ALLÉRÈS, 2008).

Desta forma, podemos hipotetizar que a combinação desses elementos é o que confere o caráter de luxo a um produto bem como a evocação da beleza, da elegância e da distinção percebida. Todas estas características contribuem para criar no imaginário das pessoas, algo fundamental para a manutenção da imagem de um produto de luxo (ALLÉRÈS, 2008).

No Brasil, o mercado de luxo se apresenta em expansão desde os anos 90 e tem se tornado um setor na economia brasileira altamente promissor devido a mudanças na política econômica externa. O Brasil, assim como outros países da América Latina, tornou-se uma ótima alternativa para multinacionais, já que os mercados da Europa e EUA estavam saturados (LOBATO e DUARTE, 2001).

De acordo com Kodama (2011) em 2010 o setor teve um crescimento de 24% o que representa um faturamento de US\$ 8,9 bilhões, vale destacar que o setor que mais cresceu foi de gastronomia com um aumento de 35% entre os produtos o chocolate gourmet e Premium.

A gastronomia de luxo reforça ainda mais o posicionamento do luxo atual, o qual não mais se caracteriza pela satisfação de necessidades através do consumo de produtos ou bens físicos, mas, essencialmente, pela satisfação de desejos, propiciada pelo consumo de uma experiência (FERREIRINHA, 2006).

O “consumo da experiência” têm se destacado de forma crescente no ambiente de marketing atual. Há um aumento da demanda pela busca não só de entender o processo natural e tradicional a qualquer decisão de consumo, mas, principalmente, de decifrar como os consumidores estruturam e norteiam suas escolhas, quando estas envolvem o consumo de uma experiência (HIRSCHMAN e HOLBROOK, 1982). Esta se encontra relacionada ao hedonismo (Lagier e Godey 2007), já que as motivações e expectativas dos consumidores transcendem o campo dos benefícios racionais e funcionais de produtos e serviços, ainda que os mesmos a apresentem, atingindo níveis mais intangíveis, como as sensações, sentimentos e prazer projetados no consumo (HIRSCHMAN e HOLBROOK, 1982). Assim, é possível se identificar um mercado ainda pouco explorado pela literatura acadêmica atual e que se enquadra perfeitamente como um exemplo de consumo experiencial e hedônico: o mercado de luxo, em especial, o Mercado de Luxo Gastronômico.

Dado o conceito de “novo luxo”, segundo o qual indivíduos consomem bens e serviços como meios para a expressão de seus valores hedônicos, subjetivos e pessoais, capazes que propiciar experiências de consumo únicas e específicas, é possível que se correlacione o consumo gastronômico como uma das formas de expressão de luxo. Até porque, como já definido por Schlüter (2003), a escolha dos alimentos a serem consumidos satisfaz não só necessidades humanas básicas, como a de alimentação, mas também incorporam valores subjetivos e intrínsecos aos indivíduos, os quais estão diretamente os quais estão diretamente ligados à sua auto-realização.

Assim, pretende-se justificar o valor agregado do produto desenvolvido neste trabalho por sua legitimidade e identidade particular ao apresentar um produto de alto padrão, belo e com alegação funcional para o consumidor.

3.3) A importância da sustentabilidade no panorama mundial

A sustentabilidade sempre foi vista como um obscuro conceito ecológico, a qual vem sendo atualmente adotada por empresas que buscam atender aos princípios da responsabilidade social e da legislação ambiental (FIKSEL, LOW e THOMAS, 2004).

De acordo com Székely e Knirsch (2005), a sustentabilidade se encontra relacionada à construção de uma sociedade com equilíbrio entre objetivos econômicos, sociais e ambientais. Ainda de acordo com esses autores, esse termo significa para as empresas, sustentar e expandir o crescimento econômico, aumentar o valor dos acionistas, o prestígio, a reputação corporativa, o relacionamento com clientes e a qualidade de produtos e serviços.

Estudos confirmam que a atividade primária pode ser tão impactante ao meio ambiente quanto a atividade industrial, com a emergência de problemas de degradação, tais como: erosão; contaminação por inseticidas; salinização; processos de arenização e desertificação; uso indiscriminado de agrotóxicos; comprometimento do solo, dos recursos hídricos e da atmosfera; redução da biodiversidade (LEMOS, 1998).

A indústria do vinho enfrenta uma série de problemas ambientais, tais como a utilização excessiva de água no processo produtivo, o despejo de resíduos no ambiente, o desperdício de recursos naturais, de insumos de produção, e, as práticas ambientais insustentáveis (MARSHALL, CORDANO e SILVERMAN, 2005).

Uma vinícola sustentável é aquela que garante produtos que não agredem a saúde dos consumidores, fornece um lugar seguro e saudável para aquelas pessoas que trabalham na propriedade e forneça uma oportunidade de negócio economicamente viável (RENTON; MANKTELOW; KINGSTON, 2002).

Para a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) a definição de vitivinicultura sustentável é:

"Abordagem global na escala de sistemas de produção e processamento de uvas, que combina tanto a

sustentabilidade econômica das estruturas e dos territórios, a obtenção de produtos de qualidade, tendo em conta as exigências da viticultura de precisão, os riscos relacionados ao ambiente, à segurança do produto e à saúde dos consumidores e a valorização dos aspectos patrimoniais, históricos, culturais, ecológicos e paisagísticos."(OIV, 2008)

No ano de 2008, a OIV adotou um guia de aplicação do conceito de sustentabilidade para o setor vitivinícola, abordando, sobretudo, aspectos ambientais. Anteriormente, a organização já havia lançado guias para rastreabilidade e boas práticas. A organização prevê a complementação da metodologia em novos guias, que englobem outras dimensões da sustentabilidade. O atual guia, considera que a implantação de programas de vitivinicultura sustentável deve começar na condução do vinhedo em direção ao restante do processo produtivo, envolvendo os aspectos: (i) escolha do local; (ii) biodiversidade; (iii) escolha das variedades; (iv) resíduos sólidos; (v) gestão do solo; (vi) utilização de energia; (vii) gestão da utilização da água; (viii) qualidade do ar; (ix) efluentes; (x) utilização das áreas de entorno; (xi) gestão de recursos humanos; (xii) utilização de agroquímicos.

Assim, o desenvolvimento de estratégias, programas e ações de sustentabilidade empresarial devem ser o foco das empresas vinícolas, pois, além de depender de elementos da sociedade e do meio ambiente, a sustentabilidade pode representar um elemento de vantagem competitiva para a empresa vinícola, principalmente no âmbito internacional (RENTON; MANKTELOW; KINGSTON, 2002).

3.4) Histórico da encapsulação

O encapsulamento é definido como uma técnica capaz de revestir ou empacotar substâncias sólidas, líquidas ou gasosas, através de um revestimento polimérico. Geralmente, vem sendo aplicada em diferentes setores industriais, como agrícolas, farmacêuticas, gráficas, médicas, cosméticas e alimentar (SUAVE, 2006).

As partículas podem ter diferenças em suas estruturas e, de acordo o modelo, podem ser consideradas cápsulas ou esferas como observadas na figura 3.4. As cápsulas são constituídas de uma região nuclear, envolvida por uma camada polimérica contínua. As esferas possuem uma geometria interna irregular, onde pequenas partículas de ingrediente ativo estão dispersas numa matriz do agente encapsulante. Porém, o sentido de encapsulação abrange tanto o conceito de esferas como o de cápsulas (ARAÚJO, 2011; WILSON, 2007).

De acordo com seu tamanho, as cápsulas são classificadas de três modos: macrocápsulas (>5000 μm), microcápsulas (0,2-5000 μm) e nanocápsulas (<0,2 μm) (AZEREDO, 2005; ARAÚJO,2011). O formato das mesmas pode ser esférico, alongado, monolíticos ou agregados, com paredes simples ou múltiplas (KING, 1995).

É possível também classificar as cápsulas como mononucleares, quando o material núcleo não estiver dividido, e em polinucleares, quando houver divisões do núcleo no interior das cápsulas. Isto também acontece com as esferas, podendo estar classificadas como homogêneas, quando o ingrediente ativo estiver no estado molecular (dissolvido), ou heterogêneas, se o material núcleo estiver suspenso como observado na figura 3.2 (SILVA, 2002).

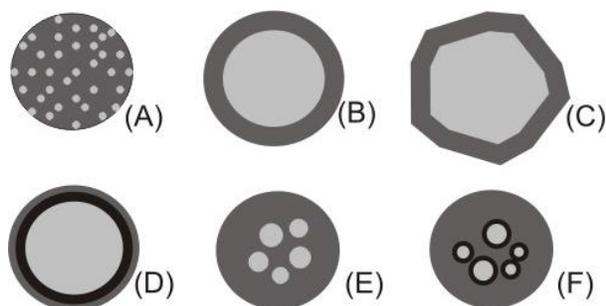


FIGURA 3.2 - Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz (microsfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas (ARSHADY, 1993; GIBBS,1999).

Alguns polímeros formam géis por gelificação iônica. Este método consiste em extrudar o material encapsulante e material núcleo, como forma de gotas em uma solução. São formadas esferas, com estruturas de redes tridimensionais, devido a ligações iônicas causadas pela interação

de íons de baixa massa molecular com uma solução polimérica aquosa (SILVA, 2003; ROCHA, 2006; PADILHA, 2010).

O agente encapsulante escolhido, alginato de sódio, é um polissacarídeo que possui alta capacidade de formar filmes, géis e hidrogéis, sendo obtido principalmente de algas marinhas marrons. Possui cadeias lineares hidrossolúveis. Em contato com íons metálicos, como o cloreto de cálcio, proporciona uma ligação entre cadeias lineares, onde é formada uma gelatina insolúvel em forma de esfera. Em forma de pó ele é insípido, inodoro e possui coloração branca pálida ou marrom amarelado (OLIVEIRA, 2006; SOUZA, 2008; PASQUALIM, 2010).

A seleção do agente encapsulante depende ainda do método utilizado para formar as partículas, do tipo de aplicação do produto e ainda da forma como ele agirá. A liberação da substância ativa pode se dar por estímulo mecânico (rompimento das microcápsulas por pressão) ou outros como variação de temperatura ou pH no meio onde estão as micropartículas (RÊ, 2000).

Os primeiros registros de tentativas de utilização de técnicas de encapsulação datam dos anos 1930, mas os primeiros produtos com material encapsulado só surgiram na década de 1950. Barrett K. Green, do National Cash Register Corporation (NCR), EUA, desenvolveu o processo de coacervação, que foi primariamente aplicado no desenvolvimento de cápsulas contendo um corante, que foram impregnadas em papel para a substituição do papel carbono, revolucionando a indústria de formulários. Esse papel recebia uma fina camada de microcápsulas contendo um corante não ativado (incolor), recoberta por uma outra camada contendo um reagente também incolor. A pressão da ponta do lápis na superfície do papel rompia as microcápsulas, liberando o corante incolor que, em contato com o reagente, adquiria cor, produzindo em outra folha uma cópia idêntica ao que estava sendo escrito no primeiro papel (RÊ, 2000; CLARK, 2002).

Durante muitos anos, as técnicas de encapsulação predominaram na indústria farmacêutica, para controle de liberação de fármacos, aumento da estabilidade de formulações e mascaramento de sabores indesejáveis. Essas aplicações seriam mais tarde úteis para a indústria de alimentos (GIBBS et al., 1999).

Na área de alimentos, os estudos foram iniciados nos anos 1960 pelo Instituto de Pesquisas Southwest, nos Estados Unidos, com a microencapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma. Além dos aromas, a

aplicação dessa tecnologia estendeu-se à incorporação de aditivos naturais e ingredientes (corantes, temperos, acidulantes, vitaminas e minerais) que alteram a textura, melhoram a qualidade nutricional, aumentam a vida de prateleira ou controlam as propriedades dos alimentos processados (RÉ, 2000).

Na década de 1970, foi realizada pela primeira vez a imobilização de bactérias do ácido láctico em géis de alginato (LINKO, 1985), que SEISS & DIVIES (1975) sugeriram poder ser aplicada para produção contínua de iogurte.

O fator custo na indústria de alimentos é muito mais limitante que nas indústrias farmacêutica ou de cosméticos, o que levou o setor de alimentos a olhar por muito tempo com receio a utilização das técnicas de microencapsulação (GOUIN, 2004), embora Popplewell (2001) tenha indicado que o custo relativo a utilização dos produtos alimentícios microencapsulados seria tolerável.

A encapsulação é útil para reduzir interações do produto isolado com o ambiente, evitando assim perdas de suas características organolépticas e degradação nutricional; que ocorrem em fenômenos como evaporação, osmose, reações bioquímicas. Na encapsulação outras variáveis são consideradas, como a taxa de liberação do material do núcleo que deve ser controlada, e ocorrer a partir de determinado evento, evitando perda do composto (Azeredo, 2005).

Além disso, o consumidor tem estado mais atento a muitos benefícios à saúde que podem ser promovidos, por exemplo, pela facilidade de utilização de nutrientes sensíveis a oxidação. Em vista disso, à medida que os volumes de produção têm aumentado e a relação custo/benefício das técnicas de processamento tem diminuído, a quantidade de produtos alimentícios encapsulados aumenta significativamente. (GIBBS et al., 1999).

Novas tecnologias de microencapsulação têm sido também desenvolvidas. Em 2002, mais de 1000 patentes envolveram processos de microencapsulação e suas aplicações, sendo 300 dessas patentes associadas especificamente a microencapsulação de ingredientes de alimentos (GOUIN, 2004).

O sucesso do desenvolvimento estimulou as pesquisas na área e gerou grande número de aplicações para as microcápsulas. As principais incluem produtos relacionados com a reprodução

de imagem, produtos agroquímicos (herbicidas, repelentes e pesticidas), produtos farmacêuticos para consumo oral ou injetável, cosméticos, ingredientes alimentícios, adesivos, agentes de cura, e encapsulação de células vivas, incluindo enzimas e microrganismos (SANTOS et al., 2000; RÉ, 2000).

3.5) Alginato

O alginato de sódio (ALG) é um biopolímero aniônico que apresenta-se como um pó colorido branco pálido ou marrom amarelado, inodoro e insípido. Os alginatos são extraídos principalmente de três espécies de algas marrons, que incluem: *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*. Consiste principalmente do sal sódico do ácido algínico, ou seja, uma mistura de ácidos poliurônicos composto de cadeias lineares de ácido α -L-glucurônico e β -D-mannurônico unidos por ligações glicosídicas (1,4), como visto na figura 3.3 (ROWE et al., 2009; GEORGE; ABRAHAM, 2006).

