



**BRUNA HELENA TEIXEIRA**

**RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DA UVA CV. BORDÔ:  
COMPLEXAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, TOXICIDADE E  
ATIVIDADE FOTOPROTETORA**

**LAVRAS – MG**

**2019**

**BRUNA HELENA TEIXEIRA**

**RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DA UVA CV. BORDÔ: COMPLEXAÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO, TOXICIDADE E ATIVIDADE FOTOPROTETORA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Química, para a obtenção do título de Licenciada.

Prof. Dra. Juliana Mesquita Freire  
Orientadora

Prof. Dra. Luciana de Matos Alves Pinto  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2019**

**BRUNA HELENA TEIXEIRA**

**RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DA UVA CV. BORDÔ: COMPLEXAÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO, TOXICIDADE E ATIVIDADE FOTOPROTETORA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Química, para a obtenção do título de Licenciada.

APROVADA EM 26 DE NOVEMBRO DE 2019.

Prof. Dr. Luciana de Matos Alves Pinto

Prof. Dr. Sérgio Scherrer Thomasi

Prof. Dra. Juliana Mesquita Freire

Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2019**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela força durante essa caminhada

A minha família principalmente a minha mãe que se esforçou muito para me manter aqui estudando.

A minha irmã Camila que sempre esteve comigo em todos os momentos.

A professora Juliana Mesquita por ser minha orientadora durante esse 4 anos de graduação, pela paciência e apoio durante estes anos.

A professora Luciana Matos pela coorientação no início do trabalho.

Ao professor Sérgio Scherrer Thomasi por aceitar fazer parte desta banca.

A minha amiga de laboratório Camila Sena por todos os momentos juntas que compartilhamos bons e ruins.

A Daniela Oliveira pelo auxílio durante a realização da atividade fosfolipásica e hemolítica.

Ao Lucas Bragança pela ajuda nos testes preliminares com a  $\beta$ -ciclodextrina.

A todos do laboratório de bioquímica que sempre estiveram dispostos a me ajudar quando necessário.

Ao Laboratório Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ) pela realização das análises de caracterização dos complexos.

Aos meus amigos de graduação Camila, Larissa, Isabella e Isis e os que conheci durante a graduação Paloma, Luana, Marília, Leticia, Ellen, Lina, Carol, Isabella Lopes, que fizeram meus dias mais felizes.

Enfim por todos que estiveram comigo e torceram por mim

Muito obrigada!!!

*À minha família, pelo apoio durante esta jornada.*

*Dedico*

## RESUMO

A população brasileira vem consumindo mais frutas in natura e processadas consequentemente a quantidade de resíduos gerados também aumentou. Estes resíduos são normalmente descartados de forma incorreta causando danos ao meio ambiente. Porém, por terem compostos bioativos estão despertando bastante interesse da indústria. As uvas por serem bastante cultivadas são uma das frutas que mais gera resíduo. Estes são ricos em compostos fenólicos que possuem atividade antioxidante. Alguns compostos fenólicos são poucos solúveis e apresentam baixa estabilidade sendo um desafio para a sua utilização. A  $\beta$ -ciclodextrina é uma molécula que apresenta o formato de um cone truncado e que possui a capacidade de modificar características físico-químicas da molécula hospedeira. Desta forma o objetivo deste trabalho foi a preparação dos complexos de inclusão da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) com as farinhas e extratos metanólicos do resíduo do processamento da uva 2016 e 2018 (FB2016, FB2018, EFB2018, EFB2016), caracterização dos complexos formados, determinação da toxicidade e atividade fotoprotetora. A preparação dos complexos de inclusão foi realizada pelo método de malaxagem e mistura física. As caracterizações foram realizadas pela espectroscopia de UV-visível, espectroscopia de absorção no infravermelho, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG). A toxicidade foi determinada pela atividade fosfolipásica e a atividade hemolítica. A atividade fotoprotetora foi determinada pelo método de Mansur. A complexação foi confirmada pela espectroscopia de UV-visível, Espectroscopia de absorção no infravermelho e a calorimetria exploratória diferencial (DSC). Porém, a termogravimetria não indicou a complexação. Pela atividade fosfolipásica pode-se observar que não houve a inibição significativa das fosfolipases, porém na atividade hemolítica houve a inibição das enzimas proteases. Sendo que a MFB2016, MEFB2016, MFFB2016 apresentaram inibição significativa de 40% em todas as proporções e as amostras FB2018 (1:0,05, 1:0,1), MFB2018 (1:0,05), MEB2018 (1:0,05, 1:0,1, 1:0,5), MFFB2018 (1:0,05, 1:0,1, 1:0,5) apresentaram inibição significativa de 30%. Na atividade fotoprotetora o EFB2016 ( $12,85 \pm 0,45$ ) e o EFB 2018 ( $6,73 \pm 0,73$ ) apresentaram um maior FPS que a FB2018 ( $5,32 \pm 0,50$ ) e FB2016 ( $2,24 \pm 0,24$ ). Dentre os complexos formados o método da malaxagem favoreceu o FPS das MFB2016 ( $6,28 \pm 2,60$ ) e MFB2018 ( $5,55 \pm 0,07$ ) e a mistura física favoreceu o FPS das MFEFB2016 ( $17,08 \pm 0,27$ ) e MFEFB2018 ( $8,48 \pm 0,25$ ). Os demais complexos apresentaram redução do FPS se comparados às amostras puras exceto o MFFB2016 que apresentou um pequeno aumento no FPS. Portanto pode-se concluir que houve a complexação e que mais estudos devem ser realizados com relação a toxicidade destes compostos. Possível inferir também que os extratos, farinhas e complexos formados apresentam um FPS que é favorecido devido ao método de complexação.

**Palavras-chave:**  $\beta$ -ciclodextrina. Compostos fenólicos. Antioxidante.

## ABSTRACT

The Brazilian population has been consuming more fresh fruits and processed, consequently the amount of waste generated also increased. These wastes are usually disposed of incorrectly causing damage to the environment. However, because they have bioactive compounds are arousing a lot of industry interests. Grapes are widely cultivated and is one of the fruits that generates more waste. These are rich in phenolic compounds that possess antioxidant activity. Some phenolic compounds are poorly soluble and have low stability and are a challenge for their use. B-cyclodextrin is a truncated cone-shaped molecule that has the ability to modify the physicochemical characteristics of the host molecule. Thus the objective of this work was the preparation of the inclusion complexes of  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) with the flour and methanolic extracts of grape processing residue 2016 and 2018 (FB2016, FB2018, EFB2018, EFB2016). toxicity and photoprotective activity. The preparation of the inclusion complexes was performed by the method of mixing and physical mixing. The characterizations were performed by UV-visible spectroscopy, infrared absorption spectroscopy, differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TG). Toxicity was determined by phospholipase activity and hemolytic activity. The photoprotective activity was determined by the Mansur method. Complexation was confirmed by UV-visible spectroscopy, infrared absorption spectroscopy and differential scanning calorimetry (DSC). However, thermogravimetry did not indicate complexation. By phospholipasic activity it can be observed that there was no significant inhibition of phospholipases, but in hemolytic activity there was inhibition of protease enzymes. Since MFB2016, MEFB2016, MFFB2016 showed significant inhibition of 40% in all proportions and samples FB2018 (1: 0.05, 1: 0.1), MFB2018 (1: 0.05), MEB2018 (1: 0 0.05, 1: 0.1, 1: 0.5), MFFB2018 (1: 0.05, 1: 0.1, 1: 0.5) showed significant inhibition of 30%. In the photoprotective activity, EFB2016 ( $12.85 \pm 0.45$ ) and EFB 2018 ( $6.73 \pm 0.73$ ) presented a higher SPF than FB2018 ( $5.32 \pm 0.50$ ) and FB2016 ( $2.24 \pm 0.24$ ). Among the complexes formed the malaxing method favored the SPF of MFB2016 ( $6.28 \pm 2.60$ ) and MFB2018 ( $5.55 \pm 0.07$ ) and the physical mixture favored the SPF of MFEFB2016 ( $17.08 \pm 0.27$ ). ) and MFEFB2018 ( $8.48 \pm 0.25$ ). The other complexes showed SPF reduction compared to pure samples except MFFB2016 which showed a small increase in SPF. Therefore it can be concluded that there was complexation and that further studies should be performed regarding the toxicity of these compounds. It can also be inferred that the extracts, flours and complexes formed have an SPF that is favored due to the complexation method.

**Keywords:**  $\beta$ -cyclodextrin. Phenolic compounds. Antioxidant.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Resíduos agroindustriais</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2 O cultivo da uva</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3 Compostos fenólicos</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4 Ciclodextrina</b> .....	<b>16</b>
<b>2.5 Atividade fosfolipásica</b> .....	<b>17</b>
<b>2.7 Atividade fotoprotetora</b> .....	<b>19</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1 Obtenção e preparo da amostra</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Preparo dos extratos</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3 Preparo dos complexos de inclusão (CI)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3.1 Malaxagem (M)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.4 Mistura física (MF)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.5 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE</b> .....	<b>22</b>
<b>3.6 Caracterização dos complexos de inclusão (CI)</b> .....	<b>22</b>
<b>3.6.1 Espectrofotometria de UV- visível</b> .....	<b>22</b>
<b>3.6.2 Espectroscopia de Infravermelho</b> .....	<b>22</b>
<b>3.6.3 Calorimetria exploratória diferencial</b> .....	<b>23</b>
<b>3.6.4 Termogravimetria</b> .....	<b>23</b>
<b>3.7 Atividade fosfolipásica em meio sólido</b> .....	<b>23</b>
<b>3.8 Atividade hemolítica em meio sólido</b> .....	<b>23</b>
<b>3.9 Determinação do fator de proteção solar (FPS)</b> .....	<b>24</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2 Caracterização dos complexos de inclusão</b> .....	<b>30</b>



<b>4.2.1 Espectrofotometria de UV-visível .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....</b>	<b>37</b>
<b>4.2.4 Termogravimetria (TG) .....</b>	<b>42</b>
<b>4.3 Análise da toxicidade dos complexos de inclusão .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.1 Atividade fosfolipásica em meio sólido .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.2 Atividade hemolítica.....</b>	<b>52</b>
<b>4.4 Atividade fotoprotetora.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>57</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Como a população brasileira vem se alimentando cada vez mais de mais frutas *in natura* e processadas a proporção de resíduos produzidos também aumentou. Este fato é um problema, pois normalmente estes resíduos não tem uma destinação correta. Mas, por terem compostos bioativos, têm despertado o interesse de vários segmentos para agregação de valor a este resíduo.

Dentre as frutas a uva é a que se destaca por ser amplamente cultivada, consumida e processada, conseqüentemente, a quantidade de resíduos produzidos também é enorme. Esse resíduo é rico em compostos fenólicos, que são metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Na uva são encontrados compostos como ácidos fenólicos, antocianinas, flavonóides, entres outros, que podem ser utilizados como antioxidantes naturais pela indústria. Na literatura é relatado que os compostos fenólicos possuem atividade anticarcinogênica, anti-inflamatória e contra doenças cardiovasculares. Alguns compostos fenólicos apresentam baixa solubilidade e são poucos estáveis dificultando a sua utilização.

As ciclodextrinas são oligossacarídeos que tem o formato de um cone truncado, constituídos de unidades D-glicose unidas por ligações  $\alpha$ - (1-4). Estas tem a capacidade de modificar as características físico-químicas das moléculas hospedeiras, tais como a solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade, sabor e odor.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi a preparação dos complexos de inclusão da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) com as farinhas e extratos metanólicos do resíduo do processamento da uva cv. Bordô 2016 e 2018 (FB2016, FB2018, EFB2016, EFB2018), caracterização dos complexos formados, determinação da toxicidade e atividade fotoprotetora.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Resíduos agroindustriais**

A população brasileira tem modificado seus hábitos alimentares e consumido mais frutas *in natura* e processadas. Desta maneira, houve um aumento na produção e consequentemente um aumento dos resíduos gerados. Mundialmente, o processamento de frutas gera milhões de toneladas de resíduos agroindustriais, que para as indústrias são um problema pois não tem uma destinação, geram custos e danos ambientais se descartados de forma incorreta. Na produção de sucos e polpas estima-se que são produzidos de 30 a 40% de resíduos agroindustriais – estes variam sua composição de acordo com a fruta processada, mas geralmente são constituídos por cascas, sementes, caroços e polpa. Assim, as indústrias vêm pesquisando alternativas que agreguem valor a este resíduo e evitem a contaminação do meio ambiente (NASCIMENTO FILHO; FRANCO, 2015).

Grande parte destes resíduos é rico em compostos bioativos eficientes no combate aos danos oxidativos promovidos pelos radicais livres, como os antioxidantes, que são compostos de alta importância comercial. Estes são amplamente utilizados nos ramos de farmácia, cosmetologia e nutricional, além de serem empregados como aditivos alimentares (SARAIVA et al., 2018).

Uma das frutas que gera mais resíduos mundialmente é a uva, por ser amplamente cultivada. No mundo todo são produzidos 73 milhões de toneladas de uvas e deste total 20% são resíduos (BENDER et al., 2016). No ano de 2017, no Brasil, foram elaborados 303,46 milhões de litros de vinho no Rio Grande do Sul e, consequentemente, uma grande quantidade de resíduos foi gerada (SARAIVA et al., 2018).

### **2.2 O cultivo da uva**

O início do cultivo de uvas no Brasil ocorreu com a vinda dos portugueses, trazendo com eles uvas de origem europeia. Já mais tarde, com a chegada dos italianos ao país foi inserido o cultivo da uva cv. Isabel que substituiu as uvas europeias que eram cultivadas anteriormente. Esta produção sempre ocorreu nas regiões sul e sudeste, principalmente pelo clima temperado que favorece o cultivo. Mas, com o progresso nas técnicas de produção, começou-se a produzir uvas em regiões tropicais como o Vale do Sub-Médio São Francisco, norte de Minas Gerais e noroeste paulista (DEBASTIANI et al., 2015).

Uma das cultivares de uvas americanas que se sobressai é a cv. Bordô por sua excelente adequação ao clima brasileiro, por ter boa fertilidade e ser bastante resistente a

doenças causadas por fungos. Esta é empregada principalmente na elaboração de vinhos e sucos (POZZAN; BRAGA; SALIBE, 2012).

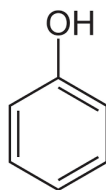
Esta cultivar é da espécie *Vitis labrusca* e pode ser chamada também de “Terci” ou “Ives” e teve sua origem na costa leste americana. É uma uva rústica que distingue-se das outras por apresentar alta coloração, o que acarreta em vinhos de mesa e sucos muito coloridos. Em 2013, no Rio Grande do Sul, foram processadas 127.000 toneladas desta uva (SILVEIRA; HOFFMANN; GARRIDO, 2015).

A partir do processamento da uva cv. Bordô são gerados grandes quantidades de resíduos, e estes possuem vários compostos bioativos como ácidos fenólicos, antocianinas, flavonoides, entre outros. Desta maneira, estes resíduos podem ser usados pela indústria como fonte de antioxidantes naturais (BENNEMANN et al., 2016).

### 2.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos podem ser definidos como metabólitos secundários das plantas, sendo originado quando a planta sofre algum tipo de estresse como falta de água, alterações de temperatura, entre outros. Quimicamente eles são substâncias que apresentam pelo menos um anel de benzeno hidroxilado (Figura 1). Estes compostos são relevantes por apresentarem inúmeras propriedades benéficas ao ser humano, como atividade antioxidante, ação anti-inflamatória, e contra doenças degenerativas (BRANDÃO et al., 2019).