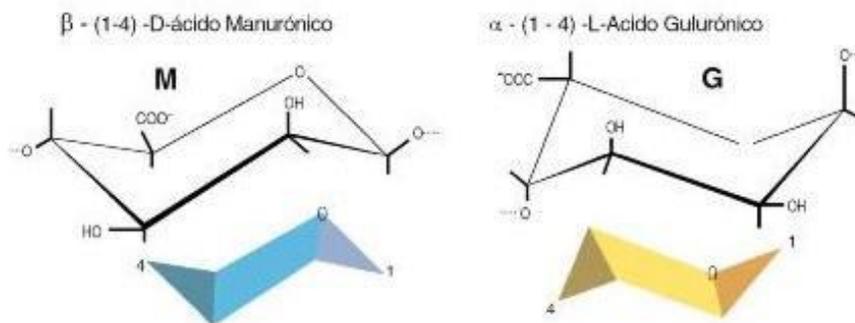


Figura 3.3: Ácido manurônico (M) e ácido gulurônico (G). Fonte: Alginate Industry Co., Ltd.

As formas dos monômeros e seu modo de ligação no polímero são diferentes, assim como, a geometria das regiões (G) e (M) e sua alternância, sendo que a composição e a extensão destas seqüências e a massa molecular são fatores que determinam as propriedades físico-químicas dos alginatos (GEORGE; ABRAHAM, 2006; DENTINI *et al.*, 2007). De acordo com Amici e colaboradores (2008), as propriedades físicas do alginato dependem da composição do ácido

urônico e da quantidade relativa das três seqüências, M, G e MG. A biocompatibilidade e/ou imunogeneticidade dos alginatos variam com a proporção dos resíduos M/G, sendo que geralmente o alginato rico em G possui uma mais alta biocompatibilidade do que polímeros ricos em M (TONNESEN; KARLSEN, 2002).

Alguns polímeros, como por exemplo o alginato, formam géis por gelificação iônica. Este método consiste em extrudar o material encapsulante e material núcleo, como forma de gotas em uma solução. São formadas estruturas de redes tridimensionais, devido a ligações iônicas causadas pela interação de íons de baixa massa molecular com uma solução polimérica aquosa (SILVA, 2003; ROCHA, 2006; PADILHA, 2010). Na presença de íons metálicos, tais como o cloreto de cálcio, proporciona uma ligação entre cadeias lineares, onde é formada uma gelatina insolúvel (hidrogél) em forma de esfera, com capacidade para encapsulamento de uma série de substâncias (KULKARNI, 2002; INOUE, 1997).

Quando íons polivalentes, como o cálcio, entram em contato com a dispersão de alginato uma membrana inicial é formada na superfície da mesma, separando a solução do eletrólito. Os íons sódio produzidos pela dissociação das macromoléculas da solução de alginato migram para a solução de eletrólito através da membrana, por outro lado, os íons cálcio ocupam o espaço dos íons sódio dentro das macromoléculas de alginato (KHAIROU; AL-GETHAMI; HASSAN, 2002), formando então, uma estrutura tridimensional descrita como modelo “egg box” (Figura 3.4) (BAJPAI; TANKHIWALE, 2006). A formação do alginato de cálcio é um processo instantâneo e irreversível, e é determinada pela velocidade de difusão dos íons cálcio na matriz do polímero alginato de sódio (LIAKOSA et al., 2013).

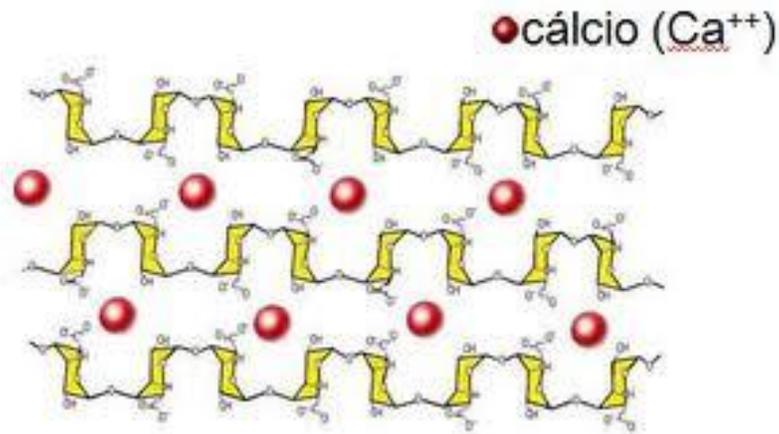


Figura 3.4: Modelo de “egg-box” do processo de gelificação do Alginato (Calvo, 2011)

O sistema geralmente empregado para a obtenção de esferas de alginato de cálcio consiste no método de extrusão. Neste método, o material do núcleo na forma líquida, fundido ou em solução, é lançado através do orifício de um tubo fino ou seringa para formar gotas, cujo tamanho será dependente do diâmetro do orifício e da velocidade de saída do material como apresentado na Figura 3.5. As gotas contêm o material de revestimento ou este é adicionado quando as gotas caem ou são injetadas. A solidificação do material de revestimento pode ocorrer por evaporação do solvente, difusão do solvente ou reação química (Donbrow, 1992).

A solidificação por reação química é um processo que não envolve condições agressivas, baseando-se na gelificação ionotrópica, e consiste em incorporar o material a encapsular numa solução de alginato de sódio, para depois a mistura sofrer extrusão gota a gota, através de uma pipeta de calibre reduzido ou de uma seringa, para uma solução de cloreto de cálcio (KIM e LEE, 1992; BOYLAN, et al., 1994).

O processo difusional dos íons cálcio para o interior da esfera se dá num tempo chamado de tempo de cura ou tempo de complexação e não é uniformemente distribuído, apresentando uma alta concentração da superfície que gradualmente decresce para o centro da esfera. Isso pode ser explicado pela barreira difusional formada logo na superfície da esfera fazendo com que os íons tenham mais resistência ao atravessar para o centro (DRAGET *et al*, 1997 apud FINOTELLI, 2006).

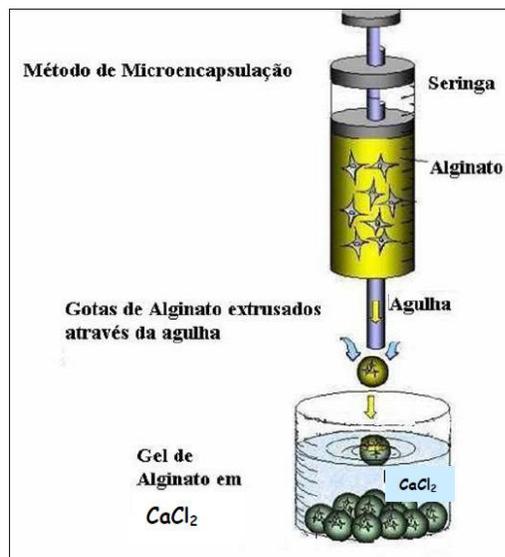


Figura 3.5. Esquema representativo do método de microencapsulação baseado na propriedade de gelificação do alginato em presença cátions di e trivalentes. (FINOTELLI, 2006)

3.6) Fatores que interferem na concentração de compostos fenólicos

A quantidade de compostos fenólicos gerados no vegetal varia conforme o tipo de produção do alimento e as condições de cultivo. Os vinhos e as uvas são considerados grandes fontes dietéticas de compostos fenólicos (ALÉN-RUIZ et al., 2009; SANTOS, 2006). O vinho tinto é uma das bebidas mais citadas quanto aos benefícios promovidos pela sua ação antioxidante, fator este que contribui para o efeito de prevenção de neoplasias, distúrbios cardiovasculares, dentre outros (NETZEL et al., 2003; MINUTI, PELLEGRINO; TESEI, 2006; DUDLEY, et al., 2008). Este possui maiores quantidades de substâncias fenólicas que o vinho branco (GUERRA; BARNABÉ, 2005), devido ao maior contato das cascas, sementes e engaços durante o processamento, à composição das uvas, sendo a catequina e o ácido gálico os compostos de maior ocorrência.

A literatura mostra que os vinhos produzidos a partir da fermentação da casca em contato com o engaço, possuem maior concentração de polifenóis, especialmente catequinas, comparados àqueles produzidos com a retirada dos engaços. O contato prolongado do mosto-vinho com a casca

favorece a liberação principalmente de catequinas e proantocianinas presentes nesta parte da uva e responsáveis pela coloração do produto (SUN et al., 2001).

O período de maceração da uva para obtenção do mosto (suco da uva usado para fermentação) é um fator determinante para a extração de compostos fenólicos. TEISSEDRE et al. (1996) verificaram que vinhos de uvas Syrah e Grenach, produzidos de mostos com longos períodos de maceração apresentaram concentração mais alta de compostos fenólicos que os com curtos períodos. Os vinhos produzidos com longo período de maceração mostraram-se 60% mais eficientes na inibição da oxidação de membranas.

Outro fator de suma importância é a proteção do mosto do oxigênio e da luz, durante as mudanças de tanque para obtenção de um produto com maior conteúdo de antioxidantes. Afinal, estes fatores promovem a oxidação de compostos presentes nas uvas (WATERHOUSE, A. L. et al., 2006). Assim, a utilização da maceração carbônica em substituição ao esmagamento convencional é a mais indicada para obter este resultado, devido às condições anaeróbias do processo. Em contrapartida, o uso de fermentadores rotatórios podem diminuir a quantidade total de antocianinas, devido ao aumento da aeração do vinho (SUN et al., 2001).

A elevação da temperatura de maceração aumenta a permeabilidade das paredes celulares das uvas, resultando no aumento expressivo do conteúdo de compostos fenólicos (ZIMMAN et al., 2002). A técnica de flash release consiste no aquecimento rápido das uvas, atingindo temperatura maior que 95° C em pressão atmosférica. Após o aquecimento, as uvas são submetidas a um forte vácuo que promove vaporização instantânea da água presente na fruta, causando fragilização das paredes celulares e a inativação da polifenoloxidase, enzima responsável pela oxidação dos polifenóis. Os polifenóis são liberados mais rapidamente e em maior quantidade.

Em estudo comparando a concentração de flavonóides no mosto obtido pelo método tradicional e flash release, os resultados mostraram que: a concentração de antocianinas no mosto controle de uva Carignan era de 0,0 mg/L e no mosto da mesma uva produzido por FR foi de 351,1 ± 24,2 mg/L. No mosto da variedade Mourvedre, a concentração de flavonóides variou de 0 mg/L no mosto padrão para 57,7 ± 0,8 mg/L no produzido por FR. Esta técnica também é recomendada na fabricação de vinhos a partir de uvas cuja qualidade sanitária é deficiente (MOREL-SALMI et al., 2006).

De forma geral, no processo de maceração, o fator determinante do conteúdo de antioxidantes é o tempo em que o mosto fica em contato com sua parte sólida. Quanto maior o tempo, maior a liberação de antioxidantes pelas cascas e pelas sementes da uva (SUN et al., 2001; ZIMMAN et al., 2002; MOREL-SALMI et al., 2006).

3.7) O vinho e a saúde

Os polifenóis são substâncias que tornam o vinho uma bebida diferente de todas as outras. São conhecidos mais de 8.000 tipos desses compostos químicos presentes nos vegetais (ARAÚJO et al., 2005; MAMEDE; PASTORE, 2004). A eles cabe proteger essas plantas dos ataques físicos como a radiação ultravioleta do sol e dos ataques biológicos por fungos, vírus e bactérias. Nos vinhos, já foram identificados cerca de 200 polifenóis com importantes efeitos antioxidantes (ANJO, 2004; ARAÚJO et al., 2005; MAMEDE; PASTORE, 2004) e estão distribuídos nas folhas da videira, nas sementes e principalmente na casca das uvas. É por isso que os vinhos tintos, que são fermentados na presença das cascas e sementes, têm cerca de 10 vezes mais polifenóis que os vinhos brancos, fermentados na ausência delas, atribuindo ao tinto melhores benefícios para a saúde (ANDRADE, 2006; FERRARI; TORRES, 2002; SOUSA NETO; COSENZA, 1994).

Os compostos fenólicos representam um constituinte importante para a produção de vinhos tintos porque contribuem para os atributos sensoriais e, principalmente, para a coloração do vinho. Apesar de os vinhos brancos possuírem polifenóis em menor número, autores afirmam que esses têm uma ação antioxidante mais potente (SAMUEL et al., 2008).

Os polifenóis compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos nos vegetais, sendo subdivididos em classes de acordo com a estrutura química de cada substância (FALLER; FIALHO, 2009). Estes polifenóis, presentes no vinho tinto, são subdivididos em duas categorias: flavonoides e não-flavonoides. Dentre a classe dos flavonoides podemos encontrar a antocianina, catequina, epicatequina e a quercetina.

Todas essas substâncias são antioxidantes derivadas geralmente das sementes e da casca da uva (ANDRADE, 2006). As mesmas são responsáveis pelo sabor, cor e adstringência de vinhos e

sucos de uva (ABE et al., 2007; GIEHL et al., 2007). As antocianinas, em especial, são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho presente em flores e frutos. Em uvas tintas, as antocianinas contribuem para os atributos sensoriais e, principalmente, para a coloração do vinho. As catequinas e epicatequinas presentes, sobretudo em sementes de uvas, são os principais compostos fenólicos responsáveis pelo sabor e adstringência de vinhos e sucos de uva. Os compostos fenólicos também são encontrados em uvas brancas, porém em baixas concentrações, mesmo assim influenciam no aroma e gosto dos vinhos brancos (ABE et al., 2007).

Os compostos fenólicos englobam uma ampla série de compostos subdivididos em diversos grupos de acordo com a sua estrutura química, como demonstrado na Figura 3.6. As antocianinas parecem ser um dos mais importantes componentes responsáveis pela capacidade antioxidante do vinho tinto, já que exerceram elevada capacidade sequestrante de radicais hidroxil e superóxido (38,6% de inibição do radical livre) no estudo de RIVERO-PÉREZ et al. (2008).

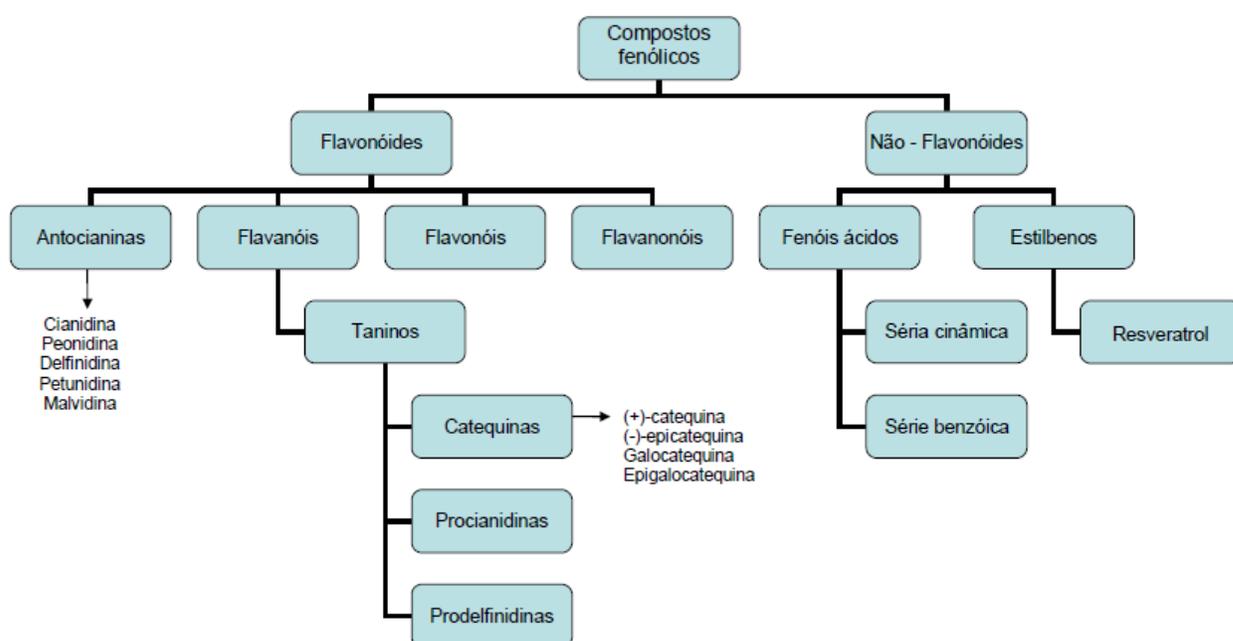


Figura 3.6. Representação esquemática das diferentes classes de compostos fenólicos. Fonte: Adaptação de Guerra e Barnabé (2005).