Figura 1- Anel de benzeno hidroxilado.



Fonte: GUILARDUCI et al., (2006)

Estas propriedades benéficas ocorrem pelos compostos fenólicos terem a habilidade de prevenir a peroxidação lipídica, evitar o dano oxidativo do DNA e estabilizar os radicais livres, que ocasionam o enfraquecimento do sistema imunológico, alteração na expressão gênica, ocasionando doenças crônicas degenerativas e envelhecimento (BARBOSA et al., 2018).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos ocorre porque eles agem

sequestrando radicais livres, doando átomos de hidrogênio ou elétrons e quelando cátions de metais. Desta maneira, eles têm ação tanto no início quanto na propagação da oxidação. Durante este processo formam-se intermediários que são parcialmente estáveis por existir ressonância no anel aromático presente na estrutura desses compostos (COSTA; JORGE, 2015).

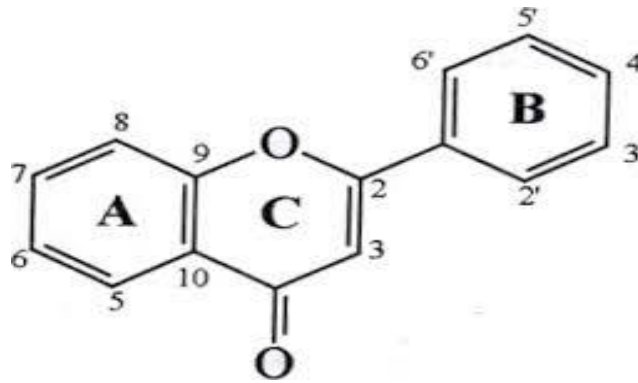
Os compostos fenólicos são encontrados em diversas partes da planta, sendo sua maior quantidade encontrada em frutos como morango, uva, cereja e ameixa. Assim como em cereais e leguminosas, verduras e bebidas feitas a partir destes, como vinhos, sucos, chás, cerveja, entre outros (SUCUPIRA et al., 2012).

Dentre as frutas, a uva se sobressai por apresentar um alto teor de compostos fenólicos. Estes tem a função de garantir os aspectos do vinho como cor, adstringência, sabor e corpo, sendo também associadas a benefícios a saúde humana quando consumidas na forma de vinho moderadamente (SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018).

Os compostos fenólicos presentes na uva variam de acordo com a cultivar e podem ser classificados em flavonoides (flavonóis e antocianinas) e não flavonoides (ácidos fenólicos, hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos) e o resveratrol (polifenolestilbeno) (LOPEZ et al., 2017).

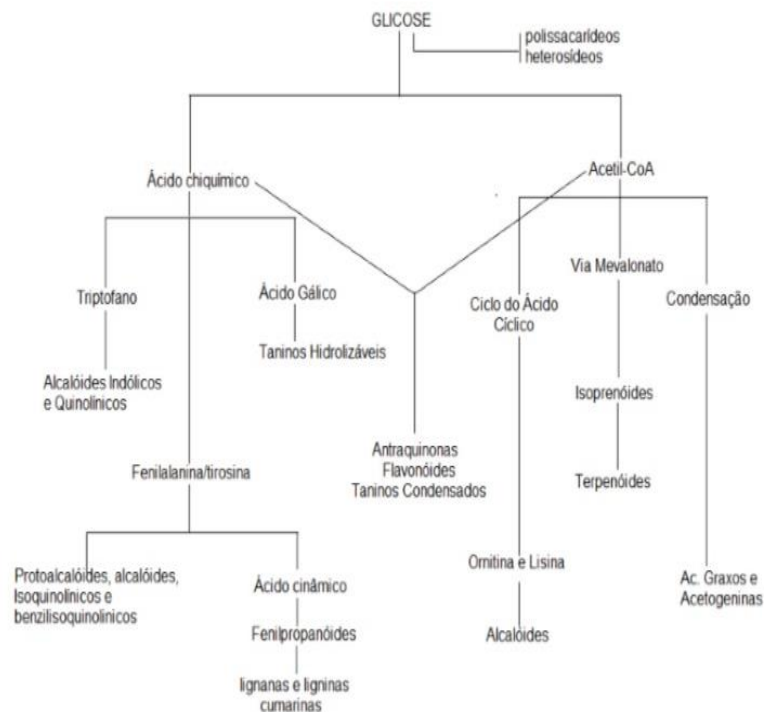
Os flavonoides (Figura 2) são metabólitos secundários largamente presentes em frutas, folhas, chás, vinhos, entre outros. Nas plantas eles têm a finalidade de preservá-las contra agentes oxidantes. Estes são compostos por três anéis que podem ter alterações em sua estrutura química como hidroxilação, hidrogenação, metilação e sulfonação. Com essas modificações podem ser constituídos mais de quatro mil flavonoides, e estes são divididos em categorias. Eles são advindos da via do ácido chiquímico (Figura 3) que forma substâncias com anéis aromáticos e da via do acetato (RODRIGUES DA SILVA et al., 2015).

Figura 2 – Núcleo fundamental dos flavonóides.



Fonte: RODRIGUES DA SILVA et al., (2015)

Figura 3 - Ciclo biosintético dos metabólitos secundários.



Fonte: Barbosa (2014)

Os flavonóis são flavonoides presentes em uma variedade de plantas. São pigmentos naturais que se concentram nas configurações mono-, di-, ou triglicosídeos. Nas plantas atuam na preservação da fertilidade, como nas flores, onde são pigmentos que tem a função de atrair insetos polinizadores ou de repelir outros que podem causar danos às plantas (ISHIHARA et al., 2015). Na caracterização da farinha do bagaço da uva da cultivar Marcelam realizada por BENDER et al. (2016) encontrou-se os flavonóis luteolina, kaempferol, cianidina, quercetina, rutina, quercitrina e catequina. Já NISHIYAMA (2016) observou na caracterização da casca

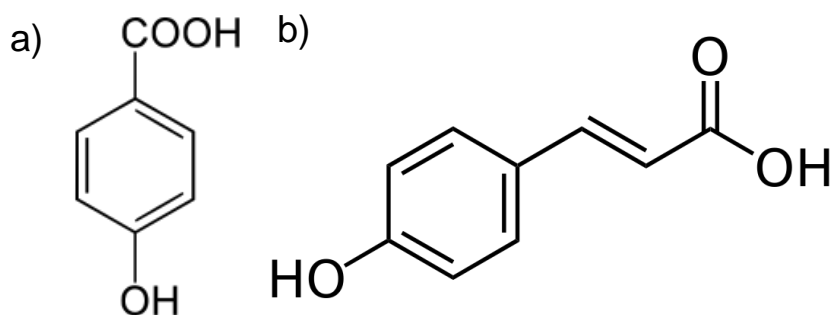
da uva das cultivares BRS Carmem e BRS MAGNA os seguintes compostos: malvidina, miricitina, laricitrina, quercetina, isoramnetina e seringetina.

Além dos flavonóis, as antocianinas também fazem parte do grupo dos flavonoides. Elas são pigmentos que dão cor a maioria das flores, frutos, folhas, caules e raízes de plantas. Por sua grande variedade de cores, as antocianinas podem ser usadas como indicadoras de pH. Sua coloração é determinada pela sua estrutura química, como posições dos grupos substituintes (hidroxilas e metoxilas) e número de grupos presentes nas moléculas (MENEZES et al., 2015). As antocianinas são identificadas principalmente em frutas e flores, sendo as mais relevantes as catequinas, epicatequinas, o luteoforol, procianidinas e as flavonas, existentes principalmente em frutas cítricas (RODRIGUES DA SILVA et al., 2015).

Os ácidos fenólicos são metabólitos secundários das plantas chamados de não flavonoides e são divididos em ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos (Figura 4) (URIAS ORONA et al., 2016). Nas uvas os ácidos hidroxibenzóicos geralmente encontrados são os ácidos gálico, protocateico, siríngico, vanílico e elágico. Já os ácidos hidroxicinâmicos normalmente encontrados são os ácidos cafeico, cumárico, ferúlico e caftárico (LIMA, 2012).

Estas substâncias apresentam um grupo carboxílico ligado ao anel aromático (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) e podem ter grupos substituintes nas posições meta e para. Já os ácidos hidroxicinâmicos são constituídos por uma cadeia lateral composta por três carbonos ligada ao anel aromático (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Os representantes mais relevantes dessa classe são os ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico e sináptico (SILVA, 2016).

Figura 4 - Representação da estrutura básica de um ácido hidroxibenzóico (a) e do ácido hidroxicinâmico (b).



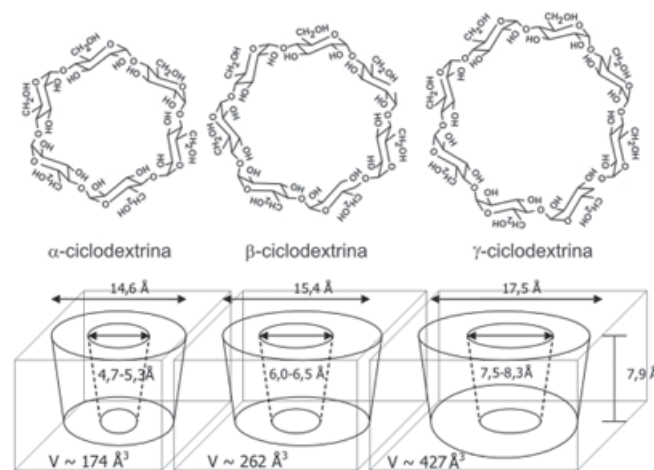
Fonte: Do Autor (2019)

A estrutura geral de um ácido fenólico é composta por um núcleo fenólico e uma cadeia lateral insaturada, o que possibilita a formação de um radical fenoxi que é estabilizado por ressonância. Por ter esta estrutura, os ácidos fenólicos tem um grande potencial antioxidante (URIAS ORONA et al., 2016).

## 2.4 Ciclodextrina

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos com formato de um cone truncado, constituídos de unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -(1,4). As ciclodextrinas naturais mais empregadas são a  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ - ciclodextrina (Figura 5), sendo elas compostas de 6, 7 e 8 unidades de D-glicose, respectivamente (RAKMAI et al., 2017). Estas são resultado da degradação do amido pela ação da enzima ciclodextrina glicosiltransferase, que é sintetizada por alguns microorganismos como o *Bacillus macerans* por exemplo (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2015).

Figura 5 – Estrutura e propriedades da  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD.



Fonte: VENTURINI et al., (2008)

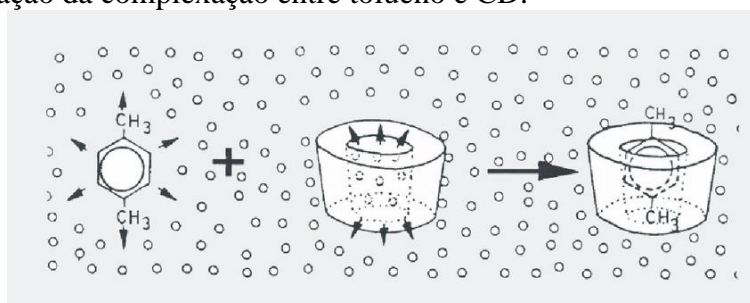
Elas têm a capacidade de constituírem complexos de inclusão molecular com moléculas com características anfífilas, hidrofóbicas e agentes tensoativos (JUNIOR et al., 2015). Desta maneira, podem modificar as características físico-químicas das moléculas hospedeiras, tais como a solubilidade aquosa, estabilidade, biodisponibilidade, sabor e odor (BARACHO et al., 2015).



Esta capacidade de complexação se deve a conformação espacial e aos grupos funcionais presentes na molécula de ciclodextrina, que garantem a cavidade interna um caráter hidrofóbico e a sua parte exterior um caráter hidrofílico (SOUZA; MORGON, 2016). A cavidade interna ser apolar proporciona que as ciclodextrinas possam receber uma molécula hóspede ou parte dela originando complexos de inclusão (URBAN et al., 2016).

A complexação (Figura 6) ocorre quando as moléculas de água presentes no meio são substituídas pela molécula hospedeira com caráter hidrofóbico. Esta substituição é energeticamente acessível, pois possibilita uma mudança favorável de entalpia. Ocorre um aumento da entropia e uma diminuição da energia total do sistema. Estas circunstâncias colaboram para a elevação da estabilidade do complexo formado. Outros fatores que ajudam na complexação e na estabilidade do complexo são as interações de Van der Waals, interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio (SOUZA et al., 2016).

Figura 6 - Representação da complexação entre tolueno e CD.



Fonte: Marques (2010)

Dentre as ciclodextrinas, a  $\beta$ -ciclodextrina é a mais empregada pois sua cavidade interior pode alojar moléculas de massa molecular entre 100 e 400 g mol<sup>-1</sup>, sendo portanto grande parte das moléculas de interesse. Outro fator para seu grande uso é o preço, que é bem menor, se comparado com as outras ciclodextrinas (AGUIAR et al., 2014).

Por suas variadas propriedades, estas moléculas podem ser utilizadas em diversas áreas, como na indústria de cosméticos, alimentos, farmacêutica, química e também na agricultura, têxteis, biotecnologia, entre outras (AGUIAR, 2015).

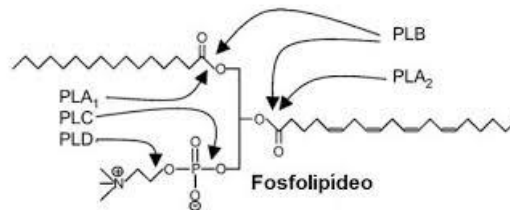
## 2.5 Atividade fosfolipásica

As fosfolipases são enzimas lipofílicas identificadas como A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, C ou D, conforme a posição em que ocorre a hidrólise lipídica. Estas catalisam a hidrólise de ácidos

graxos na posição sn-2 de fosfolipídios das membranas (Figura 7) e, desta maneira, liberam lisofosfolipídeos ou ácidos graxos livres, principalmente os ácidos poli-insaturados como o ácido araquidônico (CEDRO et al., 2018).

As membranas celulares são constituídas de fosfolipídios que são compostos de variações dos triacilgliceróis onde são encontrados grupos fosfato, ácidos graxos, glicerol e grupamentos álcool. Estes fosfolipídios podem reagir com inúmeras substâncias e dessa forma, provocar alterações na membrana celular, ocasionando mudanças na entrada e saída de líquidos e íons. Os compostos de origem natural podem agir de forma semelhante as fosfolipases ou inibindo a ação das mesmas resultando em uma atividade anti-inflamatória e alterando a coagulação sanguínea e a agregação plaquetárias (REZENDE et al., 2017).

Figura 7 – Ação das fosfolipases nos sítios da molécula de fosfolipídeo. As setas indicam a posição de hidrólise das enzimas fosfolipase A1 (PLA1), fosfolipase A2 (PLA2), fosfolipase B (PLB), fosfolipase C (PLC) e fosfolipase D (PLD).



Fonte: Magalhães (2017)

As peçonhas de serpentes possuem proteases e fosfolipases A<sub>2</sub> que são capazes de agir sobre inúmeros constituintes da cascata de coagulação, receptores da matriz extracelular e da membrana basal, assim como em constituintes das membranas plaquetárias. Estas enzimas são capazes de apresentar 96% de homologia com seus homólogos humanos. Por este motivo, estas podem ser empregadas para provocar os impactos sobre a hemostasia, atividades enzimáticas de fosfolipase A<sub>2</sub> e proteases (MARQUES et al., 2019).