O organismo está sujeito a diversas reações de desequilíbrio que levam a formação de radicais livres, os quais por sua vez podem provocar vários danos celulares como a degeneração de membranas lipídicas (NEPOMUCENO et al., 1999). Para equilibrar, evitar ou impedir esse tipo de dano celular, o organismo lança mão de enzimas endógenas (como superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase, por exemplo) capazes de catalisar reações para inativação de radicais livres.

Muitas vezes, ocorre o desequilíbrio entre a produção e a inativação de radicais livres, seja pela queda na capacidade do sistema enzimático ou pelo excesso de produção de espécies radicalares. Nesses casos, o organismo encontra-se em situação de estresse oxidativo (HALLIWELL, 2000). O estresse oxidativo está envolvido na incidência de doenças como câncer, aterosclerose, reumatismo, artrite, e de doenças degenerativas como Parkinson e Alzheimer que surgem com a idade (ARUOMA, 1998).

Os compostos fenólicos dos vinhos foram capazes de estabilizar radicais livres gerados em sistema aquoso por radiólise como: hidroxila, azida, ânion superóxido, peroxila e alcóxil t-butila (BORS, 1990). O radical ânion superóxido gerado pelo sistema enzimático hipoxantina/ xantina oxidase também foi inativado por compostos fenólicos do vinho tinto (GAULEJAC, GLORIES e VIVAS, 1999b). O radical hidroxila e o ânion superóxido estão envolvidos em uma série de reações que provocam danos celulares, como a peroxidação lipídica (HALLIWELL, 2000).

Vários estudos constataram que os compostos fenólicos do vinho são capazes de inibir a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL). A oxidação da lipoproteína de baixa densidade está intimamente correlacionada com as complicações da aterosclerose, que se manifesta como doença arterial coronária (DAC), acidente vascular cerebral e/ou doença vascular periférica. A DAC pode ocorrer pelo acúmulo de colesterol nas camadas internas das artérias (STEINBERG et al., 1989). A LDL exerce a função de remover o colesterol da circulação sanguínea, mas sua estrutura rica em ácido graxo poliinsaturado é muito susceptível a peroxidação lipídica pelo ataque dos radicais livres (STEINBERG, 1995). Uma vez oxidada, a LDL perde a capacidade de transportar o colesterol que se deposita no interior das artérias levando à obstrução.

Os polifenóis isolados de vinho tinto foram capazes de inibir o crescimento de células cancerígenas. Concentrações extremamente baixas inibiram o crescimento de células epiteliais do

cólon. A inibição do crescimento está associada com a capacidade da ativação máxima da modulação da proteína quinase intracelular e com a inibição da proteína quinase extracelular. Esse mecanismo de ação sobre a proteína quinase intra e extracelular indicam o caráter antiproliferativo dos compostos fenólicos do vinho tinto (BRIVIBA, PAN e RECHKEMMER, 2002).

O resveratrol foi considerado o principal agente neuroprotetor contra radicais livres e danos por excitotoxicidade em estudos atuais envolvendo acidente vascular cerebral (AVC) experimentais e a busca pela elucidação do seu mecanismo de ação é constante (SAKATA et al., 2010; SHIN et al., 2010). A possibilidade de utilização do resveratrol como um agente terapêutico contra AVC poderia assim oferecer uma nova abordagem clínica em humanos (SHIN et al., 2010). Além do resveratrol, os seus derivados têm sido considerados uma classe de compostos muito promissora para diversas aplicações clínicas futuras, sobretudo nas terapêuticas preventivas contra o câncer. Vários desses derivados ocorrem naturalmente ou são sintetizados pela adição de grupos funcionais definidos para aumentar as suas propriedades farmacocinéticas, como os derivados metoxilados de resveratrol (revisado por FULDA, 2010).

Contudo, estudos recentes têm demonstrado a habilidade cardioprotetora do resveratrol (trans 3,5,4'-triidroxiestilbeno), uma fitoalexina fenólica e antioxidante presente no vinho tinto. DUDLEY et al. (2009) ofereceram 2,5 e 5mg.kg⁻¹ de resveratrol à ratos experimentais durante 14 dias e observaram aumento da cardioproteção nestes animais, evidenciada pela recuperação ventricular pós-ischêmica e redução do tamanho do infarto miocárdico e redução na apoptose cardiomiocítica. Ao contrário, os animais experimentais que receberam doses maiores (25 e 50mg.kg⁻¹) deprimiram a sua função cardíaca e aumentaram o tamanho do infarto miocárdico, bem como o número de células apoptóticas quando comparados aos animais controle. Assim, o resveratrol pode funcionar como antioxidante fisiológico apenas em baixas concentrações.

A eficácia combinada de micronutrientes presentes no extrato de casca de uvas tintas em reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, evitar danos oxidativos nas membranas celulares e prevenção da fragmentação do DNA foi observada no trabalho de RUSSO et al. (2003) através de ensaios *in vitro* e indicando sua possível utilização para amenizar a progressão da patologia nos casos de terapia contra o mal de Alzheimer. Resultados semelhantes foram obtidos por SCHROETER et al. (2000) quanto à eficácia dos antioxidantes fenólicos em atenuar os danos da neurodegeneração promovida pelo mal de Parkinson e de Alzheimer e o declínio cognitivo

relacionado ao envelhecimento. Este estudo propõe que os fenólicos atuam não apenas como antioxidantes, mas interagem com os eventos de sinalização da peroxidação lipídica ou processos induzidos por tal fenômeno.

Dados compilados por RODRIGO e RIVERA (2002) também sugerem que os polifenóis isolados do vinho (quercetina, G-rutina, curcumina, resveratrol, entre outros) são capazes de prevenir o estresse oxidativo renal (órgão rico em ácidos graxos poliinsaturados) pela habilidade sequestrante de espécies reativas de oxigênio e quelante metálico, diminuindo a peroxidação das estruturas celulares. Os compostos fenólicos do vinho tinto seco mostraram também possuir ação neuro e nefro-protetora contra os danos causados pelo estresse oxidativo e pela hipercolesterolemia (MONTILLA et al., 2006). O estudo usou ratos experimentais que receberam uma dieta rica em colesterol por 4 semanas. Houve um claro decréscimo nos níveis de colesterol total e nos produtos de peroxidação lipídica no cérebro, nos rins e nos eritrócitos dos animais quando o vinho foi inserido na sua dieta (quantidade correspondente a 400mL/70kg de peso corporal/dia, que é o equivalente ao consumo moderado).

LORIMIER (2000), porém, alerta para os danos causados pelo abuso do álcool e os benefícios do consumo moderado de vinho (especialmente tinto) em uma variedade de estados patológicos. Este autor reporta que, quando o nível de consumo da bebida ultrapassa 3 doses diárias, o risco de acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico ou hemorrágico se torna maior que o risco em indivíduos abstêmios.

Os resultados apresentados podem reforçar o termo “Paradoxo Francês” e mostrar que a ingestão moderada de vinho pode inibir a incidência da DAC e trazer benefícios à saúde. Segundo MULLER (1999), o vinho é benéfico para a saúde podendo ser consumido como acompanhamento alimentar. Entretanto, o consumo diário de vinho deve ser controlado para não causar doenças como úlcera gastrointestinal, alcoolismo e a cardiopatia alcoólica (ESTRUCH et al., 1993; NICOLAS et al., 1997; URBANO-MARQUEZ et al., 1995; URBANO-MARQUEZ et al., 1989).

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Os materiais utilizados no trabalho foram:

- Alginato de sódio (Keltone® LV) - Apresenta uma proporção de ácido manurônico e ácido gulurônico (M/G) entre 0,4 e 1,9. Segundo o fabricante, uma solução de alginato de sódio 2 % (m/v) em água tem uma viscosidade a 25°C e 60 rpm (spindle no. 2) de 100-300 mPa.s determinado pelo viscosímetro Brookfield modelo LV;

- Cloreto de cálcio (Vetec®);

- Ácido acético e ácido clorídrico –VETEC

- Fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) – Quimibrás

- As amostras de uva da variedade ISABEL (*Vitis labruscas*) foram adquiridas da Região do Vale do São Francisco, Estado de Pernambuco, cidade de Petrolina. Com o objetivo de preservar as propriedades gerais dos bagaços, os exemplares foram acondicionados em Ultrafreezer CL120-80V.

- O espumante utilizado foi o “Conde de Foucauld” da vinícola cooperativa Aurora, produzido pelo método charmat, sendo um vinho rosé espumante natural brut.

4.2. Equipamentos

Os equipamentos utilizados no presente trabalho estão relacionados a seguir:

- Centrífuga Sorvall ST16R DA Thermo scientific;

- Espectrofotômetros UV – 1800 Shimadzu;

- Victor ³ 1420 multilabel conter da Perkinelmer;
- Ultrafreezer CL120-80V;
- Processador da marca Wallita
- Peneira para análise (abertura em mm 0,5 e tyler 32) Granutest.
- Liofilizador Terroni Enterprise I;
- Balança analítica Ohaus Adventurer;
- Banho termostatizado Kottermann da Labortechnik;
- Sistema de água ultrapura Millipore Simplicity;
- Estufa de secagem Quimis;
- Difratorômetro modelo X'Pert PRO (PANalytical);
- Dissolutor MOD. 299 (Nova ética);
- Microscópio eletrônico de varredura - Jeol, modelo JSM-5310;

4.3. Obtenção da farinha

A casca foi separada da polpa, engaço e caroço. Para o presente estudo foi utilizada apenas a casca, sendo desprezados os outros componentes da uva. Foi aplicada a técnica de branqueamento na casca da uva.

Em seguida, o material foi congelado para posterior liofilização que ocorreu por 48 horas. Após esse processo, o mesmo foi submetido ao processador para depois ser peneirado e então ser obtida uma farinha homogênea.

4.4. Encapsulamento do bagaço da uva

As pérolas contendo a casca da uva foram preparadas em matriz de alginato de sódio, pelo método de extrusão. Inicialmente, foram dissolvidos e homogeneizados, em becher de 25 mL, separadamente, alginato de sódio – 0,25g; 0,35g; 0,45g; em 10 mL de água MilliQ, e o extrato seco do bagaço da uva (1%; 2%; 3%), através de movimentos manuais suaves para a prevenção de grumos e formação de bolhas nas soluções. Em seguida, as soluções recém preparadas foram misturadas e homogeneizadas para obtenção de uma suspensão formadora das pérolas composta de alginato de sódio (2,5%; 3,5%;4,5%).

Logo em seguida, gotejou-se a mesma, constantemente, em uma solução de cloreto de cálcio (CaCl_2), de concentração definida contida em *erlenmeyer* de 250 mL. As concentrações molares das soluções de cloreto de cálcio foram de 0,15, 0,2 e 0,45. Assim, foram formadas as pérolas, que permaneceram por 15; 25 ou 35 minutos na solução contendo os íons cálcio (Ca^{+2}), sendo coletadas por filtração e lavadas em seguida com água destilada. As pérolas foram pesadas úmidas na balança analítica Ohaus Adventurer e com auxílio do paquímetro (Brasfort®) tiveram o seu tamanho determinado, posteriormente uma parte foi seca a 30°C em estufa de secagem Quimis, durante 24 horas e a outra parte foi seca no liofilizador.

4.5. Otimização do grau de erosão e de intumescimento das pérolas.

Planejamento fatorial fracionado 2^{4-1}

Para otimizar o grau de erosão e intumescimento nas pérolas, foi aplicado um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , com o uso do programa de computação Statistica 7.0.

Os parâmetros fixados e adotados como variáveis independentes: concentração de alginato, casca da uva, cloreto de cálcio e tempo de complexação. A Tabela 4.1 apresenta os limites para cada parâmetro estudado. As pérolas foram preparadas como descrito no item 4.3.

A variável de resposta utilizada foi o grau de intumescimento e de erosão. Os experimentos foram realizados aleatoriamente.

Tabela 4.1. Fatores e níveis a serem analisados no planejamento experimental 2^{4-1}

Variáveis independentes	Nível (g/L)		
	- 1	0	+ 1
Alginato (% m/v)	2,5	3,5	4,5
Casca da uva (%m/v)	1	2	3
Concentração CaCl₂ (M)	0,15	0,2	0,45
Tempo de complexação (min)	15	25	35

4.6. Análise de composição centesimal

A análise de composição centesimal da farinha da casca da uva Isabel obtido por liofilização foi realizada no laboratório de controle bromatológico e microscópico (Labcbrom) que fica na Faculdade de Farmácia na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os ensaios foram feitos em triplicata para cada determinação (umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas). Os teores de umidade, proteína e cinzas foram determinados segundo Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (1995). A umidade foi determinada por gravimetria em estufa a 105°C, até o peso constante. O teor de proteína foi quantificado mediante a determinação do nitrogênio total, pelo método de micro-Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para conversão do valor de nitrogênio em proteína. As cinzas foram determinadas por incineração da matéria orgânica em mufla a 550°C e o extrato etéreo foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente. Já os carboidratos totais foram calculados por diferença. Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

4.7. Análise de compostos bioativos e atividade antioxidante

4.7.1) Análise de compostos fenólicos totais

Os fenólicos totais da farinha da casca da uva foram obtidos conforme o método colorimétrico desenvolvido por Singleton e Rossi (1965), com a utilização do reagente de Folin-Ciocalteu, em solução com concentração de 10% (v/v). A vidraria utilizada esteve envolta em papel alumínio para minimizar a degradação da solução final do reagente antes de reagir com as substâncias fenólicas de interesse.