#### a) Atividade hemolítica

A hemólise corresponde a lise dos glóbulos vermelhos também denominados de eritrócitos em que acontece a quebra da bicamada lipídica presente na membrana plasmática, liberando desta maneira a hemoglobina, e este fato pode ocasionar graves danos a órgãos como fígado, rins e coração (REZENDE et al., 2017).

A atividade hemolítica consiste em determinar a capacidade que uma substância tem de causar danos à membrana celular do eritrócito (SILVA, 2016).

Diversas substâncias químicas como os antibióticos e antiinflamatórios são capazes de promover a hemólise dos eritrócitos. Não apenas substâncias de origem sintética, mas também substâncias naturais, tais como peçonhas de animais (REZENDE et al., 2017).

Substâncias químicas que tem características hidrofílicas e lipofílicas podem induzir a hemólise por causar danos as bicamadas de lipídios presentes nas membranas celulares (SILVA, 2014).

Desta maneira, existe a necessidade de avaliar a atividade biológica e toxicológica dos extratos de substâncias naturais. Há diversas metodologias capazes de avaliar a atividade hemolítica, porém a mais utilizada é a análise dos halos formados em placas de ágar com sangue (BEDNARCZUK et al., 2010).

## **2.7 Atividade fotoprotetora**

A atividade fotoprotetora possibilita estabelecer a capacidade que as substâncias químicas extraídas de plantas têm de preservar a pele do aparecimento de eritemas e edemas, além de diminuir as chances de carcinoma de células da camada basal e espinhosa (ORLANDA; VALE, 2015).

A fotoproteção tem grande relevância não somente pela prevenção de queimaduras, mas também pela sua capacidade de proteger contra consequências da exposição aos raios UVA e UVB as células, estruturas celulares e o desenvolvimento de cânceres de pele (ORLANDA; VALE, 2015).

O sol emite radiações na faixa do ultravioleta e estas constituem o seu espectro eletromagnético. Esta radiação contém os comprimentos de onda entre 100-400 nm e é fragmentada em UVC (100-280 nm), UVB (280-320 nm) e UVA (320-400 nm). Nem todas as radiações são capazes de chegar à superfície da Terra. Por exemplo, a radiação UVC não alcança a superfície, pois seus raios são absorvidos nas camadas superiores da atmosfera ocasionando a formação do ozônio. Já a radiação UVA não é tão danosa à pele se comparada a radiação UVB (GONÇALVES et al., 2018).

A radiação UVB é levemente absorvida na camada de ozônio, porém a parte que chega a superfície terrestre tem habilidade de introduzir-se inteiramente na epiderme, causando o espessamento da camada córnea, produção de eritema e conversão do ergosterol em vitamina D. Pelos seus raios terem maior energia estes podem causar queimaduras e pigmentação da

pele. Além deste fato, a exposição por longos períodos a estes raios está relacionada a mutações no gene de supressão tumoral, devido ao DNA ter absorvido estes raios (CARVALHO et al., 2015).

As plantas possuem compostos que podem ser usados na fotoproteção dentre elas estão os antioxidantes como as vitaminas C e E, os taninos, alcaloides e flavonoides. Esses compostos são conhecidos como metabólitos secundários e tem diversas aplicabilidades como defensores contra insetos, antiviral, antioxidante, antibacteriana, entre outras (CARVALHO et al., 2015).

Estudos indicam que plantas que possuem compostos fenólicos podem ter ação fotoprotetora. Isso se deve a presença de anéis aromáticos em sua estrutura, pois estes, na existência da radiação UV absorvida ocasionam uma “excitação” na molécula elevando-a a um nível de energia superior e depois voltando ao seu nível de energia inicial. Quando a molécula volta ao seu nível inicial ela libera energia de menor potencial e absorve a radiação UV (CARVALHO et al., 2015).

A uva por ser uma fruta que apresenta alto teor de compostos fenólicos como taninos e flavonóides pode apresentar, além da atividade antioxidante, a atividade fotoprotetora e desta forma ser utilizada na produção de fotoprotetores (DENGO; FERREIRA, 2017).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Obtenção e preparo da amostra**

Os resíduos das uvas cultivar Bordô foram cedidos pelo Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras no ano 2016 após o processamento do suco de uva. Os resíduos foram levados para o Departamento de Química, no Laboratório de Bioquímica, e colocados no congelador. Após o congelamento estes foram levados ao liofilizador para a retirada da água. Após uma semana os resíduos foram retirados e triturados com o auxílio de um moinho para a obtenção da farinha. Esta foi armazenada em potes plásticos protegidos da luz e levada para a geladeira a 4 °C até a realização das análises. Foram utilizadas nas análises duas farinhas com tempos de armazenagem diferentes: uma com 24 meses (FB2016) e outra preparada no mês das análises (FB2018).

#### **3.2 Preparo dos extratos**

Para a obtenção dos extratos metanólicos da farinha do resíduo do processamento da uva 2016 e 2018 (EFB2016 e EFB2018), utilizou-se 1 g de farinha do resíduo do processamento da uva com 50 mL de metanol 50%, sob refluxo, em chapa aquecedora a 60 °C, por 15 minutos de fervura, em quatro repetições. Logo após, o extrato foi filtrado em papel de filtro e recolhido. O resíduo da extração foi submetido novamente ao processo de extração por mais duas vezes. Os filtrados foram evaporados em chapa aquecedora para a eliminação do metanol presente. Após o resfriamento o filtrado foi congelado, liofilizado e pesado para a determinação do rendimento.

#### **3.3 Preparo dos complexos de inclusão (CI)**

##### **3.3.1 Malaxagem (M)**

Foi pesado 0,01 g de cada uma das amostras (FB2016, FB2018, EFB2016, EFB2018) e 0,01 g de  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) (proporção 1:1 m/m) e transferidos para um almofariz. Essa mistura foi umedecida com uma solução 50% etanol e macerada com o pistilo até que formasse uma pasta. Essa pasta foi transferida para uma placa de petri e levada para o dessecador por 48 horas para que fosse seca. A malaxagem da farinha bordô 2016 (MFB2016), malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018), malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016) e malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018) obtidos foram acondicionados em frascos hermeticamente fechados e recobertos com papel alumínio a -22 °C.

##### **3.4 Mistura física (MF)**

Pesou-se 0,01 g de cada uma das amostras (FB2016, FB2018, EFB2016, EFB2018) e 0,01 g de  $\beta$ -CD (1:1 m/m), verteu-se essas quantidades no almofariz e macerou-se até que se

obtivesse uma mistura com aparência homogênea. As misturas físicas da farinha bordô 2016 (MFFB2016), mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018), mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFEFB2016) e mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018) foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados, revestidos com papel alumínio e armazenados a -22 °C.

### **3.5 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE**

A análise cromatográfica foi realizada utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência CLAE Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão LC-20AT, um detector UV-visível modelo SPD-M20A, forno CTO-20AC, uma interface CBM-20A e um injetor automático com amostrador SIL-20A. As separações foram realizadas utilizando-se uma coluna Shim-pack VP-ODS-C18 (250 mm x 4,6 mm) conectada a uma pré-coluna Shim-pack Column Holder (10 mm x 4,6 mm).

As amostras (farinhas e extratos metanólicos do resíduo do processamento da uva) foram diluídas em metanol 50% na proporção 1:5 (v/v), e os padrões fenólicos foram filtrados em membrana de 0,45 µm (Millipore®) e injetados no cromatógrafo.

Os compostos fenólicos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões. Os padrões utilizados foram: ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido m-cumárico, ácido o-cumárico, resveratrol e trans-cinâmico. A quantificação foi realizada através da construção de curvas analíticas obtidas por regressão linear, considerando o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,99 (MARQUES et al., 2016).

### **3.6 Caracterização dos complexos de inclusão (CI)**

#### **3.6.1 Espectrofotometria de UV- visível**

Foram preparadas quatro soluções das amostras (FB2016, FB2018, EFB2016, EFB2018) com  $\beta$ -CD nas seguintes proporções (m/m) 1:0, 1:2; 1:50, 1:100, em 20 mL de água. As soluções foram levadas ao agitador por 30 minutos e posteriormente centrifugadas. Logo após foi realizada a varredura no espectrofotômetro de UV-visível Varian Cary 50 na faixa de 200 a 700 nm.

#### **3.6.2 Espectroscopia de Infravermelho**

O espectro de infravermelho foi obtido pela varredura realizada no espectômetro Digilab Excalibur série FTS 3000. Foram pesadas 194 mg de KBr e 6 mg de cada amostra (farinhas, extratos, CI e  $\beta$ -CD) para o preparo da pastilha de KBr. O material pesado foi

levado a estufa a 60 °C por 2 horas. Em seguida foram colocadas em um dessecador e levadas a prensa hidráulica, por 10 segundos, sob uma pressão de 3 toneladas. Foram realizadas leituras das amostras na região do infravermelho entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.6.3 Calorimetria exploratória diferencial**

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram registradas em um equipamento DSC 60 Shimadzu. Foram pesadas 5,5 mg de cada uma das amostras (farinhas, extratos, CI e  $\beta$ -CD) com precisão, em painéis de amostra DSC, que foram hermeticamente seladas e aquecidas a uma taxa de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ , em um intervalo de 30 a 300 °C, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50  $\text{mL min}^{-1}$ .

### **3.6.4 Termogravimetria**

A estabilidade térmica das amostras (farinhas, extratos, CI e  $\beta$ -CD) foram avaliadas por análise termogravimétrica, utilizando-se um aparelho Shimadzu Modelo 60 AH. As curvas de termogravimetria (TG) foram obtidas sob atmosfera de  $\text{N}_2$  com temperaturas variando entre 25 °C e 600 °C, com fluxo de gás de 30  $\text{mL min}^{-1}$ , massa inicial de cada uma das amostras de cerca de 5 mg e taxa de aquecimento de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ .

### **3.7 Atividade fosfolipásica em meio sólido**

Para análise da atividade fosfolipásica das amostras (farinhas, extratos metanólicos, CI e  $\beta$ -CD), foram dissolvidos 3,0 g de ágar em 300 mL de PBS (fosfato tamponado em salina) até a obtenção de uma solução transparente pelo aquecimento em micro-ondas. Esta solução foi resfriada até atingir a temperatura de 75 °C, acrescentando-se 3,0 mL de cloreto de cálcio. Quando a solução atingiu 60 °C adicionou-se 0,1 g de azida de sódio, reduzindo a temperatura para 50 °C. Adicionaram-se então 3,6 mL de gema de ovo sem envoltório membranoso produzindo o meio para a atividade, rico em leticina, e o meio foi vertido em placas de Petri. Após a solidificação do meio, foram feitos orifícios de 3 a 4 mm de diâmetro no mesmo. As amostras nas proporções 1:0,05; 1:0,1; 1: 0,5; 1:1 foram adicionadas aos orifícios, e as placas levadas para a estufa BOD a 37 °C. A avaliação foi realizada pela medida do diâmetro do halo formado, após 24 h de incubação (PRICE et al., 1982).

### **3.8 Atividade hemolítica em meio sólido**

Para a análise da atividade hemolítica das amostras (farinhas, extratos metanólicos, CIs e  $\beta$ -CD), foram dissolvidos 3,0 g de ágar em 300 mL de PBS até a obtenção de uma solução transparente pelo aquecimento em micro-ondas. Esta solução foi resfriada até atingir a temperatura de 75 °C, acrescentando-se 3,0 mL de cloreto de cálcio. Quando a solução atingiu 60 °C adicionou-se 0,1 g de azida de sódio, reduzindo a temperatura para 50 °C. Adicionaram-se então 3,6 mL de eritrócitos sanguíneos. O meio foi adicionado as placas de

Petri. Foram feitos poços no meio entre 3 e 4 mm de diâmetro, as amostras nas proporções 1:0,05; 1:0,1; 1: 0,5; 1:1 foram adicionadas nos poços, e as placas levadas a estufa BOD a 37 °C. A avaliação foi realizada pela medida do diâmetro do halo formado, após 24 h de incubação (PRICE et al., 1982)

### 3.9 Determinação do fator de proteção solar (FPS)

O FPS foi determinado *in vitro* nas amostras (farinhas, extratos metanólicos, CIs e  $\beta$ -CD) pelo método espectrofotométrico de acordo com Mansur (1986). As amostras foram diluídas em álcool etílico PA, obtendo-se uma solução com concentração de 2,0 mg mL<sup>-1</sup>. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro UV/vis, na faixa de 290 a 320 nm com intervalos de 5 nm. Álcool etílico foi utilizado como branco. Os valores de absorvâncias obtidos foram substituídos na equação matemática (Equação 1) que relaciona o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação (EE x I) descritos na Tabela 1 (MANSUR et al., 1986) e obtido o FPS.

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (1)$$

Onde:

FPS é o Fator de Proteção Solar

FC é o fator de correção (10), referente a um FPS = 4

EE( $\lambda$ ) é o efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ )

I ( $\lambda$ ) é a intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ )

Abs ( $\lambda$ ) é a leitura espectrofotométrica da absorvância da solução no comprimento de onda relacionado.

Tabela 1 – Relação entre intensidade da radiação e o efeito eritematogênico em cada comprimento de onda.

$\lambda$ (nm)	EE( $\lambda$ ). I( $\lambda$ )
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0834
320	0,018

Fonte: MANSUR (1986)



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE

A CLAE é uma técnica utilizada na separação de compostos em solução, identificação e quantificação, sendo a mais indicada quando se trata de compostos fenólicos (SILVA et al., 2017). Foi realizada a análise somente nos extratos metanólicos e nas farinhas (2016 e 2018) por ser um dos objetivos a complexação dos compostos fenólicos identificados além da melhoria de sua estabilidade e solubilidade.

Na Tabela 2 é apresentada a composição fenólica das farinhas e respectivos extratos metanólicos - resíduo do processamento da uva 2016 e 2018. E nas Figuras 8, 9, 10 e 11 são apresentados os picos dos principais componentes e seus tempos de retenção.

Tabela 2 – Teor de compostos fenólicos nos extratos metanólico e aquoso da farinha da uva.

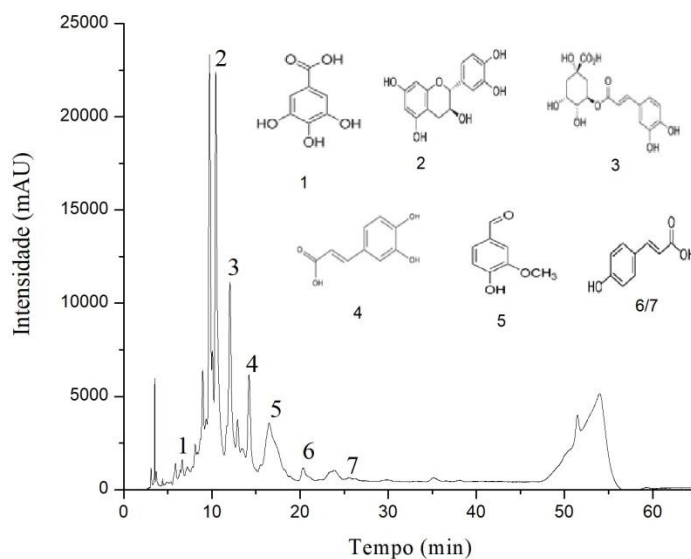
<b>Compostos fenólicos (mg 100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Extrato metanólico (2016)</b>	<b>Extrato aquoso (2016)</b>	<b>Extrato metanólico (2018)</b>	<b>Extrato aquoso (2018)</b>
<b>Ácido gálico</b>	42,28	19,24	Nq	Nq
<b>Catequina</b>	1089,74	517,38	690,5	86,36
<b>Ácido clorogênico</b>	23,67	14,22	30,73	62,80
<b>Ácido cafeico</b>	17,05	Nq	Nq	35,29
<b>Ácido vanílico</b>	3,08	2,99	36,82	42,49
<b>Ácido <i>p</i>-cumárico</b>	26,65	9,34	Nq	Nq
<b>Ácido <i>m</i>-cumárico</b>	Nq	Nq	Nq	Nq
<b>∑ Compostos fenólicos</b>	1202,47	563,17	758,05	226,94

nq = não quantificado (identificado, porém abaixo do limite de quantificação).

Fonte: Do autor (2019)

No extrato aquoso da farinha bordô 2018 (Figura 8) foram encontrados 7 compostos sendo o componente majoritário a catequina (86,36 mg 100 g<sup>-1</sup>), seguida do ácido clorogênico (62,80 mg 100 g<sup>-1</sup>), ácido vanílico (42,49 mg 100 g<sup>-1</sup>) e ácido cafeico (35,29 mg 100 g<sup>-1</sup>). O ácido gálico, ácido *p*-cumárico e *m*-cumárico foram identificados, porém não foram quantificados por estarem abaixo do limite de quantificação.

Figura 8 – Cromatograma do extrato aquoso da farinha bordô 2018.

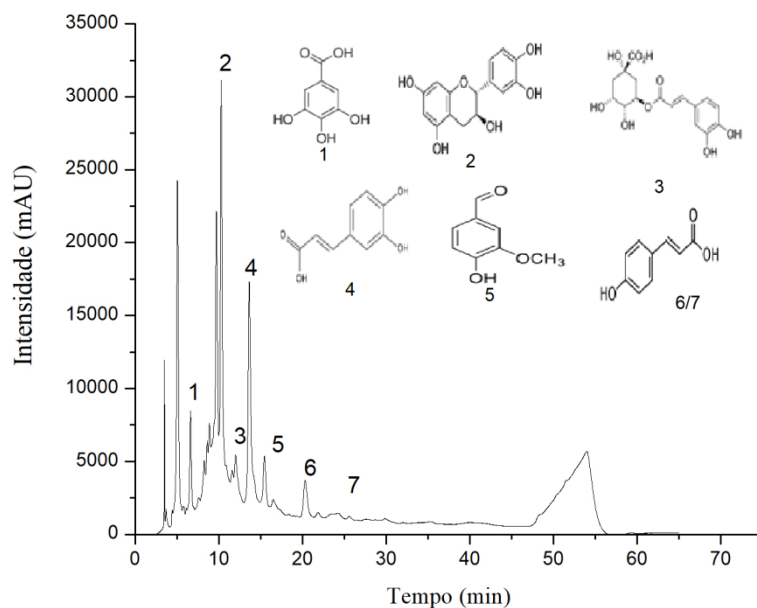


Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,626 min); 2. Catequina (tempo = 10,446); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,057 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,219 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,469 min); 6. Ácido p-cumárico (tempo = 20,357 min); 7. Ácido m-cumárico (tempo = 25,535 min).

Fonte: Do autor (2019).

O extrato aquoso da farinha bordô 2016 (Figura 9) apresentou em sua constituição 7 compostos, sendo o componente majoritário a catequina ( $517,38 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) seguida pelo ácido gálico ( $19,24 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido clorogênico ( $14,22 \text{ mg}/100 \text{ g}^{-1}$ ) ácido p-cumárico ( $9,34 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido vanílico ( $2,99 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ). O ácido cafeico e o ácido m-cumárico foram identificados, porém não foram quantificados por estarem abaixo do limite de quantificação.

Figura 9 – Cromatograma do extrato aquoso da farinha bordô 2016.

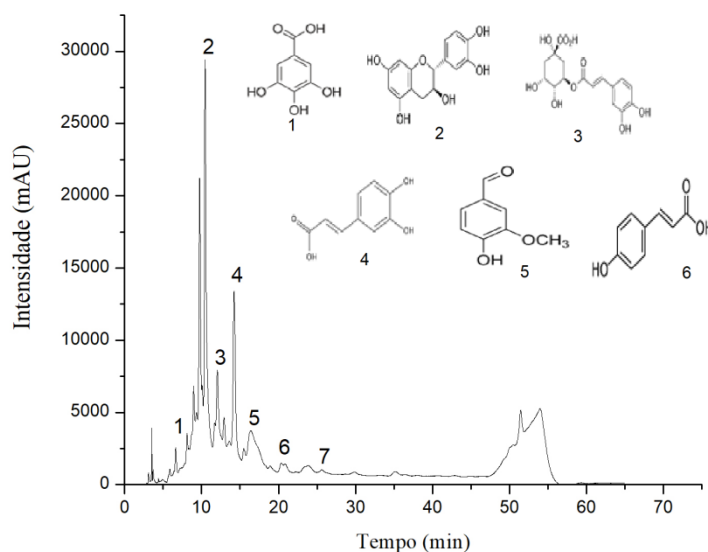


Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,626 min); 2. Catequina (tempo = 10,446); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,057 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,219 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,469 min); 6. Ácido p-cumárico (tempo = 20,357 min); 7. Ácido m-cumárico (tempo = 25,535 min).

Fonte: Do autor (2019).

O extrato metanólico 2018 (Figura 10) apresentou em sua constituição 7 compostos sendo o componente majoritário a catequina ( $690,5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ) seguida pelo ácido vanílico ( $36,82 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e ácido clorogênico ( $30,73 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ). O ácido gálico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido m-cumárico foram identificados, porém não foram quantificados por estarem abaixo do limite de quantificação.

Figura 10 – Cromatograma do extrato metanólico da farinha bordô 2018.

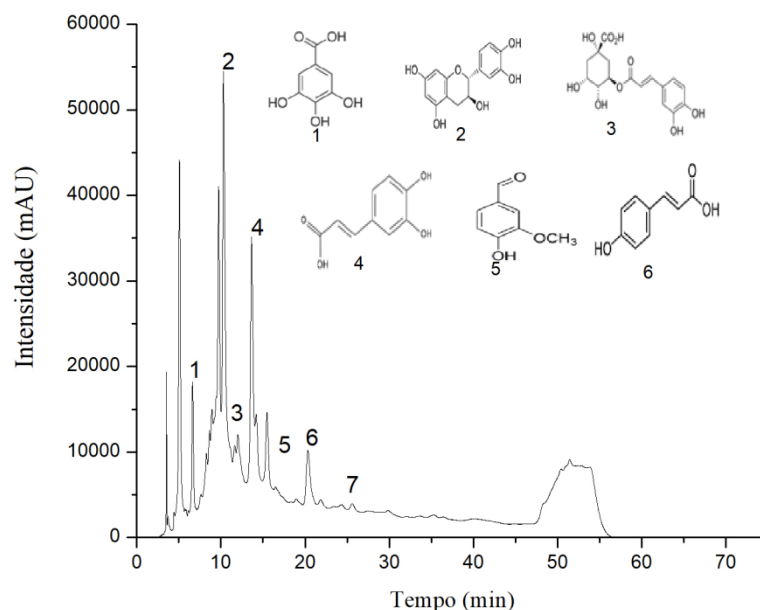


Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,626 min); 2. Catequina (tempo = 10,446); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,057 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,219 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,469 min); 6. Ácido *p*-cumárico (tempo = 20,357 min); 7. Ácido *m*-cumárico (tempo = 25,535 min).

Fonte: Do autor (2019).

Foram encontrados 7 compostos na constituição dos extratos. Para o extrato metanólico 2016 (Figura 11) o composto majoritário foi a catequina ( $1089,74 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), seguido do ácido gálico ( $42,28 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido *p*-cumárico ( $26,65 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido clorogênico ( $23,67 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido cafeico ( $17,05 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), ácido vanílico ( $3,08 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ). O ácido *m*-cumárico foi identificado, mas não foi quantificado pois ficou abaixo do limite de quantificação.

Figura 11- Cromatograma do extrato metanólico da farinha bordô 2016.



Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,626 min); 2. Catequina (tempo = 10,446); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,057 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,219 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,469 min); 6. Ácido p-cumárico (tempo = 20,357 min); 7. Ácido m-cumárico (tempo = 25,535 min).

Fonte: Do autor (2019).

Podemos notar na análise dos cromatogramas que a substância presente em maior quantidade em todas as amostras foi a catequina, seguida do ácido gálico para o extrato aquoso e extrato metanólico 2016 e ácido clorogênico para o extrato aquoso e extrato metanólico 2018. O ácido m-cumárico foi apenas identificado em todas as amostras, não sendo quantificado e o ácido p-cumárico pode ser quantificado para as amostras de farinha e extrato de 2016.

OZCAN (2017) analisando as sementes e polpas de várias cultivares de uva *Vitis vinifera*, utilizando metanol, água e hexano como líquido extrator, encontrou os seguintes compostos majoritários: catequina, ácido gálico, ácido 3,4-di-hidroxibenzoico e 1,2-di-hidroxibenzeno.

ROLDAN (2016) na determinação dos compostos fenólicos por CLAE do suco da uva bordô identificou 14 compostos em sua constituição sendo o ácido caftárico o constituinte majoritário responsável por 40% a 50% dos compostos fenólicos presentes no suco. Este composto fenólico não foi encontrado nas amostras analisadas neste estudo. Ele observou também a presença em menores proporções de ácido gálico, quercetina, ácido p-cumarico,

ácido caféico e outras substâncias derivadas destas.

BARBARÁ (2019) encontrou no estudo do vinho com diferentes tempos de maturação 23 compostos sendo o componente majoritário dos ácidos fenólicos, o ácido cafeico ( $13,73 \text{ mg L}^{-1}$ ) seguido pela catequina ( $11,71 \text{ mg L}^{-1}$ ) representante dos flavonoides. Dentre as antocianinas a malvidina ( $70 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi a que apresentou a maior concentração no vinho. A determinação dos compostos foi realizada diretamente em uma alíquota de vinho sem diluição.

TANG et al., (2018) observou na análise de 30 variedades de uvas a presença dos compostos majoritários cianidina-3-glicosídeo, epicatequina, rutina, ácido ferúlico e resveratrol. Esses compostos não foram encontrados neste estudo provavelmente por serem cultivares diferentes e cultivadas em locais distintos.

Observou-se que os extratos metanólico 2016 e 2018 apresentaram maior teor de compostos fenólicos isso se deve provavelmente ao solvente utilizado na extração. Pois o metanol é mais apolar que a água e os compostos fenólicos por sua estrutura apresentam uma maior afinidade por substâncias apolares, o que justifica o maior teor nos extratos metanólicos.

Notou-se também que os extratos aquoso e metanólico 2016 apresentaram maiores quantidades de compostos fenólicos se comparados aos do ano 2018, este fato provavelmente se deve a diferença de tempos de armazenamento.

## **4.2 Caracterização dos complexos de inclusão**

### **4.2.1 Espectrofotometria de UV-visível**

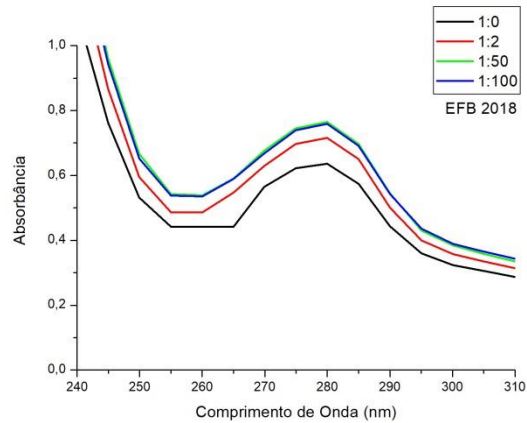
Esta técnica analítica é fundamentada na capacidade das espécies iônicas ou moleculares de absorverem certos comprimentos de onda da radiação UV/vis. Devido a essa absorção a energia dos fótons é transferida para as moléculas em análise causando transições eletrônicas vibracionais e rotacionais. E é por meio destas transições que são observadas no espectro de Uv-visível que podemos identificar se houve a complexação com a molécula de  $\beta$ -CD, observando se houve aumento na intensidade dos picos ou deslocamentos (LYRA et al., 2010).

Registrou-se os espectro de UV-vis para as farinhas do resíduo do processamento da uva 2016 e 2018 (FB2016 e FB2018) e para os extratos metanólico da farinha do resíduo do processamento da uva 2016 e 2018 (EFB2016 e EFB2018) com a  $\beta$ -ciclodextrina nas seguintes proporções 1:0, 1:2, 1:50 e 1:100 (Figuras de 12 a 15). Notou-se que todas as amostras tiveram absorção máxima em 280 nm.

Pode-se observar que o extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018) (Figura 12)

apresentou picos bem definidos e um aumento gradativo da intensidade destes com a elevação da proporção de  $\beta$ -ciclodextrina acrescentada. Porém as concentrações 1:50 e 1:100 não diferiram em intensidade.

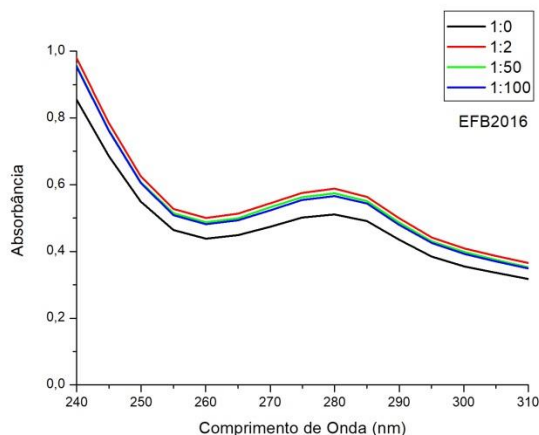
Figura 12 – Espectro de absorção na região do UV- vis do extrato metanólico da farinha do resíduo da uva 2018 (EFB) com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) em diferentes proporções.



Fonte: Do autor (2019)

O (EFB 2016) (Figura 13) apresentou picos bem definidos, porém as concentrações das misturas de extrato e  $\beta$ -CD aumentaram pouco em relação ao EFB2016 puro. Sendo que as concentrações 1:50 e 1:100 não apresentaram diferenças significativas quanto a intensidade dos picos e também seus picos foram menores que o apresentado pela concentração 1:2.

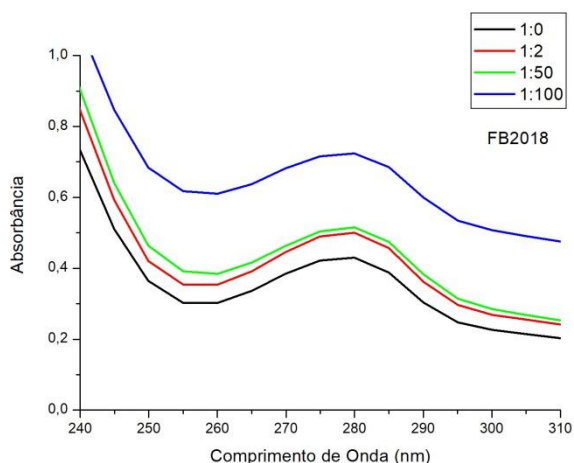
Figura 13 – Espectro de absorção na região do UV- vis do extrato metanólico da farinha do resíduo da uva 2016 (EFB) com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) em diferentes proporções.



Fonte: Do autor (2019)

A FB2018 (Figura 14) apresentou picos bem definidos com um aumento gradativo conforme o aumento na proporção de  $\beta$ -ciclodextrina. As concentrações de 1:2 e 1:50 apresentaram uma pequena diferença quanto a intensidade nos picos sendo a concentração 1:100 a que apresentou a maior intensidade.