Para a elaboração dos extratos foi preparada uma solução mista com 40 mL de metanol 50% e 1 g de amostra, sendo mantido por agitação magnética por 60 minutos, em seguida foi submetido a centrífuga a 3000 rpm por 15 minutos. 40 mL de acetona 70%, adicionada de 1 g de amostra, sendo o volume final completado para 100 mL com água destilada. O procedimento de extração envolveu etapas consecutivas de centrifugação, filtração e repouso, visando obter uma melhor extração dos compostos fenólicos, conforme descrito por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997).

Para determinação do teor de fenólicos totais, foram adicionados em tubos de ensaio envolvidos com papel alumínio 0,5mL do extrato do suco, 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 4% (p/v). Os tubos foram agitados para homogeneização e mantidos em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. Posteriormente, realizou-se a leitura das absorbâncias na faixa de absorção de 750 nm. No tubo branco, substituiu-se a alíquota de amostra por 0,5mL de etanol absoluto. Para calcular os teores de FT, construiu-se uma curva padrão com solução de ácido gálico nas seguintes concentrações: 5, 10, 15, 20, 30 e 40 µg.mL⁻¹. Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico (g EAG.L⁻¹ de suco).

4.7.2) Análise de antocianinas totais

A análise do conteúdo total de antocianinas da farinha da casca da uva foi realizada seguindo-se o método do pH diferencial, proposto por Giusti e Wrolstad (2001). Para elaboração do extrato da amostra, foi feita uma solução com 18 mL de metanol acidificado com ácido

clorídrico 0,1% e 2 mL de suco, que foram centrifugados a 2000g por 15 minutos (4°C). Uma alíquota do sobrenadante foi diluída com tampão cloreto de potássio pH 1,0 (0,025M), de modo que se obtivesse densidade óptica na faixa de 0,100 – 1,200 nm, a 510 nm (absorbância máxima para cianidina-3-glicosídeo). A mesma solução teve a absorbância lida a 700 nm, para descontar a turbidez da amostra. Outra alíquota do sobrenadante foi diluída na mesma proporção em solução tampão acetato de sódio pH 4,5 (0,4M) e as leituras foram feitas nos mesmos comprimentos de onda acima citados. A absorbância final foi então calculada por meio da seguinte fórmula:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH} = 1,0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH} = 4,5}$$

O conteúdo de antocianinas totais (AT) foi calculado como cianidina-3- glicosídeo (PM = 449,2) através da fórmula abaixo:

$$AT \text{ (mg.100 mL}^{-1}\text{)} = A \times PM \times \text{fator de diluição } \epsilon \text{ (22900)} \times 1$$

Onde: A= Absorbância e ϵ = Absortividade Molar

4.7.3) Análise de FRAP E TEAC

A análise de FRAP e TEAC foi feita na farinha da casca da uva. Este teste não é baseado na capacidade de captura de radicais livre, mas sim na habilidade de redução do Ferro. Em meio ácido o complexo férrico tripiridiltriazina é reduzido a sua forma ferrosa de intensa cor azul na presença de antioxidantes, causando um aumento na absorbância a 595 nm. A absorbância final é interpolada em uma curva padrão de Trolox, e os resultados são expressos como TEAC (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO, 2006). No método original, a absorbância foi monitorada até 4

minutos, mas neste tempo a reação não foi completada, sendo sugerido por Pulido, Bravo e Sauracalixto (2000) que o monitoramento seja realizado até 30 minutos.

Descrito por Benzie & Strain (1996), com modificações de Arnous et al. (2002), o método é baseado na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir em meio ácido (pH 3,6) o complexo Fe^{3+} /tripiridiltriazina (TPTZ) para formar Fe^{2+} , de intensa cor azul. A absorbância foi medida em comprimento de onda de 620 nm. O valor do poder redutor, em peso seco de bagaço, foi expresso em $\mu\text{Mol.g}^{-1}$ de TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

4.8. Análise do tempo de desintegração das pérolas no suco gástrico

Os ensaios referentes a esta etapa foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia da UFRJ. Sendo obtidos por meio de testes em dissolutor USP Apparatus 1, aplicando-se a técnica de difusão em membrana nas pérolas liofilizadas e secas na estufa produzidas com as concentrações propostas no experimento 3 das Tabelas 5.1 e 5.2.

Em geral, os meios de dissolução devem possuir pH na faixa fisiológica, variando entre 1,2 a 6,8 (BRASIL, 2010). Os meios devem simular o meio gástrico (pH 1,2) e o meio intestinal (pH 6,8). Um ponto importante a ser considerado é que, na presença de alimentos, tanto o estômago como o intestino, apresentam variações de pH (MARTINS, 2005; MANADAS et al., 2002).

Em 1997, Farmacopéia Européia e colaboradores como Aiache, Siewert e Dressman estabeleceram algumas recomendações com relação aos meios biologicamente ativos:

- O uso da água como meio de dissolução é permitido, desde que justificado, pois não possui capacidade tamponante (SINKO, 2008);
- O volume do meio pode variar entre 500 a 1000 mL (mais comumente 900 mL);
- A faixa de pH fisiológico (1,2 a 6,8) deve ser respeitado, porém meios mais alcalinos, até 8,0 podem ser usados, porém com justificativas;

- A temperatura do meio deve estar a 37°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$);

Tabela 4.7. pH fisiológico a serem considerados nos testes de dissolução.

Local	pH	pH na presença de alimentos
Estômago	1,2	3,0
Duodeno	5,4	6,1
Íleo	7,0	8,0
Cólon	7,0	8,0

A amostra seca na estufa foi colocada na cesta e a amostra liofilizada direto na cuba e imersas em 1 l de meios de dissolução, os quais simularam condições gástricas (pH 1,2) e entéricas (pH 6,8), preparados de acordo com USP 27 (2004). A temperatura foi mantida em $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Os estudos de liberação foram conduzidos em quadruplicata.

4.9. Caracterização das pérolas

4.9.1) Estudo de intumescimento das pérolas

Os ensaios de intumescimento foram realizados para examinar a capacidade de hidratação do biomaterial e avaliar o efeito complementar da influência que este fenômeno pode ter na cinética de liberação da casca da uva a partir das pérolas de alginato. As pérolas, após produzidas, eram lavadas com água Milli-Q, cujo excesso de água era retirado com papel de filtro para determinação de sua massa inicial. As pérolas eram secas á 40°C , até que a massa não variasse; logo após, a massa seca era anotada e a água de hidratação determinada pela equação abaixo.

$$\mathbf{GI (\%) = \frac{(m_u - m_s)}{m_s} \times 100}$$

Onde: I(%) = Porcentagem de intumescimento das pérolas

m_u = massa úmida das pérolas;

m_s = massa das pérolas secas;

Foram também realizados estudos de intumescimento das pérolas secas ao longo do tempo após a imersão no espumante. Em intervalos de tempo pré-estabelecidos, retirou-se a água em excesso das pérolas com o auxílio de um papel absorvente e realizou-se a pesagem, caracterizando a massa úmida (m_u). A análise foi realizada com quatro repetições.

4.9.2) Estudo do grau de erosão (GE) das matrizes

Essa determinação foi baseada no trabalho de Efentakis *et al* (2000), com algumas modificações. As pérolas secas foram armazenadas em tubo falcon contendo 20 mL de espumante. Após o intervalo de tempo selecionado, uma amostra de 4 pérolas eram retiradas e secas em estufa a 40°C até a estabilização do peso das pérolas para remoção da água e, em seguida, pesadas para registrar a diferença da massa comparada à amostra que não foi submetida ao teste. A perda de peso (GE%) foi determinada seguindo a equação abaixo:

$$\mathbf{GE (\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100}$$

Onde, GE, é a porcentagem do grau de erosão, m_i é a massa inicial da matriz seca e m_f é a massa da matriz após secagem em estufa, depois de determinado período de tempo no meio de dissolução.

4.9.3) Tempo de sedimentação

Os ensaios do tempo de sedimentação foram realizados para examinar o tempo que as pérolas levariam para percorrer do alto ao fundo do tubo de ensaio.

4.9.4) Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia do biomaterial das pérolas foi observada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca Jeol, modelo JSM-5310. A aceleração de voltagem utilizada era 15 ou 20 kV. As pérolas secas foram fixadas em suportes cilíndricos metálicos com diâmetro de 10 mm usando uma fita adesiva de carbono dupla face. As amostras subsequentemente revestidas com ouro e analisadas. As análises foram realizadas no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) no Laboratório de Microscopia eletrônica.

4.9.5) Difração de raios X

Os ensaios de difração de raios x foram realizados no Laboratório de Raios X do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF). O equipamento usado será um difratômetro modelo X'Pert PRO, da PANalytical, dotado de fonte de radiação monocromática K α Cu (1,54184 Å). As amostras serão analisadas no modo $\theta/2\theta$ acoplado e a identificação dos padrões de difração será feita com a ajuda do programa X'Pert HighScore da PANalytical.

4.9.6) Tamanho das pérolas

O tamanho das pérolas foi aferido com o auxílio de um paquímetro. Com os resultados foi calculado o tamanho médio e o desvio padrão das amostras antes do processo de secagem e após a secagem na estufa e no liofilizador.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Otimização do grau de erosão e de intumescimento das pérolas.

Polímeros reticulados quimicamente não se dissolvem em nenhum solvente, uma vez que as cadeias estão ligadas covalentemente umas às outras. A presença dos solventes em que as respectivas cadeias lineares são solúveis, os polímeros reticulados intumescem, incorporando solvente enquanto as cadeias puderem ser distendidas.

Quando o hidrogel desidratado é imerso em água, ocorre o intumescimento absorvendo água até atingir um equilíbrio entre as forças favoráveis à entrada de água para dentro da estrutura polimérica (potencial osmótico, ligações de hidrogênio entre água e polímero, flexibilidade da cadeia etc.) e as forças de coesão da rede (reticulações) (FLORY; REHNER, 1943).

A pressão osmótica favorece a entrada de água para ocupar os espaços livres dentro da rede polimérica. As fortes interações atrativas entre as estruturas químicas no polímero e a água também contribuem para o aumento do intumescimento. À medida que a água entra, ocupando os espaços entre as cadeias poliméricas, estas se estendem buscando uma nova configuração, pois a presença da água no sistema requer a expansão e reordenação das cadeias. À medida que as cadeias são alongadas para uma configuração entropicamente menos favorável, existe uma força resistiva, que aumenta com a densidade de ligações cruzadas. O equilíbrio é atingido quando essas forças se igualam (ANSETH *et al.*, 1996).

Os resultados obtidos na realização do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} são apresentados nas Tabelas 5.1 e 5.2, junto com as condições para cada um dos experimentos, assim como o grau de intumescimento e erosão das pérolas. As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam o grau de intumescimento e erosão das pérolas liofilizadas e das secas na estufa respectivamente. Os dados indicam que o grau de erosão das pérolas liofilizadas variou de 20,3 à 63,7 (Tabela 5.1) e das pérolas secas na estufa foi 24,3 à 62,8% (Tabela 5.2), com os diferentes níveis das variáveis independentes. O grau de intumescimento variou de 224,4 à 436,6% nas pérolas liofilizadas na (Tabela 5.1) e de 119,2 à 261,8% nas pérolas secas na estufa (Tabela 5.2), também com os diferentes níveis das variáveis independentes.

Tabela 5.1. Experimentos gerados pelo software Statistica 7.0 para o planejamento fracionado do encapsulado liofilizado.

Nº Exper.	Alginato	Casca da uva	Concentração de CaCl₂	Tempo de complexação	Grau de erosão	Grau de intumescimento
1	-1	-1	-1	-1	20,3	306,8
2	+1	-1	-1	+1	51,4	281,0
3	-1	+1	-1	+1	36,6	396,3
4	+1	+1	-1	-1	30,7	323,9
5	-1	-1	+1	+1	63,7	436,6
6	+1	-1	+1	-1	55,8	241,1
7	-1	+1	+1	-1	62,1	350,0
8	+1	+1	+1	+1	47,5	224,4
9	0	0	0	0	41,4	328,1
10	0	0	0	0	39,6	362,1
11	0	0	0	0	44,2	344,8

Tabela 5.2. Experimentos gerados pelo software Statistica 7.0 para o planejamento fracionado do encapsulado seco na estufa.

N° Exper.	Alginato	Casca da uva	Concentração de CaCl₂	Tempo de complexação	Grau de erosão (%)	Grau de intumescimento (%)
1	-1	-1	-1	-1	42,2	261,8
2	+1	-1	-1	+1	24,3	171,2
3	-1	+1	-1	+1	41,7	166,1
4	+1	+1	-1	-1	29,0	147,8
5	-1	-1	+1	+1	62,8	187,0
6	+1	-1	+1	-1	56,6	142,3
7	-1	+1	+1	-1	54,1	246,9
8	+1	+1	+1	+1	49,5	158,4
9	0	0	0	0	39,7	130,4
10	0	0	0	0	47,3	155,9
11	0	0	0	0	38,3	119,2

Para melhor visualização, a Figura 5.1 mostra as pérolas úmidas logo após a produção e as pérolas livres de água, após a secagem na estufa e no liofilizador. Porém, ao colocar as pérolas secas em imersão no espumante nos ensaios de intumescimento, estas não apresentaram o intumescimento máximo após 30 dias (Figura 5.2).