Figura 14 – Espectro de absorção na região do UV-vis da farinha do resíduo da uva (FB) 2018 com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) em diferentes proporções.



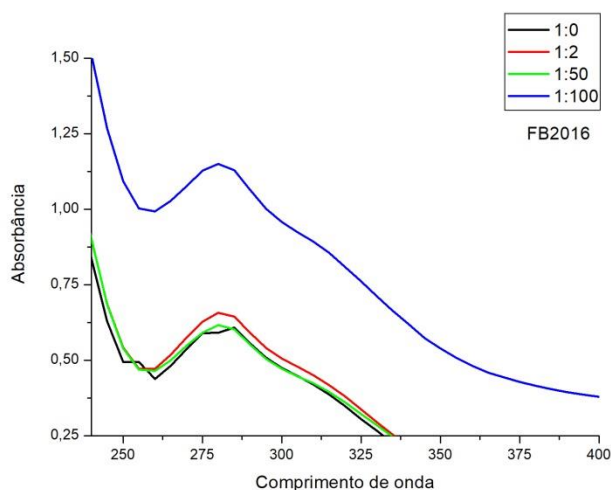
Fonte: Do autor (2019)

A FB2016 (Figura 15) apresentou picos pouco definidos sendo que a intensidade dos picos nas concentrações de 1:0, 1:2 e 1:50 sofreu um aumento muito pequeno se comparada a concentração de 1:100. Notou-se também que a concentração 1:2 apresentou uma intensidade



maior que a concentração 1:50 o que não era esperado, pois com o aumento da concentração de  $\beta$ -CD deveria acontecer um aumento gradativo na intensidade dos picos.

Figura 15 – Espectro de absorção na região do UV- vis da farinha do resíduo da uva 2016 (FB) com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) em diferentes proporções.



Fonte: Do autor (2019)

Observando os espectros de UV-visível percebeu-se que há indícios da formação do complexo, pois segundo MURA (2014) quando a molécula hóspede entra na cavidade da  $\beta$ -ciclodextrina podem ocorrer alterações no espectro de absorção. Estas modificações podem ser quanto ao comprimento de absorção máxima como desvios hipsocrômicos ou batocrômicos como em relação à intensidade dos picos.

Dentre as amostras a FB2018 e o EFB2018 foram as que apresentaram maiores modificações na intensidade dos picos se comparadas a FB2016 e EFB2016 demonstrando que pode ter ocorrido a complexação. Esta diferença na intensidade dos picos entre amostras pode ter ocorrido devido ao tempo de armazenamento das farinhas serem diferentes.

Aumentos na intensidade dos picos nos espectros de absorção do ácido cafeico também foram relatos por LYRA et al. (2010) quando houve um aumento na concentração de Hidroxi-propil-beta-ciclodextrina (HP- $\beta$ -CD). KFOURI et al. (2016) também observou durante a encapsulação de óleo de anetol com  $\beta$ -ciclodextrina e HP- $\beta$ -CD um aumento na absorção.

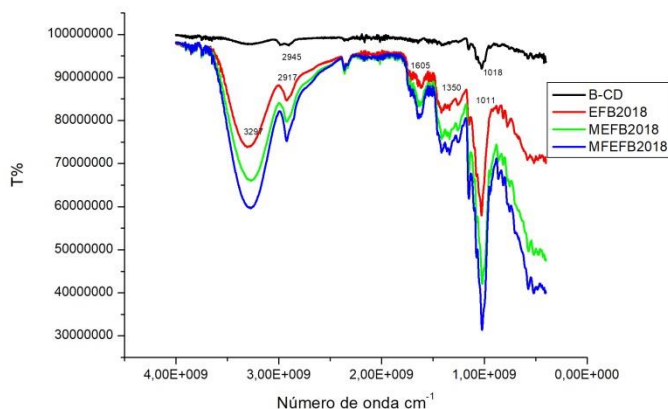
#### 4.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

A espectroscopia de absorção no infravermelho é muito empregada na caracterização de complexos sólidos da molécula hóspede com a ciclodextrina. Esta técnica baseia-se na

análise das alterações ocorridas nos espectros de IV em bandas características que representam grupos funcionais ou ligações presentes na molécula (MURA, 2015).

Através dos espectros de absorção na região do infravermelho (Figura 16) pode-se observar as bandas resultantes para  $\beta$ -CD, EFB2018, MEFB2018 e MFEFB2018. A  $\beta$ -CD apresentou uma banda em  $2945\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento C-H e outra em  $1018\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento O-H. Esta apresentou a banda larga característica em  $3390\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento O-H como esperado. O EFB2018 e seus complexos apresentaram as seguintes bandas:  $3297\text{ cm}^{-1}$  devido a presença de O-H,  $2917\text{ cm}^{-1}$  presença das ligações H-C,  $1605\text{ cm}^{-1}$  presença de C=O,  $1350\text{ cm}^{-1}$  referente a ligação C-C e em  $1011\text{ cm}^{-1}$  uma banda referente ao estiramento O-H. Pode-se notar que a intensidade das bandas aumentaram se comparadas a  $\beta$ -CD e ao EFB2018 sendo que a mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018) apresentou a maior intensidade seguida da malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018).

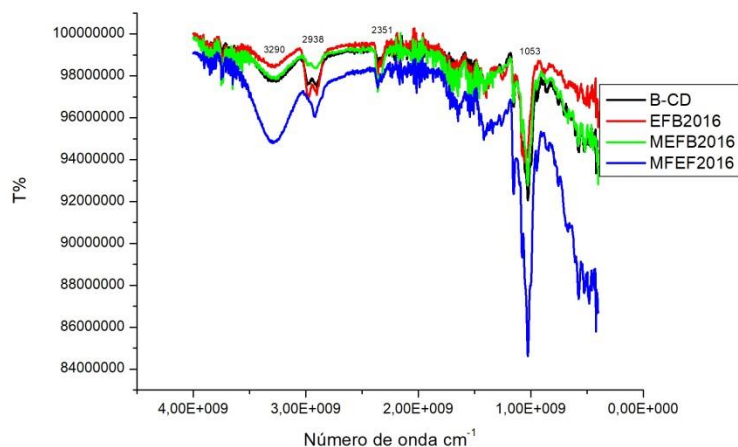
Figura 16 - Espectros de absorção na região do infravermelho (IV) das amostras:  $\beta$ -CD, extrato metanólico da farinha do resíduo da uva 2018 (EFB2018), malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018), mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018)



Fonte: Do autor (2019)

No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 17) pode-se observar as bandas resultantes para  $\beta$ -CD, EFB2016, MEFB2016 e MFEFB2016. Notou-se para todas as amostras as seguintes bandas:  $3290\text{ cm}^{-1}$  devido a presença de O-H,  $2938\text{ cm}^{-1}$  pela ligações H-C,  $1053\text{ cm}^{-1}$  pelo estiramento O-H. Porém seu espectro apresentou bastante ruído que pode ser devido ao tempo e as condições de armazenamento do EFB2016. As bandas do EFB2016 e da MEFB2018 apresentaram menor intensidade que as bandas da  $\beta$ -CD. Já a MFEFB2018 apresentou maior intensidade se comparadas às outras amostras.

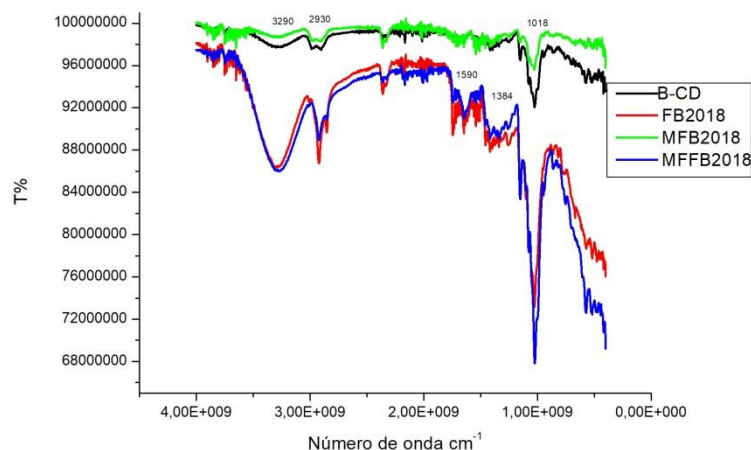
Figura 17 - Espectros de absorção na região do infravermelho (IV) das amostras:  $\beta$ -CD, extrato metanólico da farinha do resíduo da uva 2016 (EFB2016), malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB 2016), mistura física do extrato da farinha bordô (MFEFB 2016).



Fonte: Do autor (2019)

No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 18) pode-se observar as bandas resultantes para  $\beta$ -CD, FB2018, MFB2018 e MFFB2018. Notou-se para todas as amostras uma banda larga em  $3290\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento O-H,  $2930\text{ cm}^{-1}$  referente às ligações H-C,  $1590\text{ cm}^{-1}$  pela ligação C=O,  $1384\text{ cm}^{-1}$  devido à ligação C-C e em  $1018\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento O-H. Analisando o espectro notou-se que a MFB2018 teve a intensidade de seus picos reduzida se comparada a  $\beta$ -CB e a FB2018. Já a MFFB2018 não apresentou diferença significativa se comparada a FB2018.

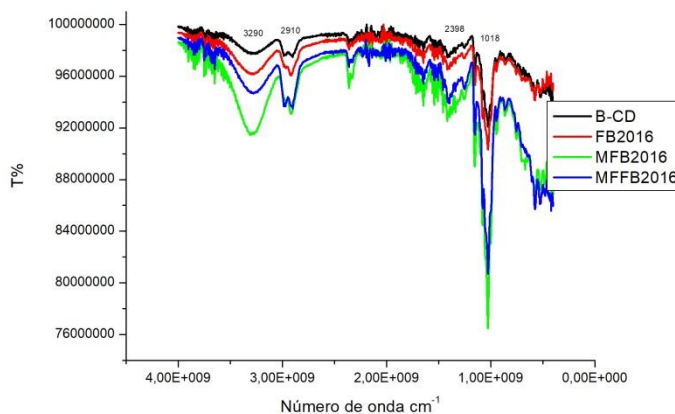
Figura 18 - Espectros de absorção na região do infravermelho (IV) das amostras:  $\beta$ -CD, farinha do resíduo da uva 2018 (FB2018), malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB 2018), mistura física da farinha bordô (MFFB 2018).



Fonte: Do autor (2019)

No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 19) pode-se observar as bandas resultantes para  $\beta$ -CD, FB2016, MFB2016 e MFFB2016 pode-se observar para todas as amostras uma banda larga próxima  $3290\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento O-H,  $2910\text{ cm}^{-1}$  devido às ligações H-C,  $1650\text{ cm}^{-1}$  referente a ligação C=O,  $1390\text{ cm}^{-1}$  devido a ligação C-C e  $1025\text{ cm}^{-1}$  referente a ligação O-H. Observando o espectro podemos notar que a intensidade dos picos aumentou gradativamente a partir da  $\beta$ -CD, seguida pelas demais amostras, sendo que MFFB2016 apresentou a maior intensidade nos picos de absorção.

Figura 19 - Espectros de absorção na região do infravermelho (IV) das amostras:  $\beta$ -CD, farinha do resíduo da uva 2016 (FB2016), malaxagem (M) da FB 2016 (MFB 2016), mistura física (MF) da FB2016 (MFFB 2016).



Fonte: Do autor (2019)

Segundo Mura (2015) quando ocorrem alterações no espectro de infravermelho (IV) da molécula hóspede como ausência, expansão, aumento ou diminuição de pico, ou modificação no número de onda, há a possibilidade de que houve a complexação. Essas modificações podem ser causadas por diminuições das vibrações de estiramento da molécula hóspede ocasionada pela sua entrada na cavidade da molécula de CD. Ou podem ser também causadas pelo enfraquecimento de ligações atômicas pela mudança do ambiente em volta.

Analisando os espectros de infravermelho podemos concluir que há indícios da formação do complexo, pois houve aumento na intensidade dos picos das bandas características como também diminuição da intensidade como na EFB2016, MEFB2016 e MFB2018. As demais amostras apresentaram um aumento gradativo na intensidade dos picos se comparadas a  $\beta$ -CD e a sua farinha ou extrato puros. A MFFB2016 apresentou um comportamento diferente se comparada as outras misturas físicas, pois sua intensidade foi menor que a malaxagem.

Com relação as bandas o EFB2018 e FB2018 apresentaram cinco bandas sendo essas

já esperadas por serem características das moléculas de compostos fenólicos existentes na uva. Já os espectros do EFB2016 e FB2016 apresentaram bastante ruído sendo difícil a identificação das bandas dos compostos fenólicos. Este ruído pode ter como causa a diferença entre o tempo de armazenamento e as condições de armazenamento das amostras, pois ocorreram somente nas amostras 2016.

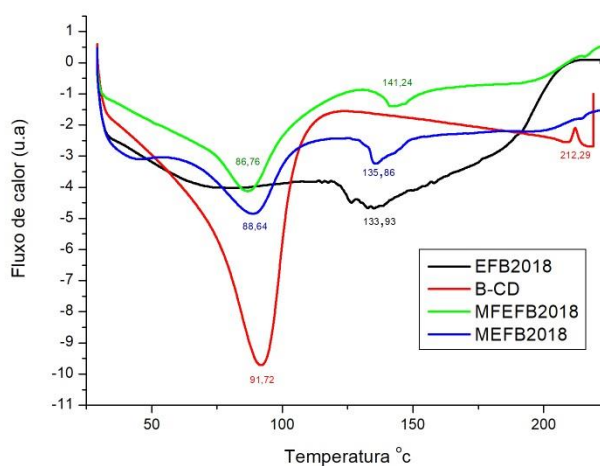
KFOURI et al (2016) observou na complexação de anetol com HP- $\beta$ -CD e  $\beta$ -CD que houve mudanças em picos e diminuições na intensidade indicando a formação do complexo de inclusão. Também foi notado que não ocorreram novas ligações, pois não houve o surgimento de novas bandas assim como neste estudo.

AGUIAR et al (2014) notaram em seu estudo sobre a complexação do óleo essencial de *Croton zehntneri*, uma redução na intensidade das bandas se comparadas a do óleo essencial e da mistura física o que sugere uma complexação, pois quando as moléculas hóspedes entram na cavidade da  $\beta$ -CD ocorre uma restrição vibracional reduzindo desta forma sua movimentação e conseqüentemente o sinal.

#### **4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

A Calorimetria Exploratória Diferencial é uma análise realizada para a confirmação da complexação em amostras sólidas. É uma técnica bastante sensível que pode revelar prováveis eventos térmicos característicos da molécula hóspede quando ela está dentro da cavidade da molécula hospedeira e também a sua estabilidade (AGUIAR et al., 2014). De acordo com o termograma (Figura 20), a  $\beta$ -CD exibiu um pico intenso endotérmico em 91,72 °C devido a perda de água existente na cavidade hidrofóbica e outro exotérmico em 212,29 °C devido a sua decomposição. O EFB2018 apresentou um pico endotérmico em 133,93 °C correspondente a sua fusão e os complexos de inclusão MFEB2018 e a MEF2018 apresentaram dois picos endotérmicos, um na faixa de 75-125°C devido a perda de água da cavidade hidrofóbica e outro entre 130-145 °C pertinente a fusão.