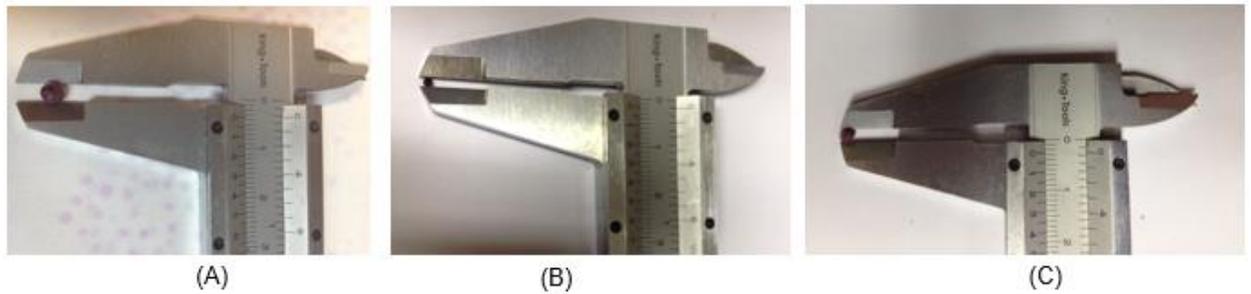


Figura 5.1. Fotografia das pérolas úmida logo após a produção (a), após a secagem a 37°C na estufa (b) e após a secagem no liofilizador

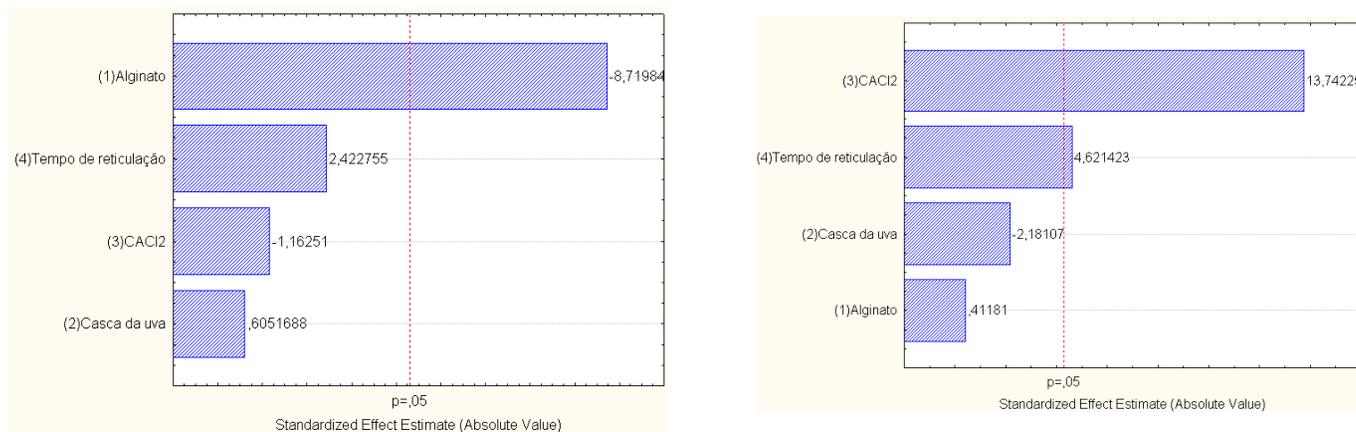


Figura 5.2. Fotografia das pérolas após imersão por quatro semanas no espumante, pérola previamente submetida a secagem na estufa (a) e a do liofilizador (b)

Os dados apresentados nas Tabelas 5.1 e 5.2 não podem ser interpretados de forma direta, porque se faz necessária uma avaliação da significância dos parâmetros estudados por bases estatísticas. Na análise de variância pela ANOVA existe um parâmetro estatístico denominado *p-level*, que permite avaliar quais fatores são estatisticamente relevantes. Quando os valores do *p-level* para cada um dos fatores e interações são menores ou iguais a 0,05, estes apresentam significância ou relevância estatística, quando são maiores que 0,05, os fatores e interações não apresentam relevância estatística (NETO *et al.*, 1995; MONTGOMERY, 1999).

A magnitude dos efeitos estimados de cada variável é apresentada nos diagramas de Pareto (Figuras 5.3 e 5.4), fornecendo o efeito quantitativo estimado que cada uma das variáveis possuem

sobre o grau de intumescimento e de erosão, estabelecendo quais desses efeitos encontram-se dentro do grau de confiança estabelecido para a análise (95%).



(A)

(B)

Figura 5.3. Diagrama de Pareto para o grau de intumescimento (A) e grau de erosão (B) do encapsulado liofilizado de cada variável do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} .

Com os resultados da análise estatística das Figuras 5.3 (A) e 5.4 (A), confirmou-se que a variável com maior efeito sobre o grau de intumescimento foi a concentração de alginato. O efeito da concentração de alginato é negativo, indicando que níveis maiores de alginato levariam ao menor grau de intumescimento. Deve-se ao fato das pérolas contendo maior teor de alginato serem capazes de ligar-se de forma mais eficiente aos íons cálcio, apresentando portanto menor intumescimento. Entretanto as variáveis concentração da casca da uva, o tempo de complexação e a concentração de CaCl_2 não foram estatisticamente significativos, ou seja, isso mostra que estes fatores na faixa estudada não influenciaram o grau de intumescimento.

A capacidade das pérolas de alginato de intumescer é facilitada pelos grupos carboxílicos e hidroxilas, que se associam fortemente às moléculas de água. Um aumento no grau de complexação diminui a disponibilidade desses grupos e, conseqüentemente, a hidrofiliabilidade do sistema. O grau de intumescimento é uma propriedade importante na predição do comportamento das cápsulas que serão utilizados em liberação controlada, pois modificações na estrutura da matriz polimérica

causadas pelo intumescimento influenciarão na difusividade do antimicrobiano através da matriz (ZACTITI, 2006).

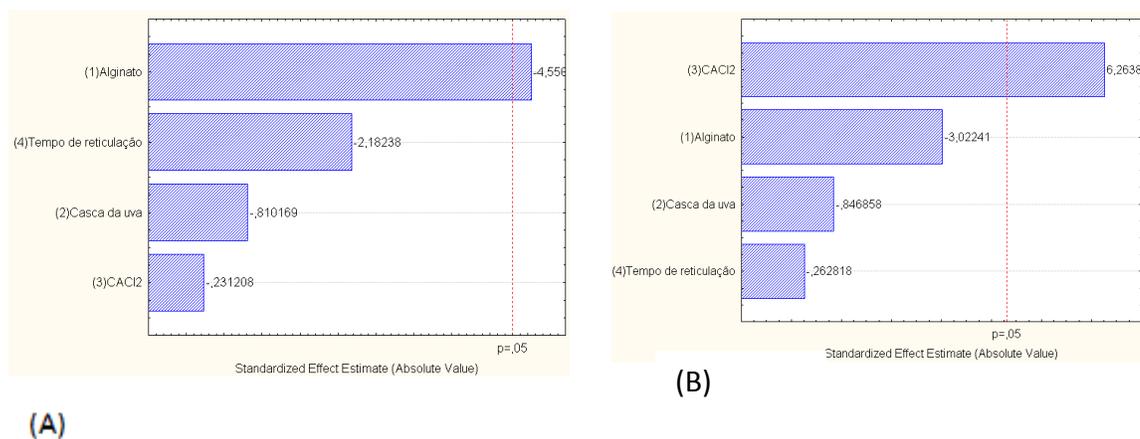


Figura 5.4. Diagrama de Pareto para o grau de intumescimento (A) e grau de erosão (B) do encapsulado seco na estufa de cada variável do planejamento fatorial facionado 2^{4-1}

Na Figura 5.3 B o resultado da análise estatística mostrou que a variável com maior efeito sobre o grau de erosão foi a concentração de CaCl_2 , seguido pelo tempo de complexação, tendo ambas efeito positivo. Indicando que maiores níveis de CaCl_2 e de tempo de complexação levariam a maiores porcentagens de grau de erosão. O mesmo efeito é encontrado no grau de erosão do encapsulado liofilizado (Figura 5.3 B). A concentração de cloreto de cálcio é de grande importância para a gelificação, processo que ocorre devido à afinidade entre o alginato e o cálcio.

Os melhores resultados encontrados foram no experimento 1 da Tabela 5.3 e no 2 da Tabela 5.4, no qual foi obtido o menor grau de erosão, aquelas em torno de 20%. Portanto quanto menor o grau de erosão, maior será o tempo para desintegrar o encapsulado dentro do espumante. Contudo, o experimento escolhido como o melhor foi o experimento 3, pois o mesmo apresentou um baixo grau de erosão e uma maior concentração da farinha da casca da uva. Vale ressaltar que visualmente não foram observados fragmentos do biomaterial nos ensaios de erosão.

O tempo de sedimentação foi outro parâmetro a ser analisado. Dentre as pérolas secas na estufa o maior tempo de sedimentação foi encontrado no experimento 1 com 2,99 segundos da Tabela 5.3 e o menor no experimento 5 da Tabela 5.4 com 1,10 segundos. Analisando as pérolas secas pelo método de liofilização encontramos sedimentação a partir do sétimo dia nos experimentos 1,2,5,6 e 7, porém os mesmos ainda apresentam material flutuando, não tendo sedimentado a sua totalidade. Afinal, para um melhor efeito visual o ideal é que as pérolas tenham diferentes tempos de sedimentação apresentando um efeito de gradação.

5.2. Análise da composição centesimal

Os resultados das análises físico químicas da amostra da farinha da casca da uva se encontram na Tabela (5.3) e a Tabela (5.4) desenvolvida por Natividade é para efeito de comparação.

Tabela 5.3: Composição centesimal da farinha da casca da uva Isabel

Umidade (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Extrato Etéreo (g/100 g)	Cinzas (g/100 g)	Carboidratos (g/100 g)
6,62 (±0,35)	6,85 (±0,93)	5,17 (±0,24)	3,32 (±0,07)	78,14 (±0,69)

Tabela 5.4: Composição centesimal da farinha elaborada com o resíduo do processamento do suco da uva Isabel (DCA /UFLA 2010)

Umidade (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Extrato Etéreo (g/100 g)	Cinzas (g/100 g)	Carboidratos (g/100 g)
11,73	5,36	5,41	2,26	75,24

FONTE: Adaptada de Natividade, 2010

Os valores de umidade são inferiores aos encontrados por Natividade (2010) na farinha produzida com o bagaço de suco de uva *Isabel* (11,73%), fator este que pode estar atrelado a safra,

em que a uva pode passar por diferentes condições climáticas, refletindo na composição química da fruta, assim como o processo de secagem da farinha. Contudo, como não existe legislação específica para os níveis de umidade de farinhas de uva, na resolução n° 12 da ANVISA (BRASIL, 1978) é preconizado que, em farinhas, este parâmetro seja menor que 15%, estando portando de acordo.

Para a análise de extrato etéreo, verificou-se que a farinha produzida a partir do resíduo de *Isabel* apresentou teores lipídicos próximos (5,17%) em relação às farinhas elaboradas com uvas das variedades Isabel Precoce (5,41%) encontrados por Natividade (2010). A fração lipídica das uvas é composta por cerca de 90% de ácidos graxos monoinsaturados, representados pelo ácido linoléico (78%) e ácido oléico (12%). Os teores de ácidos graxos saturados não ultrapassam 10% do teor de lipídeos e ainda são observadas concentrações apreciáveis de tocoferóis (BAIL et al., 2008).

As proteínas corresponderam a 6,85% da composição centesimal já a Isabel Precoce avaliada por Natividade (2010), por sua vez, teve em sua composição 5,36%. A concentração de proteína determinadas nas farinhas elaboradas são inferiores às de alguns estudos relatados na literatura, que variaram de 9,4% a 10,72% (ISHIMOTO, 2008; VALIENTE et al., 1995). Para Valiente et al. (1995), as proteínas constituem uma porção importante da composição nutricional do resíduo de uva, verificando-se de forma geral predominância dos aminoácidos glutamina e ácido glutâmico. Leucina e lisina apresentam-se em quantidades intermediárias, enquanto cistina e metionina exibem os menores teores.

Na avaliação das amostras em função das cinzas, verificou-se que a farinha produzida apresentou o maior resultado, o que denota concentração superior de minerais em detrimento à farinha Isabel Precoce de Nativa (2010). O resíduo mineral fixo, mais conhecido como cinzas, corresponde aos elementos inorgânicos presentes nos alimentos. Para Dal Bosco (2006) indica que os minerais presentes na uva que despertam o interesse sob o ponto de vista nutricional são potássio e sódio, uma vez que as concentrações do primeiro superam os níveis de sódio, gerando um balanço mineral que favorece o controle da hipertensão arterial. Acredita-se que estas variações no conteúdo mineral podem estar associadas a cultivar da uva, tamanho da baga, grau de maturação e efeitos de tratamento fitossanitários aplicados na videira durante o cultivo (RIZZON; LINK, 2006).

Valiente et al. (1995) identificaram em resíduos de vinificação porcentagens de fibra equivalentes a 80% do peso seco da amostra, sendo a fibra insolúvel a maior fração e assim, defendendo que este subproduto industrial pode ter aplicações potenciais como ingrediente alimentar.

5.3) Análise de compostos bioativos

5.3.1) Análise de compostos fenólicos totais e antocianinas

Os compostos fenólicos ou polifenóis constituem um grupo heterogêneo de substâncias encontradas nos alimentos vegetais em variadas concentrações, que despertam interesse, sobretudo, pelo potencial antioxidante que apresentam (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Neste contexto, as uvas e seus derivados, como o suco de uva, mostram-se como fontes apreciáveis de substâncias fenólicas, cujo consumo regular está associado a inúmeros efeitos positivos para a saúde (ROMERO-PÉREZ et al., 1999).

Dentre as amostras analisadas, observa-se que a farinha da casca da uva apresentou índices de fenólicos totais (1,36 gEAG.L-1), distinguindo-se significativamente do suco Isabel Precoce, que segundo Natividade (2010) apresentou concentração intermediária de fenólicos totais (2,67 gEAG.L-1). Esta variabilidade é justificada por Malacrida e Motta (2005) por uma série de fatores, que podem interferir diretamente no conteúdo fenólico de sucos, como: a cultivar de uva utilizada, grau de maturação, práticas agrícolas e até mesmo tipo de extração e procedimento executados durante a produção e armazenamento dos sucos.

Pesquisando o teor de compostos fenólicos em vinhos tintos tailandeses, Woraratphoka, Intarapichet e Indrapichate (2007) identificaram concentrações variando entre 1,51 a 2,93 g EAG. L-1. Valores próximos aos deste estudo foram relatados por Li et al. (2009), que em vinhos tintos chineses detectaram níveis de polifenóis entre 1,41 e 2,92 g EAG. L-1. Para vinhos brancos e rosés, os teores de polifenóis não foram maiores que 1,09g EAG. L-1.

Nesta perspectiva, infere-se que a farinha da casca da uva apresenta concentrações fenólicas próximas àquelas encontradas em vinhos tintos e superiores aos níveis observados em vinhos brancos e rosés, confirmando assim o potencial antioxidante na farinha da casca da uva.

Os níveis de antocianinas foi outro atributo avaliado na farinha da casca da uva em questão. Estas substâncias são reconhecidas como pigmentos naturais que conferem a coloração arroxeada às uvas, sendo que normalmente tem-se uma correlação positiva entre intensidade de cor e conteúdo antociânico. Para Brenes, Pozo-Insfran e Talcott (2005) as antocianinas são pigmentos que atraem a atenção das indústrias pela coloração brilhante e atrativa, além de possuírem caráter hidrossolúvel, o que amplia a possibilidade de sua aplicação como um corante natural de alimentos.

Observa-se nesta análise que o nível de antocianinas, chega a $2,3 \text{ mg.g}^{-1}$. Para efeito de comparação, Malacrida e Motta (2005), identificaram uma concentração média de antocianinas nos sucos de uva reconstituídos variando de 2,13 a 36,23 mg.L^{-1} e para os sucos de uvas simples este valor oscilou entre 1,17 a 66,80 mg.L^{-1} . Esta diferença considerável é justificada pelos autores pelo fato de diversos fatores ambientais, agrônômicos e tecnológicos afetarem o conteúdo de antocianinas das uvas e, conseqüentemente, do suco de uva. Malacrida e Motta (2006) relatam inúmeras condições do processamento do suco que interferem no conteúdo e na estabilidade das antocianinas. Processos de extração do suco que adotam o esmagamento vigoroso das bagas de uva aumentam a extração e a difusão das antocianinas.

Contudo, sensorialmente, esta técnica não é recomendada por resultar em produtos adstringentes e amargos. Outro fator importante refere-se à temperatura de extração. Embora a extração a quente promova uma maior solubilização dos pigmentos e facilite sua remoção das cascas, o aquecimento excessivo pode iniciar reações de degradação, reduzindo pela metade os teores de antocianinas quando comparado com a extração a frio.

5.3.2) Análise de FRAP E TEAC

A farinha da casca da uva apresentou atividade antioxidante ($77,85 \text{ } \mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ pelo método ABTS) e poder redutor ($134,2 \text{ } \mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ pelo método FRAP) em média. Segundo Pérez-Jiménez et al. (2008), bagaços de uvas tintas produzidas na região de Manzanares, na Espanha, apresentaram atividade antioxidante maior, de $124,4 \text{ } \mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ pelo método ABTS, em relação aos dados obtidos em nosso estudo; e poder redutor maior, de $273,9 \text{ } \mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ pelo método FRAP, o qual é atribuído aos potenciais redox dos compostos fenólicos individuais e suas propriedades estruturais, como o grau de hidroxilação e a extensão das suas

conjugações (Pulido et al., 2000). No estudo de Sánchez-Alonso et al. (2008) a fibra dietética obtida a partir de bagaço de uva da variedade Airén, produzida na Espanha, apresentou atividade antioxidante de 284 $\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ pelo método ABTS, valor superior em relação à atividade observada em nosso estudo para a farinha da casca da uva.

A partir dos dados obtidos observa-se forte relação positiva entre o teor de fenólicos e o poder redutor. O coeficiente de correlação (Figura 5.5) apresentou a correlação obtida entre o conteúdo de fenólicos totais e o poder redutor ($R = 0,998$).

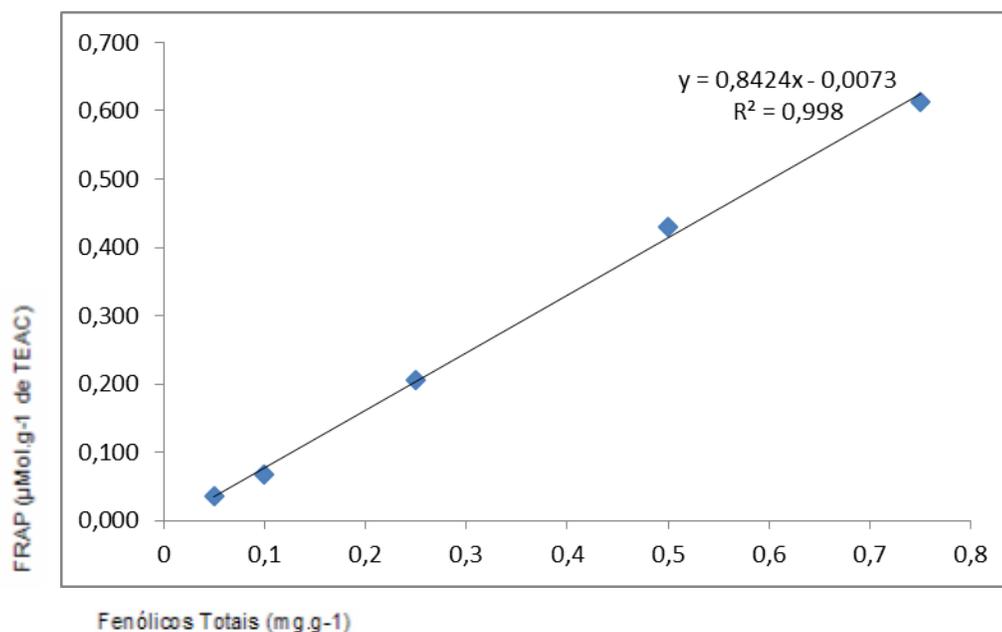


Figura 5.5. Correlação entre o conteúdo total de fenólicos e o poder redutor pelo método FRAP

5.4. Análise do tempo de desintegração das pérolas no suco gástrico

Os meios de dissolução são biologicamente compatíveis e ajustados, de modo que, as condições dos testes *in vitro* sejam mais próximas possíveis das condições fisiológicas, a fim de aumentar seu valor preditivo *in vivo* (MANADAS et al., 2002).

Os meios mais comuns utilizados são: água, solução tampão de pH entre 4,5 a 7,6 (USP, 34 Ed.), suco gástrico simulado contendo pepsina e suco intestinal simulado, contendo pancreatina (MANADAS et al., 2002; SIEWERT et al., 2002; FDA/CDER, 1997). Outros pontos importantes a serem considerados são: o volume do conteúdo gástrico, a porção do segmento intestinal e a duração do teste de dissolução, que está relacionada com o tempo de residência do produto no estômago e no intestino (SINKO, 2008).

Verificou-se que durante 120 min em fluido gástrico, as pérolas apresentaram-se estáveis, enquanto que em fluido entérico, foi observada total degradação. Em menos de 60 min os dois tipos de pérola foram degradados no fluido entérico, sendo o pH dos meios, possivelmente determinante para os resultados encontrados. Esses resultados foram corroborados com os de Pierucci (2005) em que durante 120 min em fluido gástrico, o ácido ascórbico encapsulado apresentou-se estável, enquanto que em fluido entérico, foi observada pronunciada liberação, cerca de 25% foi liberado ao final de 120 min no fluido entérico.

O microencapsulamento de nutrientes para fins de fortificação dos alimentos tem fundamento na necessidade de proteção de substâncias ativas durante o período de estocagem, na condição de que sejam liberados durante os processos digestivos, disponibilizando-os para absorção pelo organismo humano e concretizando o objetivo nutricional da fortificação. Neste sentido, a incorporação das micropartículas no suplemento energético, com avaliação da estabilidade e cinética de liberação do ativo, possibilitou avaliar a aplicabilidade das micropartículas e obtenção de perfis de liberação *in vitro* mais próximos ao que, supostamente, ocorreria em processos *in vivo* (PIERUCCI, 2005).

Os resultados indicam que o alginato é um bom agente encapsulante para a fortificação de alimentos e para entrega de nutrientes em nível gástrico onde pode liberar os ativos por mecanismo de erosão pela ação das enzimas locais.

5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As morfologias das pérolas produzidas, tanto as secas no liofilizador quanto as secas na estufa, foram avaliadas por MEV. Este tem sido utilizado em diversos estudos envolvendo pérolas e cápsulas como uma ferramenta que permite correlacionar as propriedades físico-químicas com a

estrutura morfológica, sendo possível visualizar imperfeições, presença de poros e separações de fase.

A morfologia das pérolas tendo o alginato como materiais de parede e a casca da uva foram analisadas por MEV, a qual forneceu informações sobre a forma e a integridade das mesmas, conforme as Figuras 5.6, 5.7, 5.8, 5.9 e 5.10.

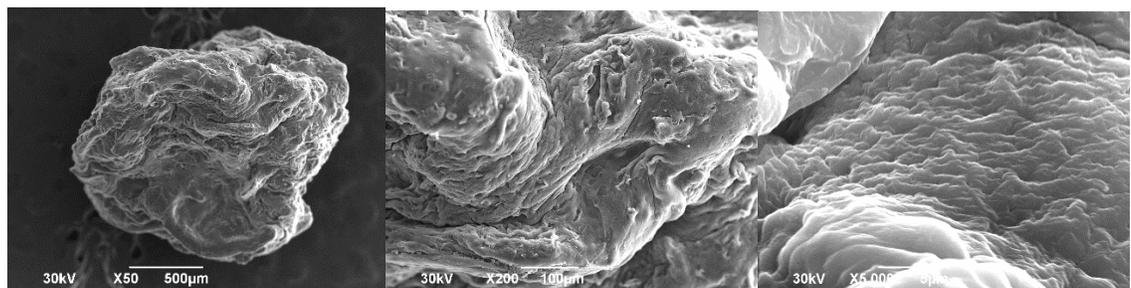


Figura 5.6. Micrografia da amostra submetida ao processo da estufa

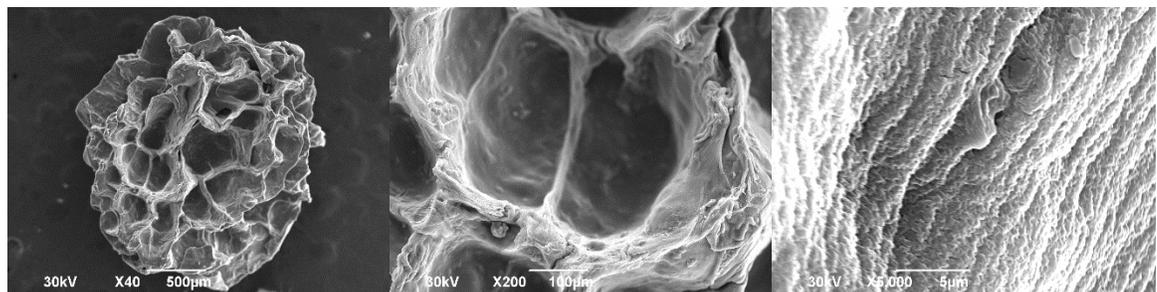


Figura 5.7. Micrografia das amostras submetidas ao processo de liofilização

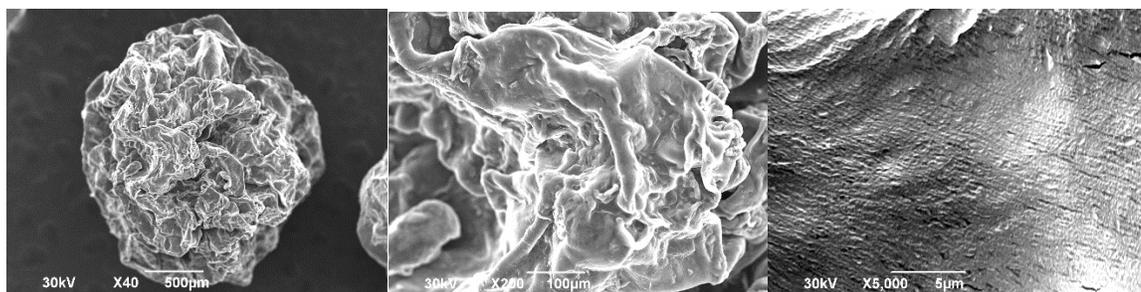


Figura 5.8. Micrografia da amostra úmida

Observando as micrografias, verificam-se pérolas imperfeitas, com deformidades e superfícies extremamente rugosas. As pérolas secas no liofilizador apresentaram uma maior irregularidade de superfície do que as secas na estufa, as quais se apresentaram mais compactadas. As deformações e rugosidades das pérolas podem ser devido ao processo de secagem, uma vez que se verifica visivelmente a redução de volume das pérolas. Segundo Pothakamury et al.(1995), a superfície rugosa de micropartículas pode provocar maior aceleração na liberação da biomolécula encapsulada do que a superfície lisa, devido à maior área superficial.

A natureza dos materiais de parede e sua modificação pelo processo de secagem podem influenciar na morfologia das pérolas. De acordo com as citações de Walton e Munford (1999), partículas revestidas com materiais de origem proteica possuem a superfície externa constituída, basicamente, por proteínas desnaturadas, as quais são irreversivelmente modificadas pelo calor, sendo desenoveladas e precipitadas, enquanto que partículas constituídas por materiais glicídicos formam estruturas bem ordenadas.

As pérolas foram colocadas no espumante por quatro semanas para avaliação do grau de intumescimento e erosão. Afinal, se os mesmos fossem elevados inviabilizaria a confecção deste produto, uma vez que apresenta a característica de elevado tempo de prateleira. Fator este que pode ser reforçado com as micrografias apresentadas nas figuras 5.9 e 5.10 semelhantes das pérolas antes e após a imersão no espumante por quatro semanas.

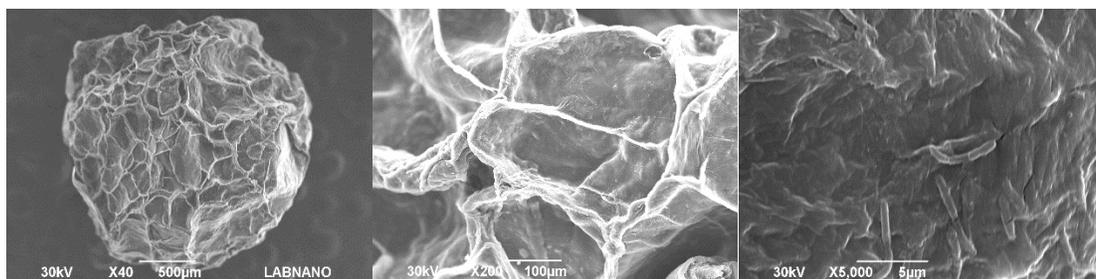


Figura 5.9. Micrografia da amostra liofilizada após 4 semanas no espumante

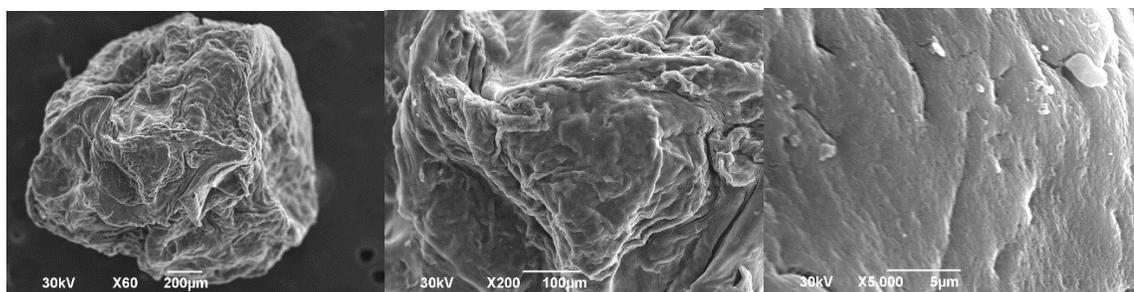


Figura 5.10. Micrografia da amostra submetida ao processo da estufa após 4 semanas no espumante

5.6) Difração de Raio X

A difratometria de raios X tem sido muito utilizada na investigação de estruturas poliméricas, já que o princípio da difração depende do fenômeno de interferência que ocorre quando uma onda em movimento é espalhada a partir de um número de centros e esses têm relação direta com os domínios cristalinos e amorfos presentes em sua estrutura (BILLMEYER Jr., 1984).

Os compostos sólidos são considerados cristalinos, amorfos ou com domínios cristalinos e amorfos (semicristalinos) e difratam facilmente a radiação X. Em difratogramas originados por polímeros, é possível observar uma acentuada banda amorfa e também partes bem-definidas, que correspondem aos domínios cristalinos, ou seja, às regiões ordenadas presentes na amostra (CANEVAROLO Jr., 2004).