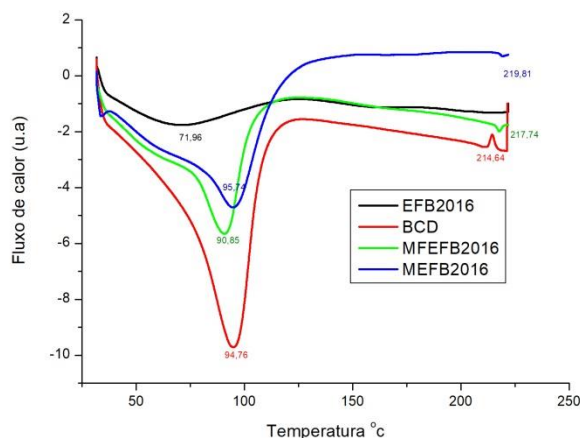
Figura 20 – Termogramas obtidos por calorimetria exploratória diferencial das seguintes amostras: Extrato metanólico da farinha bordô 2018 (EFB2018),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), mistura física do extrato metanólico da farinha bordô 2018 (MFEFB2016), malaxagem do extrato metanólico da farinha bordô 2018 (MEFB2018).



Fonte: Do autor (2019)

De acordo com o termograma (Figura 21), a  $\beta$ -CD apresentou um pico agudo endotérmico em 94,76 °C pertinente a perda de água da cavidade e outro exotérmico em 214,64 °C referente a sua decomposição. O EFB2016 apresentou um pequeno evento endotérmico em 71,96 °C devido a fusão da amostra e os complexos de inclusão MFEFB2016 e a MEFB2016 apresentaram dois picos endotérmicos um entre a faixa de 75-125 °C referente a perda de água da cavidade hidrofóbica e outro entre 200-225 °C devido a decomposição.

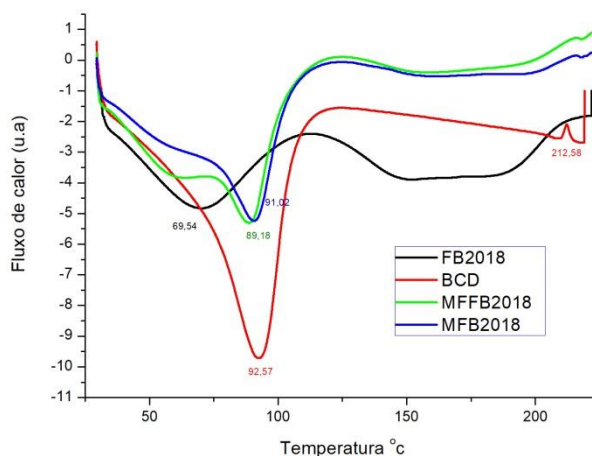
Figura 21 – Termogramas obtidos por calorimetria exploratória diferencial (DSC) das seguintes amostras: Extrato metanólico da farinha bordô 2016 (EFB2016),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), mistura física do extrato metanólico da farinha bordô 2016 (MFEFB2016), malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016).



Fonte: Do autor (2019)

De acordo com o termograma (Figura 22), a  $\beta$ -CD apresentou um pico endotérmico agudo em 92,57 °C referente a perda de água da cavidade hidrofóbica e um pico exotérmico em 212,58 °C pertinente a sua decomposição. A FB2018 apresentou um pequeno evento térmico em 69,54 °C devido a fusão. A MFFB2018 e a MFB2018 apresentaram somente um pico na faixa entre 75-125 °C referente à perda de água na cavidade hidrofóbica. Podemos notar que o pico da FB2018 não apareceu nos termogramas dos complexos de inclusão indicando que este foi suprimido.

Figura 22 – Termogramas obtidos por calorimetria exploratória diferencial (DSC) das seguintes amostras: Farinha bordô 2018 (FB2018),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018), malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018).

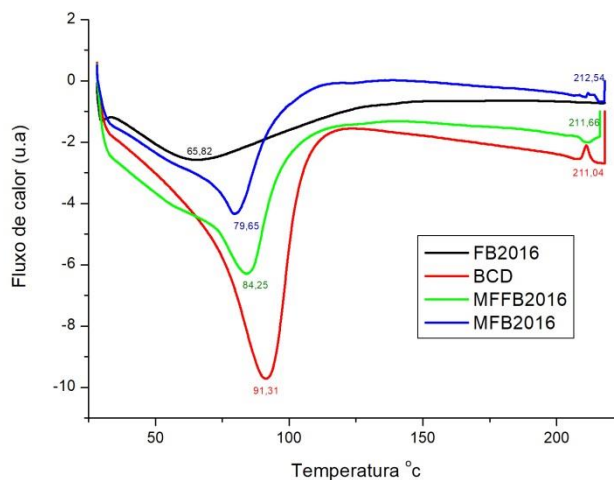


Fonte: Do autor (2019)

De acordo com o termograma (Figura 23), a  $\beta$ -CD apresentou um pico endotérmico agudo em 91,31 ° devido a perda de água da cavidade hidrofóbica e outro em 211,04 °C referente a sua decomposição. A FB2016 exibiu um pequeno evento térmico em 65,82 °C devido a fusão. A MFFB2016 e a MFB2016 apresentaram dois picos, um endotérmico entre 75-125 °C e outro pico entre 200-225 °C sendo endotérmico para a MFFB2016 e exotérmico para a MFB2016. Pode-se observar que o pico referente a fusão da FB2016 não apareceu nos termogramas dos seus complexos indicando que este foi suprimido.



Figura 23 – Termogramas obtidos por calorimetria exploratória diferencial (DSC) das seguintes amostras: Farinha bordô 2016 (FB2016),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), mistura física do da farinha bordô 2016 (MFFB2016), malaxagem da farinha bordô 2016 (MFB2016).



Fonte: Do autor (2019)

Analisando os Termogramas de DSC podemos observar que todos os complexos de inclusão apresentaram uma redução na intensidade dos picos endotérmicos referentes a perda de água. O que segundo AGUIAR et al. (2014) indica a possível formação de complexo, pois parte da água que estava na cavidade hidrofóbica da  $\beta$ -CD foi deslocada pela molécula hóspede que tem maior afinidade por esta cavidade.

Outro fato que indica a complexação é que os complexos de inclusão MFFB2018 e MEFB2018 apresentaram picos referentes tanto a  $\beta$ -CD quanto a molécula hóspede. O que segundo MURA (2015) deveria ocorrer, pois o termograma do complexo deve ser a união dos termogramas de seus componentes puros. Os demais complexos tiveram os picos da substância pura (extrato ou farinha) suprimidos o que segundo LOBO (2013) também é um indício de complexação, pois a molécula não apresenta aquele evento por estar protegida na cavidade da  $\beta$ -CD.

LOBO (2013) observou em seu estudo sobre a complexação de extratos do pimentão amarelo que o pico relacionado com a degradação do extrato desapareceu nos termogramas da mistura física e nos outros dois métodos de preparo o que indica que a molécula hóspede está protegida da degradação. Além disso, ele também notou que os complexos preparados por liofilização e malaxagem com liofilização apresentaram redução no pico de evaporação da água o que demonstra uma melhor interação nesses processos entre a  $\beta$ -CD e o seu extrato.

KFOURY et al. (2014) observaram na complexação do trans-anetol com  $\beta$ -CD que picos referentes ao trans-anetol desapareceram indicando que este estava protegido dentro da

cavidade da  $\beta$ -CD. Na complexação entre R-(-)-carvona e  $\beta$ -CD, NETO (2017) observou que no termograma da mistura física apareciam os picos referentes a molécula hóspede e a  $\beta$ -CD. E também o desaparecimento do pico referente a volatilização da R-(-)-carvona nos outros métodos de complexação.

#### 4.2.4 Termogravimetria (TG)

A termogravimetria é uma das análises realizadas para a confirmação da formação do complexo de inclusão. Esta técnica consiste na análise da variação de massa com o aumento da temperatura em uma ampla faixa (MURA, 2015).

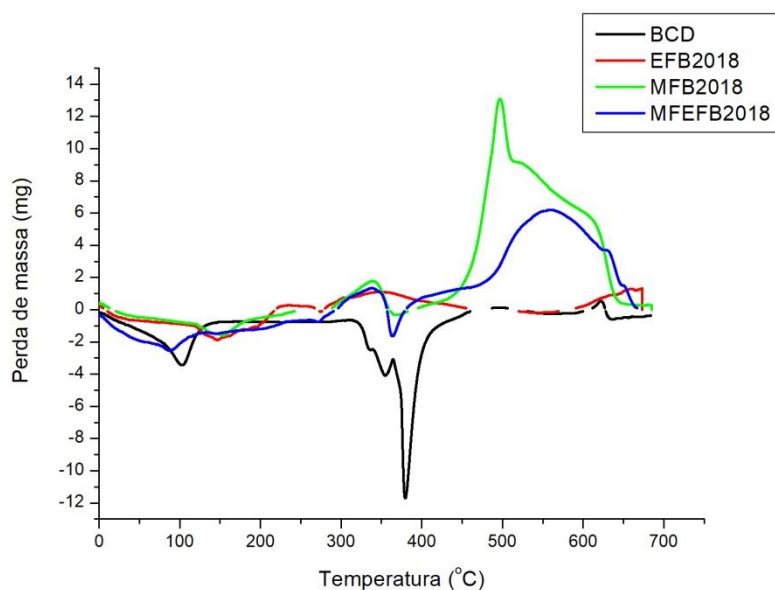
Na Figura 24 são apresentadas as derivadas das curvas da termogravimetria (DTG) do EFB2018,  $\beta$ -CD, MEFB2018 e MFEFB2018. E na Tabela 3 são apresentadas as perdas de massa de acordo com a faixa de temperatura. A  $\beta$ -CD apresentou um evento endotérmico na faixa de 30-150 °C e outro de 300-450 °C exotérmico devido ao início da decomposição da  $\beta$ -CD. O que condiz com o encontrado na Figura 25 onde são apresentadas as curvas termogravimétricas EFB2018,  $\beta$ -CD, MEFB2018 e MFEFB2018. Podemos notar neste termograma que somente as curvas da  $\beta$ -CD apresentaram os eventos térmicos bem definidos provavelmente por ser uma substância pura o que pode ser observado na faixa 40 – 130 °C devido a perda de água e outro a partir de 290 °C que se refere a sua decomposição.

Tabela 3 – Porcentagem de perda de massa por faixa de temperatura do extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018) e mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018).

<b>Amostra</b>	<b>%</b>	<b>Faixa de</b>	<b>%</b>	<b>Faixa de</b>	<b>%</b>	<b>Faixa de</b>
	<b>Perda</b>	<b>temperatura</b>	<b>Perda de</b>	<b>temperatura</b>	<b>Perda</b>	<b>temperatura</b>
	<b>de</b>	<b>(°C)</b>	<b>massa</b>	<b>(°C)</b>	<b>de</b>	<b>(°C)</b>
	<b>massa</b>				<b>massa</b>	
<b><math>\beta</math>-CD</b>	26,24	40-130	91,64	290-420	-	-
<b>EFB2018</b>	54,70	50-300	-	-	-	-
<b>MEFB2018</b>	12,32	40-200	60,83	250-400	79,32	440-520
<b>MFEFB2018</b>	23,07	30-120	39,10	120-250	78,65	250-400

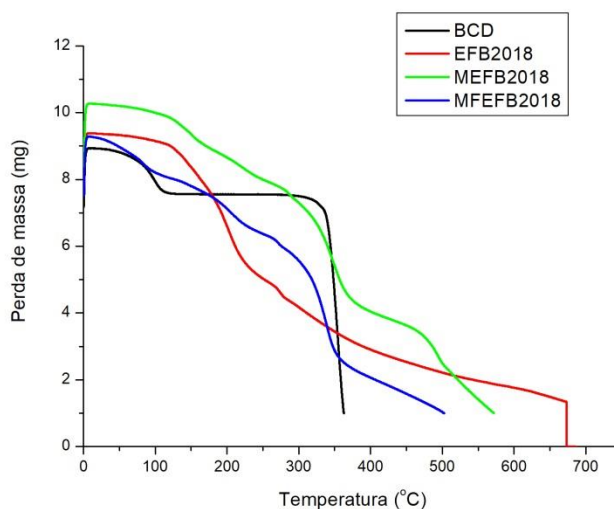
Fonte: Do autor (2019).

Figura 24 – Curvas da derivada da termogravimetria (DTG) do extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018),  $\beta$ -CD e malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018) e mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFFB2018)



Fonte: Do Autor (2019)

Figura 25 - Curvas de análise termogravimétrica do extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018) e mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018)



Fonte: Do Autor (2019)

O EFB2018 de acordo com a Figura 25 apresentou somente um evento entre 50-300 °C, com uma  $\Delta m = 54,70\%$ . O que condiz com a curva de DTG (Figura 24) que mostra um evento endotérmico 100-250°C e outro exotérmico de 250-450°C que não aparece na curva de TG. Provavelmente o primeiro evento corresponde a fusão da substância, pois o composto majoritário do EFB2018 é a catequina, que tem o ponto de fusão por volta de 175°C.

A MFEFB2018 apresentou na Figura 25 um evento entre 40-200°C, outro de 250-400°C

e 440-520°C. Estes eventos correspondem respectivamente a perda de água da cavidade hidrofóbica, volatilização de alguns compostos e a combustão de compostos menos voláteis existentes na amostra. O que é demonstrado também na curva de DTG (Figura 24), pois esta apresenta também três eventos, o primeiro endotérmico de 100-250°C, o segundo de 250-400°C exotérmico e o terceiro 400-700°C também exotérmico.

A MFEFB2018 apresentou na Figura 25 um evento de 30-120°C correspondente a perda de água, outro de 120-250°C devido a volatilização de alguns composto e o terceiro de 250-400°C referente a decomposição. A curva de DTG (Figura 24) apresentou também três eventos, o primeiro endotérmico de 30-150°C, o segundo de 250-350°C exotérmico e o terceiro exotérmico de 350-700°C .

Na Figura 26 são apresentadas as derivada das curvas termogravimétricas (DTG) para o EFB2016,  $\beta$ -CD, MEFB2016 e MFEFB2016. E na tabela 4 as faixas de temperaturas com suas perdas de massas. A curva da  $\beta$ -CD é a mesma descrita acima para EFB2018.

O EFB2016 exibiu na Figura 27 dois eventos, um de 30-140°C que deve ser devido a perda de umidade e outro de 180-350°C referente a fusão e volatilização dos compostos presentes, pois a catequina composto majoritário da amostra apresenta ponto de fusão em 175°C. A curva de DTG da EFB2016 (Figura 26) apresentou também dois eventos sendo o primeiro endotérmico de 30-150°C e o segundo exotérmico 275-700°C correspondendo a decomposição da amostra.

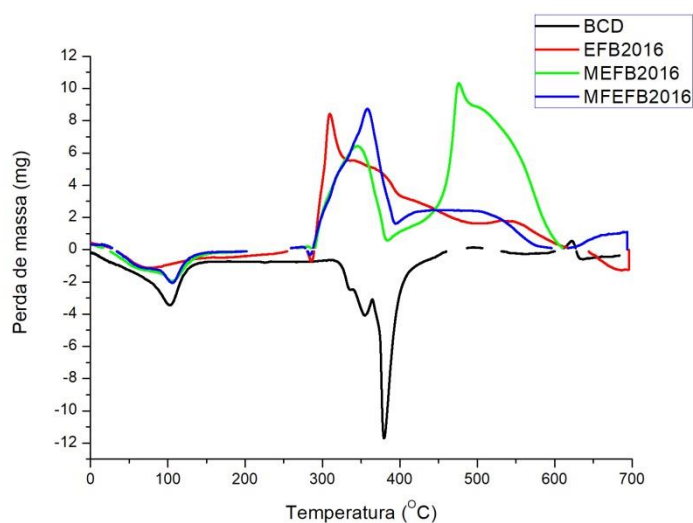
A MEFB2016 e MFEFB2016 apresentaram na Figura 27 dois eventos térmicos um de 30-140°C devido a perda de água e outro em 200-400°C provavelmente devido a volatilização de alguns compostos. As curvas de DTA (Figura 26) da MEFB2016 e MFEFB2016 apresentaram três eventos, o primeiro endotérmico de 30-150°C, o segundo de 275-400°C exotérmico e o terceiro exotérmico de 400-700°C devido a decomposição da amostra.