Neste trabalho, as análises de difração de raios X foram realizadas no alginato que foi o material de parede utilizado no trabalho, na farinha da casca da uva Isabel que foi o material encapsulado, assim como nas pérolas contendo a casca da uva e secas tanto no liofilizador quanto na estufa. O padrão de difração de raios X do material de parede encontra-se na Figura 5.11. O alginato apresentou três bandas amorfas em 2Θ igual a 18° , 23° e 40° . Porém a literatura indica que o alginato consiste de dois picos cristalinos: um a $13,7^\circ$ e outro a 23° (WANG et al., 2010; YANG et al., 2000).

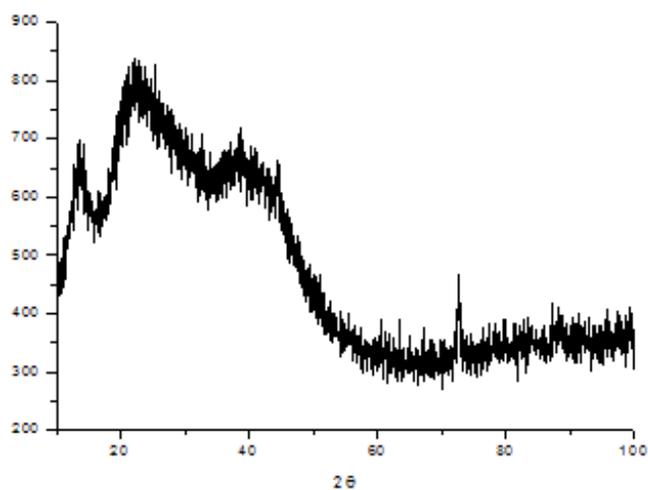


Figura 5.11. DRX do alginato

O padrão de difração de raios X para a farinha da casca da uva é mostrado na Figura.5.12. Verifica-se que há uma grande quantidade de picos, fator este que indica a intensidade de cristalinidade neste material.

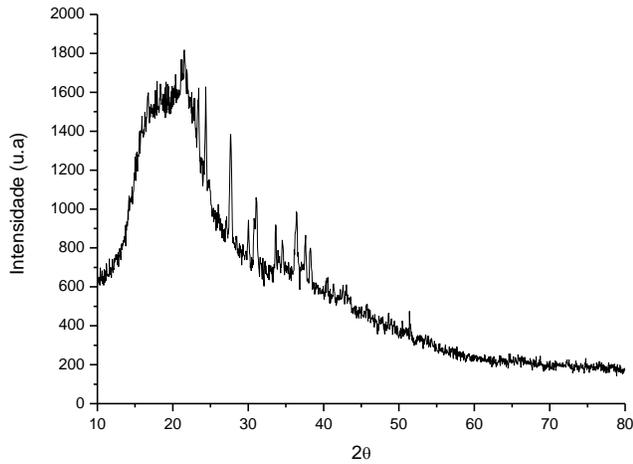


Figura 5.12. DRX da farinha da casca da uva

O padrão de difração de raios X para as pérolas de alginato/casca da uva liofilizada e alginato/casca da uva secas na estufa é mostrado na Figura. 5.13. Verifica-se que há uma diminuição na intensidade dos picos de cristalinidade da farinha da casca da uva após o encapsulamento com o alginato. Essa mudança pode ser devido à dispersão da casca da uva na matriz polimérica.

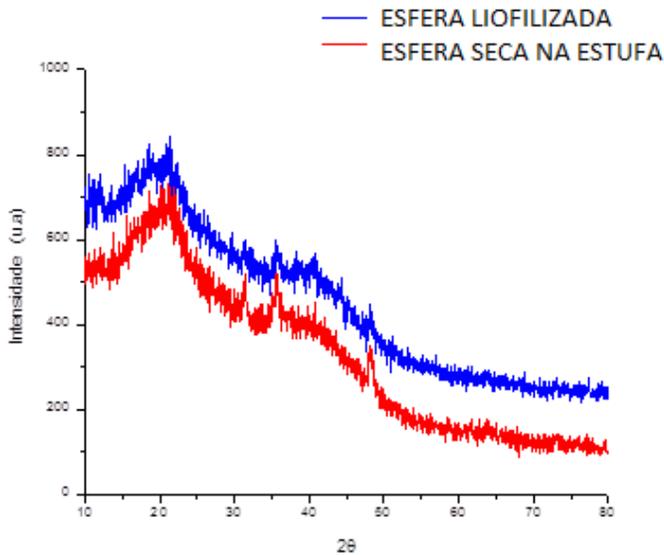


Figura 5.13. DRX das pérolas liofilizada e seca na estufa

5.7) Tamanho das pérolas

O tamanho das pérolas foi aferido com paquímetro em três momentos: antes do processo de secagem, após a liofilização e após a secagem na estufa. Os resultados das análises de distribuição do tamanho das pérolas são apresentados na Tabela 5.5. Todas as pérolas apresentaram diâmetros médios inferiores a 0,4 cm. De acordo com o processo de secagem as pérolas secas por liofilização foram as que apresentaram os maiores diâmetros médios, na faixa entre $0,19 \pm 0,003$ cm e $0,28 \pm 0,003$ cm. Os menores diâmetros médios foram encontrados nas pérolas secas pelo processo da estufa, na faixa entre $0,14 \pm 0,001$ cm e de $0,19 \pm 0,002$ cm. As esferas liofilizadas apresentaram maior tamanho devido o processo de secagem, no qual o tamanho é preservado, pois a água presente na esfera é sublimada deixando o espaço preenchido por ar, dando assim um aspecto aerado a mesma, como pode-se observar na microscopia eletrônica de varredura.

Tabela 5.5. Tamanho médio e desvio-padrão das pérolas úmida logo após a produção (a), após a secagem a 37°C na estufa (b) e após a secagem no liofilizador

N° do experimento	Tamanho médio das pérolas antes de secar (cm)	Tamanho médio das pérolas liofilizadas (cm)	Tamanho médio das pérolas secas na estufa (cm)
1	$0,36 \pm 0,003$	$0,19 \pm 0,003$	$0,14 \pm 0,001$
2	$0,39 \pm 0,003$	$0,22 \pm 0,003$	$0,16 \pm 0,001$
3	$0,35 \pm 0,003$	$0,21 \pm 0,002$	$0,16 \pm 0,002$
4	$0,4 \pm 0,004$	$0,25 \pm 0,004$	$0,17 \pm 0,001$
5	$0,35 \pm 0,003$	$0,21 \pm 0,004$	$0,15 \pm 0,002$
6	$0,38 \pm 0,002$	$0,24 \pm 0,003$	$0,18 \pm 0,001$
7	$0,35 \pm 0,001$	$0,2 \pm 0,002$	$0,15 \pm 0,001$
8	$0,39 \pm 0,004$	$0,28 \pm 0,003$	$0,19 \pm 0,002$
9	$0,35 \pm 0,002$	$0,22 \pm 0,002$	$0,16 \pm 0,001$
10	$0,35 \pm 0,001$	$0,23 \pm 0,002$	$0,16 \pm 0,001$
11	$0,35 \pm 0,003$	$0,23 \pm 0,002$	$0,16 \pm 0,001$

6 – CONCLUSÕES

A técnica utilizada no encapsulamento foi a gelificação iônica e, como previsto, mostrou-se um método simples, de fácil reprodução, barato e eficiente para a produção do encapsulado de alginato contendo a farinha da casca da uva, variedade ISABEL.

Com o material produzido o espumante rose foi enriquecido e passou a apresentar uma concentração maior de compostos fenólicos do que a habitual. Além de conferir um visual diferente e atrativo ao espumante, por meio do encapsulado.

Em microscópio eletrônico de varredura, foi verificada a análise morfológica do encapsulamento, em que foram encontrados formatos próximos ao esférico. De acordo com a difração de raios X a encapsulação foi um sucesso, pois o resultado apresentou a diminuição dos picos indicando que o material era bastante amorfo.

Os melhores resultados encontrados foram no experimento 3, no qual utilizou-se uma maior concentração da farinha da casca de uva e tempo de complexação, menor concentração de alginato e cloreto de cálcio apresentando um baixo grau de erosão. Portanto quanto menor o grau de erosão, maior será o tempo para desintegrar o encapsulado dentro do espumante. Quanto ao tempo de sedimentação, o que foi buscado no trabalho era justamente a diferença gradativa da sedimentação do encapsulado no espumante.

Com a quantificação foi comprovada a alta concentração de compostos fenólicos e antocianinas na farinha da casca de uva utilizado na confecção das pérolas.

A análise da cinética de desintegração indicou liberação rápida na desintegração no suco gástrico, o que caracteriza boa potencialidade de aplicação em uso alimentício.

Assim, o presente trabalho otimizou e caracterizou o encapsulamento da farinha da casca da uva em matriz de alginato, obtendo um produto tecnológico com possibilidade de aplicação futura em alimentos com alegação funcional, por uso de suas características nutricionais.

CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliação da análise sensorial do encapsulado no espumante;
- Análise microbiológica do encapsulado em diferentes tempos de armazenamento;
- Avaliação econômica do processo de produção das micropérolas;
- Ampliação de escala da produção das micropérolas;
- Aplicação do encapsulado a outros tipos de alimentos.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Publicação em Anais de Congressos (Resumo expandido)

A.C. G. VIERA, G.C.FONTES, M. H. M ROCHA-LEÃO e A. M. ROSSI. Microencapsulamento do resíduo do processamento agroindustrial da uva isabel (*Vitis labrusca*) por gelificação ionotrópica. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis/ SC. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014.

Publicação em Anais de Congressos (Trabalho completo)

A.C. G. VIERA, G.C.FONTES, M. H. M ROCHA-LEÃO e A. M. ROSSI. Characterization of encapsulation waste processing of agro industry grape isabel (*Vitis labrusca*) produced by ionotropic pre-gelation. In: 16th International Biotechnology Symposium and Exhibition, 2014, Fortaleza/ CE. Biotechnology for the Development of a Green Economy, 2014.

A.C. G. VIERA, G.C.FONTES, A. M. ROSSI e M. H. M ROCHA-LEÃO. Quantification of bioactive compounds from the grape skin used in encapsulation. In: 2nd Latin-America Symposium on Encapsulation, 2014, João Pessoa/ PB. Bioencapsulation Research group, 2014.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALLÉRÈS, Danielle. -Luxo: **Estratégias/Marketing**, -2. ed. -Rio de Janeiro: Editora FGV, 2008.

ANDRADE, A. C. M. Ação do vinho tinto sobre o sistema nervoso simpático e a função endotelial em pacientes hipertensos e hipercolesterolêmicos. 2006. **Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2006.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. vasc. bras.**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ALÉN-RUIZ, F., et al. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Bancellao red wines. **Food Chemistry**, v.113, n. 1, p. 53–60, 2009.

ARAÚJO, P. W. B.; QUINTANS, J.; LUCINDO, J.; VASCONCELOS, H. D.; ALMEIDA, J. R. G. S. Flavonóides e hipertensão. **Rev. bras. hipertens.**, v. 12, n. 3, p. 188-189, 2005.

ARAÚJO, A. L. de; Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2011.

- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **J. Microencapsul.**,v.10, p.413-435, 1993.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Washington, 1995. 2v.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, 16 (1), pp. 89-95, 2005.
- BAIL, S. G. et al. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, Kidlington, v. 108, n. 3, p. 1122-1132, June 2008.
- BAJPAI, S.K.; TANKHIWALE, R. Investigation of water uptake behavior and stability of calcium alginate/chitosan bi-polymeric beads: Part-1. **Reactive & Functional Polymer**, v. 66, n. 6, pp. 645-658, 2006.
- BARROS, NARA V. dos A.; PORTO, RAYSSA L.; SILVA, MARIA das G. S. S.; LEAL, MAIARA J. B.; MOREIRA-ARAÚJO, REGILDA S. dos R. Determinação de compostos bioativos na polpa e farinha do noni (*Morinda Citrifolia* Linn). **Nutrire**, vol.36, n.Suplemento (11º Congresso Nacional da SBAN), p.260-260, 2011.
- BILLMEYER Jr., F. W. **Textbook of polymer science**. 3rd. ed. New York: John Wiley & Sons, 1984.
- BITSCH, R. Pflanzenphenole und ihre gesundheitliche Wirkung. **Naturwissenschaftliche Rundschau**, Stuttgart,v. 49, n. 2, p. 47-51, 1996.
- BLOCK, G. The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk. **Nutrition Reviews**, v. 50, n. 7, p. 207-213, 1992.
- BOYLAN, J. C. et al. Microsphere technology and applications. In: **Encyclopedia of Pharmaceutical technology**. NewYork, ed. Marcel Dekker, v. 10, p. 1-29, 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 24 de julho de 1978. Aprova as normas técnicas especiais, do estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. **Diário Oficial**

[da] **República Federativa do Brasil, Brasília**, jul. 1978. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>. Acesso em: 29 ago. 2014.

BRASIL. Resolução nº 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 agosto. 2010. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br>: último acesso em 12/08/14.

BRENES, C. H.; POZO-INSFRAN, D. D.; TALCOTT, S. T. Stability of copigmented anthocyanins and ascorbic acid in a grape juice model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 1, p. 59- 56, Dec. 2005.

CAMPOS L. M.A.S. Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*):Parâmetros de processo e modelagem matemática. **Dissertação (Mestrado Engenharia de alimentos)**, Santa Catarina: p. 141, 2005.

CANEVAROLO Jr., S. V. Técnicas de caracterização de polímeros. São Paulo: **Artliber**, 2004.

CASTARÉDE, J. O luxo: os segredos dos produtos mais desejados do mundo. São Paulo: **Editora Barcarolla**, 2005.

CATANEO, C.B.; CALIARI V.; GONZAGA L. V.; KUSKOSKI E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **SEMINÁRIO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, jan./mar. 2008.

CLARK, J.P. Food encapsulation: capturing one substance by another. **Food Technology**, v.56, n.11, p.63-65, 2002.

DAL BOSCO, S.M. A relação entre a ingestão de suco de uva e a variação dos níveis de colesterol e pressão arterial sistêmica em idosos. 2006. 127 p. **Dissertação (Mestrado em Gerontologia Biomédica)** – Pontifícia Universidade católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

DENTINI, M., RINALDI, G., BARBETTA, A., RISICA, D., ANSEMI, C., SKJAK-BRAEK G. Ionic gel formation of a (pseudo)alginate characterised by an alternating MG sequence produced by epimerising mannuronan with AlgE4. **Carbohydrate Polymers**, 67 (2007), pp. 465–473.

DONBROW, M. Introduction and overview. In: **Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy**. Boca Raton, ed. CRC Press, p. 1-14, 1992.

DRAGET, K. I.; SKJAK-BRAEK, G.; SMIDSROD, O. Alginate based new materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 2, p. 47-55, 1997.

DUBOIS, B.; DUQUESNE, P. The market for Luxury Goods: income versus Culture. **European Journal of Marketing**, vol. 27, n. 1, 1993, p. 35-44.

DUBOIS, B; LAURENT, G.; CZELLAR, S. Consumer Rapport to Luxury: analyzing complex and ambivalent attitudes, **Working Paper HEC**, France, 2001.