Tabela 4 – Porcentagem de perda de massa por faixa de temperatura do extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016) e mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFEFB2016)

<b>Amostra</b>	<b>% Perda de massa</b>	<b>Faixa de temperatura (°C)</b>	<b>% Perda de massa</b>	<b>Faixa de temperatura (°C)</b>
<b>B-CD</b>	26,24	40-130	91,64	290-420
<b>EFB2016</b>	12,55	30-140	58,64	180-350
<b>MEFB2016</b>	17,02	40-140	74,43	200-400
<b>MFEFB2016</b>	19,63	30-140	78,51	200-400

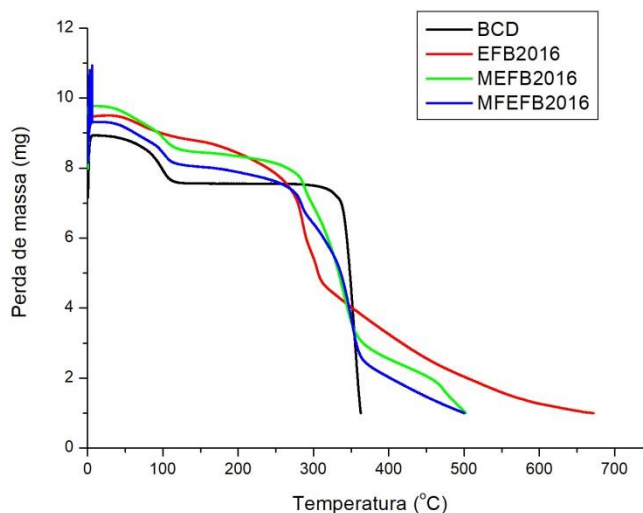
Fonte: Do autor (2019)

Figura 26 – Curvas da derivada da termogravimetria (DTG) do extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016), mistura física do extrato da farinha 2016 (MFEFB2016)



Fonte: Do Autor (2019)

Figura 27 – Curvas de análise termogravimétrica do extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016) e mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFEFB2016)



Fonte: Do Autor (2019)

Na Figura 29 são apresentadas as curvas termogravimétricas da FB2018,  $\beta$ -CD e seus complexos de inclusão formados pelo método de malaxagem e mistura física e na Tabela 5 a perda de massa relacionada a cada faixa de temperatura. As curvas de  $\beta$ -CD são iguais as descritas para a EB2018. A FB2018 exibiu na Figura 29 um evento de 40-130 °C provavelmente devido a perda de umidade e outro de 140-260 °C devido a fusão, pois o componente majoritário a catequina tem seu ponto de fusão em 175 °C. A curva de DTG (Figura 28) do EB2018 apresenta três eventos térmicos, sendo o primeiro endotérmico de 30-150 °C, o segundo exotérmico de 230-400 °C e o terceiro exotérmico de 400-700 °C devido a decomposição da amostra.

A MFB2018 na Figura 29 teve seu primeiro evento na faixa de 40-150 °C devido a perda de água, o segundo de 130-270 °C referente a volatilização de alguns compostos e o terceiro de 270-400 °C devido a decomposição e combustão. A sua curva de DTG (Figura 28) não pode ser especificada, pois foi sobreposta pelas curvas das outras amostras.

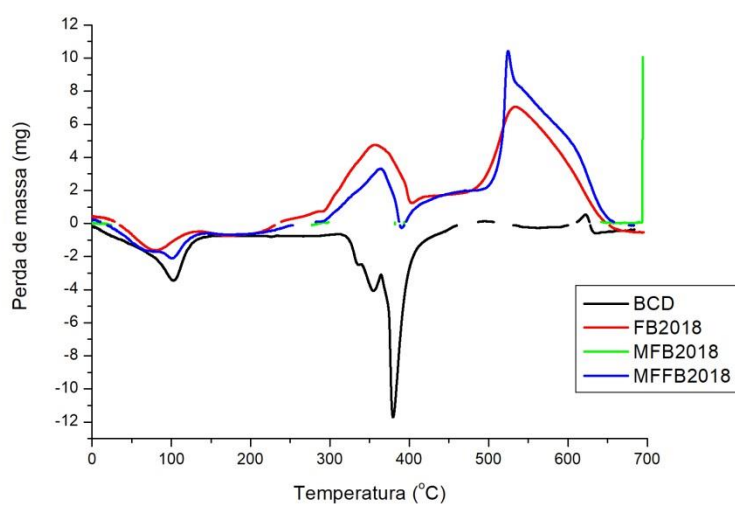
A MFFB2018 na Figura 29 exibiu um comportamento muito parecido tendo seu primeiro evento de 30-130 °C devido a perda de água, segundo de 120-260 °C referente a volatilização de alguns compostos e o terceiro de 250-410 °C devido a decomposição e combustão dos compostos. A sua curva de DTG (Figura 28) apresentou três eventos sendo o primeiro endotérmico de 30-150 °C, o segundo exotérmico de 230-400 °C e terceiro exotérmico de 400-700 °C devido a decomposição da amostra.

Tabela 5 – Porcentagem de perda de massa por faixa de temperatura da farinha bordô 2018 (FB2018),  $\beta$ -CD, malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018) e mistura física farinha bordô 2018

Amostra	% Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)	% Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)	% Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)
<b>B-CD</b>	26,24	40-130	91,64	290-420	-	-
<b>FB2018</b>	21,55	40-130	49,67	140-260	-	-
<b>MFB2018</b>	6,86	40-150	18,57	130-270	66,80	270-400
<b>MFFB2018</b>	24,04	30-130	36,70	120-260	81,72	250-410

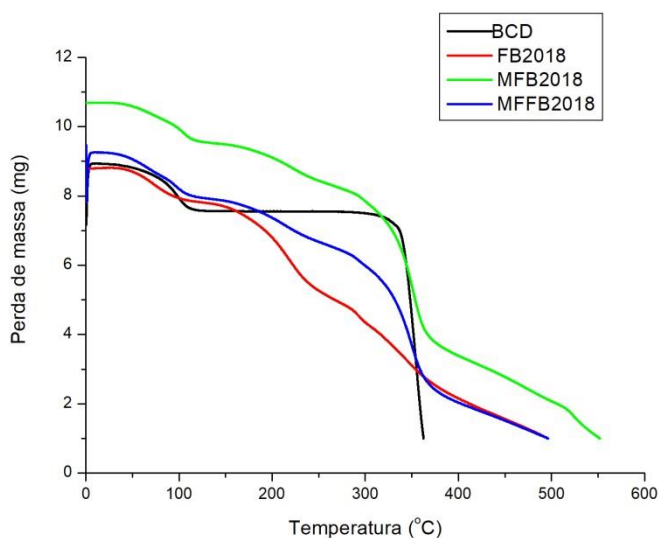
Fonte: Do autor (2019)

Figura 28 - Curvas da derivada da termogravimetria (DTG) da farinha bordô 2018 (FB2018),  $\beta$ -CD, malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018) e mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018).



Fonte: Do Autor (2019)

Figura 29 - Curvas de análise termogravimétrica da farinha bordô 2018 (FB2018),  $\beta$ -CD, malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018) e mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018).



Fonte: Do Autor (2019)

Na Figura 31 são apresentadas as curvas termogravimétricas da FB2016,  $\beta$ -CD, MFB2018 e MFFB2016, e na Tabela 6 a perda de massa por faixa de temperatura. As curvas da  $\beta$ -CD são iguais as descritas para FB2018. Pode-se observar que a FB2016 apresentou na Figura 31 um evento de 30-130 °C devido a perda de umidade, outro 180-400 °C provavelmente devido a fusão da amostra, pois a catequina componente majoritário da amostra tem seu ponto de fusão 175 °C. A curva de DTG do EB2016 (Figura 30) apresentou três eventos diferindo um pouco da curva de TG, sendo o primeiro endotérmico de 30-150 °C, o segundo exotérmico de 250-450 °C e o terceiro exotérmico de 450-700 °C correspondendo aos eventos descritos na curva de TG e o terceiro evento correspondendo a decomposição da amostra.

A MFB2016 (Figura 31) exibiu um evento de 30-130 °C devido a perda de água e o outro 200-400 °C referente volatilização de compostos. Sua curva de DTG (Figura 30) apresentou um evento endotérmico de 30-150 °C, o segundo exotérmico de 250-450 °C e o terceiro exotérmico de 450-700 °C condizendo com os eventos apresentados na curva de TG.

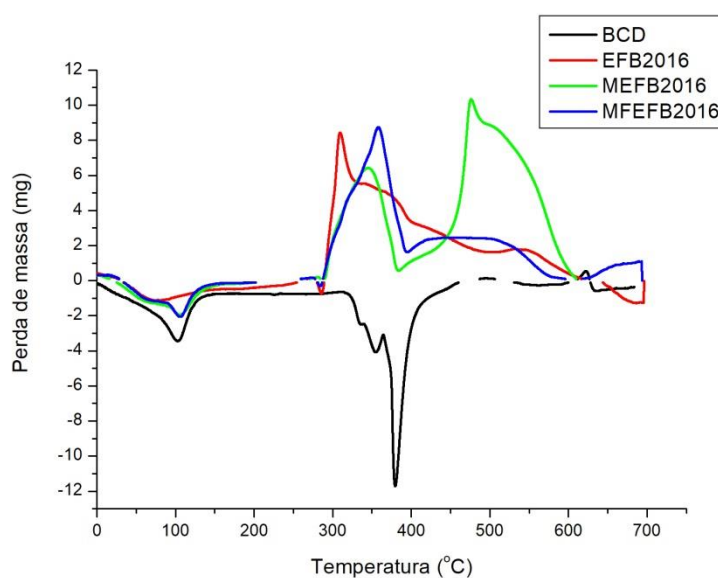
Já a MFFB2016 (Figura 31) apresentou um comportamento semelhante, o primeiro evento de 20-120 °C referente a perda de água e o segundo de 190-400 °C devido a volatilização de compostos. Sua curva de DTG (Figura 30) apresentou um evento endotérmico de 30-150 °C, o segundo exotérmico de 250-400 °C e o terceiro exotérmico de 400-600 °C correspondendo a decomposição da amostra.



Tabela 6 – Porcentagem de perda de massa por faixa de temperatura da farinha bordô (FB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem da farinha bordô (MFB2016) e mistura física da farinha bordô 2016 (MFFB2016)

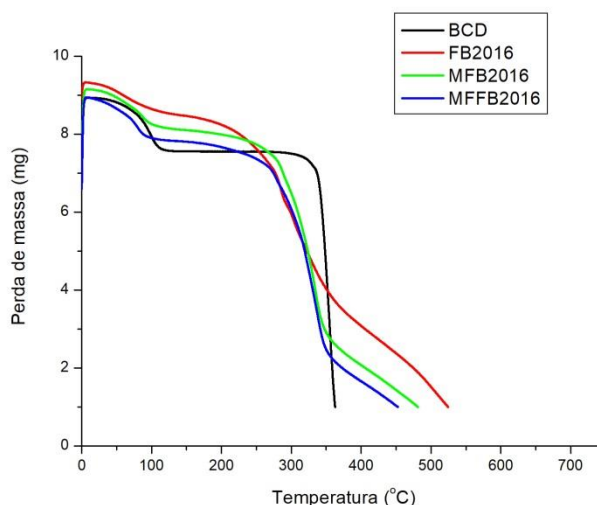
Amostra	% Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)	% Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)		
<b>B-CD</b>	26,24	40-130	91,64	290-420		
<b>FB2016</b>	18,38	30-130	68,57	180-400		
<b>MFB2016</b>	19,21	30-130	77,57	200-400		
Fonte: autor	<b>MFFB2016</b>	23,07	20-120	82,77	190-400	Do (2019)

Figura 30 - Curvas da derivada da termogravimetria (DTG) do extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016) e mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFFB2016)



Fonte: Do Autor (2019)

Figura 31- Curvas de análise termogravimétrica da farinha bordô 2016 (FB2016),  $\beta$ -CD, malaxagem da farinha bordô 2016 (MFB2016) e mistura física da farinha bordô 2016 (MFFB2016)



Fonte: Do Autor (2019)

Podemos observar que todas as amostras apresentaram comportamentos diferentes da  $\beta$ -CD, porém tiveram comportamentos semelhantes ao composto puro. O que segundo MURA (2015) não indica a complexação, pois o complexo de inclusão deve apresentar um comportamento térmico diferente da amostra pura tendo uma estabilidade maior, o que não ocorreu em nenhum dos casos. Estes resultados diferem dos outros métodos de caracterização que indicaram que houve a complexação, esta diferença pode ter ocorrido por esta técnica ser muito sensível e as amostras serem uma mistura muito grande de compostos químicos que interferem na identificação de seus eventos térmicos.

Diferentemente MUNHUWEYI et al. (2017) notou na sua análise de termogravimetria que o complexo formado entre a  $\beta$ -CD e o óleo essencial de canela e de orégano teve um aumento em sua estabilidade. Este evento também foi observado por BARACHO et al. (2015) em sua complexação de um material híbrido de sílica e a  $\beta$ -CD, pois os complexos apresentaram temperaturas maiores para o início de decomposição.

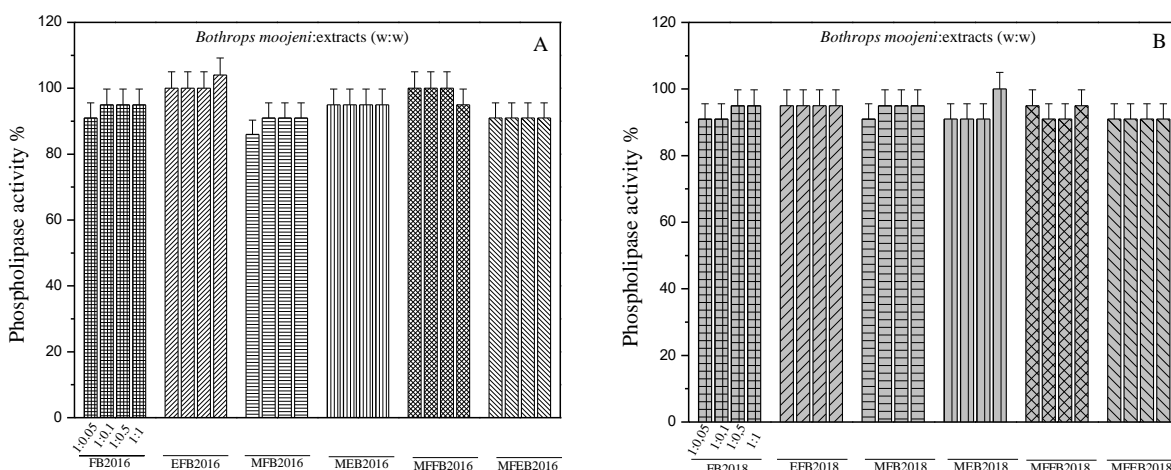
### 4.3 Análise da toxicidade dos complexos de inclusão

#### 4.3.1 Atividade fosfolipásica em meio sólido

Segundo o teste de atividade fosfolipásica (Figura 32) as FB2018, FB2016, EFB2018, EFB2016, MEFB2016, MFB2016, MEFB2018, MFB2018, MFEFB2016, MFFB2016, MFEFB2018 e MFFB2018 nas proporções 1:0,05, 1:0,1, 1:0,5, 1:1 (m/m) não apresentaram inibição significativa. O controle (+) contendo apenas peçonha (10  $\mu$ g) foi considerado como

100% de atividade. Os resultados foram obtidos através da média das triplicatas, avaliadas em diferentes proporções (peçonha; extrato; m:m), e seus desvios médios.