DUDLEY, J. et al. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.20, n. 6, p. 443-452, 2008.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Databases**. Disponível em URL: [http:// faostat.fao.org](http://faostat.fao.org).

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5. edição. Brasília: 2010a.

FINOTELLI, P. V. *Microcápsulas de alginato contendo nanopartículas magnéticas para liberação controlada de insulina*. **Tese (Doutorado)** – Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Rev. bras. cancerol.**, v. 48, n. 3, p. 375-382, 2002.

FERREIRINHA, Carlos - **As Tendências no Segmento do Luxo** - 2006. Site: http://www.mcffashion.com.br/index_site.htm. Acesso em 05/04/2014

FIKSEL, J.; LOW, J.; THOMAS, J. Linking sustainability to shareholder value, **Environmental Managers Journal**. Disponível em: <http://www.economics.com/images/Linking_Sustainability_to_Value.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2014.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In MARKAKIS, P. (Ed.) (1982). **Anthocyanins as Food Colors**, New York, Academic Press, p.182-205.

FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE, A.L; TEISSEDRE, P.L., Principle phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoprotein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Columbus, v. 43, n.4, p. 890–894, 1995.

GEORGE, M.; ABRAHAM, E.T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 1-14, 2006.

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C.N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.50, p.213-224, 1999.

GRIGOLETTI Jr., A.; SÔNEGO, O.R. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Bento Gonçalves. **EMBRAPA-CNPUV**, 1993. 36p

GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W.G. Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. São Paulo: **Edgar Blücher**, p. 423-451, 2005.

GUERRA,C.C.; MANDELLI, F.; TONIETTO J.; ZANUS M. C.; CAMARGO U.A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos **EMBRAPA**. Documento n 48.Bento Gonçalves, RS.2009.

HIRSCHMAN, E.C.; HOLBROOK, M. B. The consciousness of addiction: toward a general theory of compulsive consumption. **Journal of Consumer Research**, September, 1993. Hedonic consumption: emerging concepts, methods and propositions. *Journal of Marketing*, Summer, v. 46, p. 92-101, 1982

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Levant. Sistem. Prod. Agríc. Rio de Janeiro v.26 n.1 p.1-83 janeiro.2013.

INOUE, M.; ONTSUBO, T.; IMAI, M. - *in*: Proceedings of the **24 International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials**, p. 733, Sweden, june (1997).

ISHIMOTO, E.Y. Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters. 2008. 195 p. **Tese (Doutorado em Saúde Pública)** – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

KHAIROU, S.K.; AL-GETHAMI, M.W.; HASSAN, M.R. Kinetics and mechanism of solgel transformation between sodium alginate polyelectrolyte and some heavy divalent metal ions with formation of capillary structure polymembranes ionotropic gels. **Journal of Membrane Science**, v. 209, p. 445-456. 2002.

KIM, C. K.; LEE, E.J. The controlled release of blue dextran from alginate beads. **International Journal Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 79, p. 11-19, 1992.

KING, A.H. Encapsulation of Food Ingredients:A review of available technology, focussing on hydrocolloids, “In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, ACS Symposium Series 590, Ed. By Sara J. Risch and Gary A. Reineccius. **American Chemical Society**, Washington DC. pp: 26-39. 1995.

KODAMA, Carolina, Mercado de Luxo se recupera e cresce no Brasil. In: **Consumidor Moderno**, Junho/2011. Disponível em <<http://consumidormoderno.uol.com.br>>. Acesso em 17.06.2014.

KULKARNI, A. R.; SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M. & Dave, A. M. - J. Appl. **Polym. Sci.**, 85, p. 911 (2002).

KOVAC, V.; PEKIC, B. Proanthocyanidols from grape and wine. **Contemporary Agriculture**, v. 39, n. 4, p. 5-17, 1991.

LAGIER, Joëlle; GODEY, Bruno. A Scale for Measuring Aesthetic Style in the Field of Luxury and Art Products. **International Journal of Arts Management**, Winter, v. 9, p.39, 2007.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of dryingtemperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of redgrape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, Apr. 1997.

LEMOS, A D. C.. A produção mais limpa como geradora de inovação e competitividade: o caso da fazenda Cerro do Tigre. **Dissertação (Administração de Empresas) Programa de Pós-Graduação em Administração**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1998.

LIAKOSA, I. et al. Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads. **Carbohydrate Polymers**, v.92, p. 176- 183, 2013.

LIMA, A. de Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) **Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**. São Paulo. p.182, 2008.

LI, H. et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, Kidlington, v. 112, n. 2, p. 454-460, Jan. 2009.

LINKO, P. Immobilized lactic acid bacteria. In: LARSON, A. (Ed.) **Enzymes and immobilized cells in biotechnology**. Minto Park: Benjamin Cummings, 1985. p.25-36.

LOBATO, Eliane; DUARTE, Sara - "Brasil na Rota do Luxo - São Paulo e Rio de Janeiro recebem as mais sofisticadas grifes internacionais. **Revista Isto É** edição 1651, 23/05/2001.

MACRAE, R; ROBINSON, RK; SADDLER, MJ (1993). **Wine: In Encyclopaedia of Food Science and Technology**, vol. 7, Harcourt Brace, London.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em sucos de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

MAMEDE, M. E. O.; PASTORE, G. M. Compostos Fenólicos do Vinho: Estrutura e Ação Antioxidante. Bol. **Centro Pesqui. Process. Aliment.**, v. 22, n. 2, p. 233-252, 2004.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Brazilian Journal of Pharmaceuticals Sciences**, 38 (4), 2002.

MARSHALL, R. S.; CORDANO, M.; SILVERMAN, M. Exploring Individual and Institutional Drivers of Proactive Environmentalism in the US Wine Industry. **Business Strategy and Environment**, 14, 92-109, 2005.

MARTINS, P.; BORREGO, L.M.; PRATES, S.; PIRES, G.; SANTA MARTA, C.; PINTO, P.L.; PINTO, J.R. Sulfasalazine use in treatment of chronic idiopathic urticaria – Experience of an outpatient immunoallergy clinic. **Revista Portuguesa imunoalergologia**, 13 (2), p. 165-170, 2005.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MINUTI, L.; PELLEGRINO, R. M.; TESEI, I. Simple extraction method and gas chromatography– mass spectrometry in the selective ion monitoring mode for the determination of phenols in wine. **Journal of Chromatography A**, v.1114, n. 2, p. 263–268, 2006.

MOREL-SALMI, C.; SOUQUET, J. M.; BES, M.; CHEYNIER, V. Effect of flash release treatment on phenolic extraction and wine composition. **J Agric Food Chem**, v.54, n.12, p.4270-6. Jun 14 2006.

NATIVIDADE M. M. P. Desenvolvimento, caracterização e aplicação tecnológica de farinhas elaboradas com resíduos da produção de suco de uva. **Dissertação (Mestrado) – Ciência de Alimentos**, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2010.

NETZEL, M., et al. Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine. **Journal of Food Engineering**, v.56, n. 1-2, p. 223–228, 2003.

OIV. Résolution CST 1/2008. **Guide OIV pour une vitiviniculture durable**: production, transformatin et conditionnement des produits. Verone (It): OIV, 2008. POPPLEWELL, M.L. Evaluating encapsulation economics. *Perfumer and Flavorist*, v.26, p.2-6, 2001.

OLIVEIRA, A. F. de. *et al.* Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes obtidos a partir de carboximetilcelulose e alginato de sódio na liberação de nutrientes. 17° **CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, Foz do Iguaçu, 2006.

PADILHA, G. da S. Caracterização, purificação e encapsulamento de lipase de *Burkholderia cepacia*. **Universidade Estadual de Campinas**, São Paulo, 2010.

PASQUALIM, P. *et al.* Microcápsulas de alginato de cálcio e óleo vegetal pela técnica de gelificação iônica: um estudo da capacidade de encapsulamento e aplicação dermatológica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 1518-5192, jan./jun., 2010.

PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791-800, 2006.

PIERUCCI, A. P. T. R. Microencapsulamento de vitaminas antioxidantes para fortificação de um suplemento energético para atletas. **Dissertação (Doutorado) – Ciência de Alimentos**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

POTHAKAMURY, U. R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends Food Sci. Tech.**, v. 6, n. 12, p. 397-406, 1995.

PULIDO R, BRAVO L, SAURA-CALIXTO F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidante power assay. **J Agric Foods Chem** 48:3396-3402. 2000.

RÉ, M.I. Microencapsulação – em busca de produtos ‘inteligentes’. **Ciência hoje**, v.27, n.162, p.24-29, 2000.

RENTON, T.; MANKTELOW, D.; KINGSTON, C. Sustainable Winegrowing: New Zealand’s place in the world. **Proceedings of Romeo Bragato Conference**, Christchurch, 12 and 14 September 2002.

RIZZON, L.A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. *Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola*. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**. 22 p., 1998.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.1, p.115-121, 2000.

RIZZON, L. A.; LINK, M. Composição do suco de uva caseiro de diferentes cultivares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 689-692, mar./abr. 2006.

ROCHA, W. S. da; GROSSO, C. R. F. Permeação de solutos de diferentes massas moleculares em matrizes compostas de alginato de cálcio e acetofitalato de celulose. **Sitientibus**, Feira de Santana, n.35, p. 125-148, jul./dez., 2006.

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

ROMERO-PÉREZ, A. I. et al. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 4, p. 1533-1536, Mar. 1999.

ROUX, Elyette. O luxo eterno. São Paulo: **Companhia das letras**, 2005.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of pharmaceutical Excipients. **6th. ed. London: Pharmaceutical Press**, 2009.

SÁNCHEZ-ALONSO, I., JIMÉNEZ-ESCRIG, A., SAURA-CALIXTO, F. & BORDERÍAS, A.J. (2008). Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. **LWT – Food Science and Technology**, 41, 42-50.

SANT'ANA, L. S.; MANCINI FILHO, J. Ação Antioxidante de extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de peixe da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg). **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 2, n. 1, p. 27-31, 1999.

SANTOS, A.B.; FERREIRA, V.P.; GROSSO, C.R.F. Microcápsulas – uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação: óleo-resina de páprica. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.16, p.26-30, 2000.

SANTOS, B. A. C. Compostos voláteis e qualidade dos vinhos secos jovens varietal Cabernet Sauvignon produzidos em diferentes regiões do Brasil. 2006. 176f. **Tese (Doutorado em Ciência**

de Alimentos) – Programa de Pós-graduação *Strictu sensu* da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

SANTOS, J. I. C. Vinhos: **O essencial. 5th.** São Paulo: Ed. SENAC, 2006.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, n.8 (supl.), 2000.

SCHLÜTER, G. Regina -Gastronomia e Turismo - **Coleção ABC do Turismo**, Ed. Aleph, 2003.

SEISS, W.; DIVIES, C: Microencapsulation. **Angewandte Chemie International Edition**.v.14, p.539-550, 1975.

SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, n.1-2, p.7-19, 1999.

SILVA, C. *et al.* Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.l.], v. 39, n. 31, p. 01-20, jan./mar., 2003.

SINKO, P. J. **Físico-farmácia e Ciências Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2008, 809 p.

SOUZA, G. G. et al. A uva roxa, *Vitis vinífera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças vasculares. **Natureza on-line**, v. 4, n. 2, p. 80-86, 2006.

SOUZA, K. V. de; ZAMORA, P. P.; ZAWADZKI, S. F. Imobilização de ferro (II) em matriz de alginato e sua utilização na degradação de corantes têxteis por processos fenton. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1145-1149, 2008.

STEINBERG, D. Clinical trials of antioxidants in arteriosclerosis: Are we doing the right thing? **Lancet.**, v. 346, p.36-38, 1995.

STEINBERG, D.; PARTHASARATHY, S.; CAREW, T. E.; KHOO, J. C.; WITZUM, J. L. Beyond cholesterol. Modification of low density lipoproteins that increase its atherogenicity. **NEJM**, v. 320, p. 915-924, 1989.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.19, p. 63-68, 1959.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 12-20, dez., 2006.

SUN, B.; SPRANGER, I.; ROQUE-DO-VALE, F.; LEANDRO, C.; BELCHIOR, P. Effect of different winemaking technologies on phenolic composition in Tinta Miuda redwines. **J Agric Food Chem**, v.49, n.12, p.5809-16. Dec 2001.

SZÉKELY, F.; KNIRSCH, M. Responsible leadership and corporate social responsibility: metrics for sustainable performance. **European Management Journal**, Oxford, v.23, n.6, p.628-647, 2005.

TEISSEDRE. P.L., WATHERHOUSE A.L., WALZEM R.L., GERMAN J.B., FRANKEL E.N., EBELER S.E., CLIFFORD A.J., 1996: Composés phénoliques du raisin et du vin et santé. **Bull. O.I.V.**, 781-782:252-277.

TONNESEN, H.H.; KARLSEN, J. Alginate in drug delivery systems. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 28, pp. 621-630, 2002.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. Official monographs, Validation of compendial methods. 34. ed. **Rockville: United States Pharmacopeial Convention**, 2011.

VALDUGA, E.; LIMA, L.; PRADO, R.; PADILHA, F.F.; TREICHEL, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço de uva 'Isabel'. **Ciências Agrotécnicas**, v. 32, p. 1568 – 1574, 2008.

VALIENTE, C. et al. Grape pomace as a potential food fiber. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 4, p. 818-820, July 1995.

VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; TRONCOSO, A. M.; GARCÍA-PARRILLA, M. C. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. **Food Chemistry**, v.95, n.3, p.394-404, 2006.

WALTON, D. E.; MUMFORD, C. J. Spray dried products-characterization of particle morphology. **Trans IChemE**, v. 77(a), pp. 21-38, 1999.

WANG Q.; HU, X.; DU, Y.; KENNEDY, J. F. Alginate/starch blend fibers and their properties for drug controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, pp. 842-847, 2010.

WORARATPHOKA, J.; INTARAPICHET, K.O.; INDRAPICHATE, K. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected Wines from the northeast of Thailand. **Food Chemistry, Kidlington**, v. 104, n. 4, p. 1485-1490, Oct. 2007.

WATERHOUSE, A. L.; LAURIE, V. F. Oxidation of Wine Phenolics: A Critical Evaluation and Hypotheses. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.3, n.57, p.306-313, 2006.

WILSON, N.; SHAH, N. P. **ASEAN Food Journal. Microencapsulation of vitamins, Melbourne**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2007.

YANG, G.; ZHANG, L. N.; PENG, T.; ZHONG, W. Effects of Ca²⁺ bridge cross-linking on structure and pervaporation of cellulose/alginate blend membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 175, pp. 53-60, 2000.

ZANUZ, M.C. Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva. 1991. 177f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - **Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1991

ZIMMAN, A.; JOSLIN, W. S.; LYON, M. L.; MEIER, J.; WATERHOUSE, A. L. Maceration variables affecting phenolic composition in Commercial-scale Cabernet Sauvignon Winemaking trials. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.53, n.2, p.93-982002.