Figura 32 – Atividade da fosfolipase (%) induzida pelo veneno da serpente *Bothrops moojeni*, previamente incubada com extratos de uva



Controle (+): veneno (10 µg), foi considerado como atividade de 100%. Os resultados correspondem às médias das triplicatas obtidas para cada razão (veneno: extrato, w: w) e seus desvios padrão. Farinha bordô 2016 (FB2016); Farinha bordô 2018 (FB2018); Extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016); Extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018); Malaxagem da farinha bordô 2016 (MFB2016); Malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016); Malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018); Malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018); Mistura física da farinha bordô 2016 (MFFB2016); Mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFEFB2016); Mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018); Mistura física do extrato da farinha bordô 2018 (MFEFB2018)

Fonte: Do autor (2019)

Este resultado não significativo para a atividade fosfolipásica mostra que as amostras não inibem a fosfolipase que é a enzima presente na peçonha e que causa a quebra dos fosfolipídios presentes na membrana celular.

JUNIOR (2018) observou que o extrato etanólico de *Eichhornia crassipe* (Aguapé) que é rico em compostos fenólicos principalmente taninos apresentou inibição significativa das fosfolipases presentes na peçonha diferentemente do que ocorreu com o extrato metanólico desta mesma planta.

MARQUES et al. (2019) notaram que seu extrato aquoso de jabuticaba rico em catequina e outros compostos fenólicos, apresentou inibição significativa, sendo estas de

0,1%, 26% e 22% em baixas concentrações de extrato. O extrato metanólico da jabuticaba também apresentou inibição significativa, na proporção de 1:0,1 inibiu 21%. As outras concentrações também apresentaram inibição, porém foram menores e não tiveram diferença significativa entre elas.

A inibição não significativa observada neste estudo pode ter como causa as concentrações utilizadas no teste bem como o tipo de metodologia utilizada.

#### **4.3.2 Atividade hemolítica**

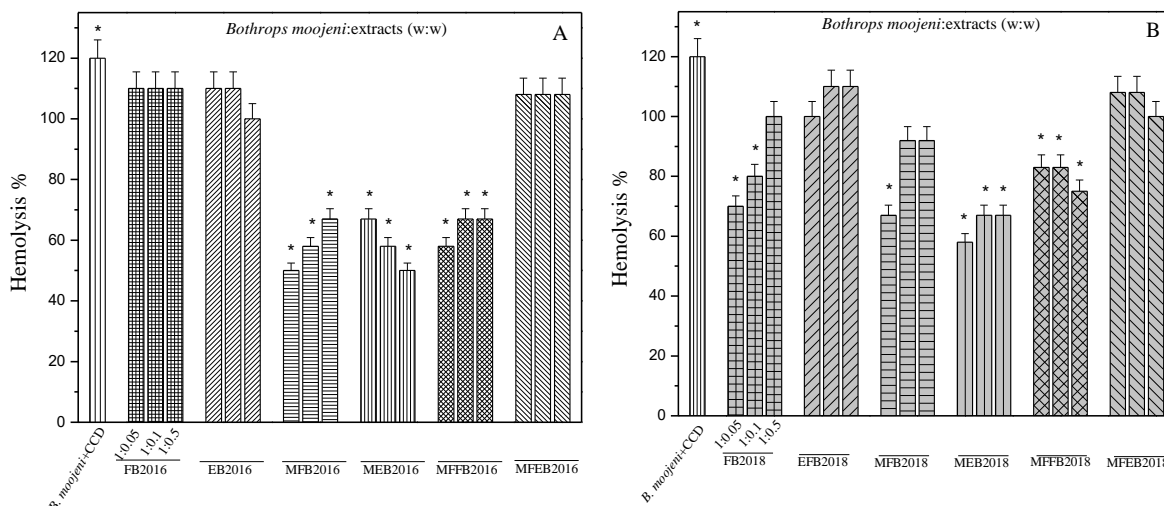
Segundo o teste hemolítico (Figura 33) a presença de  $\beta$ -ciclodextrina teve efeito potencializador da hemólise assim como FB2016, EFB2016, MFEFB2016, EFB2018 e MFB2018. Já as amostras MFB2016, MEFB2016, MFFB2016 apresentaram inibição significativa de 40% em todas as proporções. As amostras FB2018 (1:0,05, 1:0,1), MFB2018 (1:0,05), MEB2018 (1:0,05, 1:0,1, 1:0,5), MFFB2018 (1:0,05, 1:0,1, 1:0,5) apresentaram inibição significativa de 30%.

Podemos concluir, portanto que houve a inibição das proteases da peçonha que causam a hemólise dos eritrócitos, pois estas degradam proteínas presentes na membrana celular. Esta inibição pode estar relacionada a presença de compostos fenólicos nas amostra, pois segundo MARQUES et al. (2019) estes possuem efeitos sinérgicos e aditivos, além de poderem causar mudanças conformacionais nas enzimas tendo a possibilidade de causar aumento ou diminuição de sua atividade.

OLIVEIRA (2017) no estudo do extrato etanólico de *Averrhoa carambola* (carambola) rica em compostos fenólicos como os flavonóides observou que este apresentou uma inibição de 22% na proporção de 1:0,25 (p/p) sobre a peçonha de *B. atrox* quando incubado em extrato aquoso e inibição de 27% quando incubado em extrato etanólico.

MARQUES et al. (2019) avaliou a atividade hemolítica do extrato aquoso e metanólico da jabuticaba, que é uma fruta rica em compostos fenólicos como a catequina. Em seu estudo foi observado que o extrato aquoso na proporção 1:1 exibiu uma inibição significativa entre 21% e 55% da ação do veneno de *B. moojeni*. O extrato metanólico apresentou inibição significativa de 41% para 53% na proporção de 1:0,5.

Figura 33 - Atividade hemolítica (%) induzida pelo veneno da serpente *Bothrops moojeni*, previamente incubada com extratos de uva.



Controle (+): veneno (20 µg), foi considerado como atividade de 100%. Os resultados correspondem às médias dos triplicados obtidos para cada razão (veneno: extrato, w: w) e seus desvios padrão. \* Estatisticamente diferente de seu respectivo controle positivo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), e representação do efeito inibitório na atividade do veneno. Beta-ciclodextrina ( $\beta$ -CD); Farinha bordô 2016 (FB2016); Farinha bordô 2018 (FB2018); Extrato da farinha bordô 2016 (EFB2016); Extrato da farinha bordô 2018 (EFB2018); Malaxagem da farinha bordô 2016 (MFB2016); Malaxagem da farinha bordô 2018 (MFB2018); Malaxagem do extrato da farinha bordô 2016 (MEFB2016); Malaxagem do extrato da farinha bordô 2018 (MEFB2018); Mistura física da farinha bordô 2016 (MFFB2016); Mistura física da farinha bordô 2018 (MFFB2018); Mistura física do extrato da farinha bordô 2016 (MFEFB2016); Mistura física do extrato da farinha 2018 (MFEFB2018);

Fonte: Do autor (2019)

#### 4.4 Atividade fotoprotetora

Na atividade fotoprotetora (Tabela 6) foi observado que a beta-ciclodextrina apresentou um FPS baixo de  $3,44 \pm 1,86$  como era de se esperar. Comparando-se as farinhas pode-se observar que a FB2018 apresentou o maior valor de FPS  $5,32 \pm 0,50$  seguida pela FB2016 que apresentou um FPS de  $2,24 \pm 0,24$ . Dentre os extratos metanólicos o EFB2016 apresentou o maior valor  $12,85 \pm 0,45$  seguido pelo EFB2018 com um FPS de  $6,73 \pm 0,03$ . Desta maneira pode-se observar que os extratos apresentaram maiores valores de FPS se

comparado com as farinhas. Este fato se deve provavelmente pelo método de extração utilizado, pois o metanol sendo mais apolar que a água tem uma afinidade maior pelos compostos fenólicos que tem baixa solubilidade em água. Outro fator é que segundo a análise realizada de CLAE os extratos apresentam uma maior quantidade de compostos fenólicos que as farinhas, pois a atividade fotoprotetora é atribuída aos compostos fenólicos.

Para a FB2016 notou-se que a MFB2016 foi que apresentou maior FPS ( $6,28 \pm 2,60$ ) seguido da MFFB2016 ( $2,50 \pm 0,14$ ). Portanto, há indícios que a complexação favoreceu o aumento do FPS desta farinha. Analisando os dados obtidos para a FB2018 pode-se notar que a MFB2018 ( $5,55 \pm 0,07$ ) favoreceu o aumento do FPS o que difere do que ocorreu na MFFB2018 ( $3,12 \pm 0,18$ ) que apresentou um FPS menor que o da farinha sem complexação.

Observando-se os dados obtidos para os complexos do EFB2016 notou-se que MFEFB2016 ( $17,08 \pm 0,27$ ) favoreceu o aumento do FPS o que não ocorreu na MEFB2016 ( $7,43 \pm 0,33$ ) que apresentou um valor menor que o do extrato não complexado. Para o EFB 2018 observou-se que MFEFB2018 ( $8,48 \pm 0,25$ ) favoreceu o aumento do FPS o que difere do que ocorreu com a MEFB2018 ( $8,48 \pm 0,25$ ) que apresentou um valor menor que o apresentado pelo extrato sem complexação.

Comparando-se os métodos de complexação podemos notar que nas farinhas o método de malaxagem (M) foi o que propiciou o aumento do FPS das farinhas. Entretanto nos extratos o método de mistura física (MF) propiciou um maior FPS. No geral, pode-se notar também que os métodos que não causaram um aumento no FPS ocasionaram uma redução do FPS se comparados com as amostras sem serem complexadas exceto pela MFFB2016 que favoreceu um pequeno aumento se comparada a FB2016.

Tabela 7 - Fator de proteção solar da  $\beta$ -CD, FB2016, FB2018, EFB2016, EFB2018, MFB2016, MFB2018, MEFB2016, MEFB2018, MFFB2016, MFFB2018, MFEFB2016 e MFEFB2018.

Amostras	FPS	Amostras	FPS	Amostras	FPS
$\beta$ -CD	$3,44 \pm 1,86$	-	-	-	-
FB2016	$2,24 \pm 0,24$	MFB2016	$6,28 \pm 2,60$	MFFB2016	$2,50 \pm 0,14$
FB2018	$5,32 \pm 0,50$	MFB2018	$5,55 \pm 0,07$	MFFB2018	$3,12 \pm 0,18$
EFB2016	$12,85 \pm 0,45$	MEFB2016	$7,43 \pm 0,33$	MFEFB2016	$17,08 \pm 0,27$
EFB2018	$6,73 \pm 0,03$	MEFB2018	$3,24 \pm 0,25$	MFEFB2018	$8,48 \pm 0,25$

Fonte: Do autor (2019)

No estudo realizado por BL e JRN (2017) da atividade fotoprotetora foram analisados o extrato metanólico, extrato hidroetanólico e o extrato aquoso do bagaço da uva Isabel. Foi observado que o extrato hidroetanólico apresentou os maiores FPS que variou de 4,31-4,56

seguido pelo extrato aquoso que variou entre 0,883- 1,291 e 0,641-1,001. O que se aproxima dos valores encontrados neste estudo para a FB2018 e FB2016.

SILVA (2015) analisou o extrato etanólico da Ciriguela (*S. purpurea*) planta do cerrado que possui compostos fenólicos como a quercetina. Este extrato apresentou um FPS de 6,53 o que está dentro dos valores encontrados neste estudo. Pode haver diferença por serem frutos de espécies diferentes e portanto produzirem metabólitos secundários diferentes.

Portanto, os valores encontrados condizem com a literatura, porém ainda não foram realizados estudos da atividade fotoprotetora de complexos com extratos de frutas.

## 5 CONCLUSÃO

A formação do complexo de inclusão foi confirmada pelas análises de espectroscopia de UV-visível, espectroscopia de absorção no infravermelho (IV) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Porém, a termogravimetria (TG) não indicou a complexação que pode ter ocorrido por ser uma técnica muito sensível e as amostras serem uma mistura muito grande de compostos químicos que interferem na identificação de seus eventos térmicos.

Portanto é possível concluir que houve a complexação e que estes podem ser utilizados em formulações por apresentarem atividade fotoprotetora, porém é necessária a realização de mais análises toxicológicas e de estabilidade.



## REFERÊNCIAS

AGUIAR, Maria Fernanda Alves. Emprego da cristalização para a purificação de ciclodextrinas produzidas por CGTase de bacilo alcolofílico imobilizado em esponja vegetal. **XXIV Encontro Anual de Iniciação Científica**, [S. l.], 2015.

AGUIAR, Ulisses N. *et al.* Preparação e caracterização do complexo de inclusão do óleo essencial de *Croton zehntneri* com  $\beta$ -ciclodextrina. **Revista Química Nova**, [S. l.], v. 37, n. 1, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422014000100010>. Acesso em: 17 jul. 2019.

BARACHO, Raphaela V. *et al.* Obtenção e caracterização de material híbrido entre sílica e ciclodextrinas. **Revista Química Nova**, [S. l.], v. 15, n. 00, p. 1-5, 2015.

BARBARÁ, Janaina Aith. Avaliação da influência da maturação e da maceração sobre o perfil fenólico e volátil do vinho tinto Syrah do Vale do São Francisco através do emprego de técnicas cromatográficas. 2019. 182 f. Tese (Doutorado em Química) - Doutorando, Porto Alegre, 2019.

BARBOSA, Fernando Gomes. First phytochemical and biological study of the ethanolic extract from leaves of *Capirona decorticans* (Rubiaceae). **Acta Amazonica**, Manaus-AM, v. 48, n. 4, 2018.

BARBOSA, Natanael Cardoso. **Uma revisão bibliográfica dos fatores antinutricionais : taninos, inibidores de proteases e lectinas**. 2014. Monografia (Licenciatura em Química) - Graduando, Anápolis-GO, 2014. Disponível em: <file:///D:/Documents/projeto/análise%20toxicologica/TCC%20-%20Natanael%20Cardoso%20Barbosa.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2019.

BEDNARCZUK, V. O. *et al.* Teste in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba - PR, v. 11, n. 2, p. 43-50, 2010.

BENDER, Ana Betine Beutinger *et al.* Obtenção e caracterização de farinha da casca de uva e sua utilização em snack extrusado. **Brazilina Journaul of Food Technology**, Campinas-SP, v. 19, p. 1-9, 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.1016>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1981-67232016000100409&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232016000100409&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 11 jul. 2019.

BENNEMANN, Gabriela Datsch *et al.* Desenvolvimento e aceitabilidade de Muffins adicionados de farinha de casca de uva das cultivares Ancelotta e Bordô. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações-MG, v. 14, n. 2, p. 864-874, 2016. Disponível em: [http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/2923/pdf\\_579](http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/2923/pdf_579). Acesso em: 10 jul. 2019.

BL, Dengo; JRN, Ferreira. Avaliação in vitro do potencial fotoprotetor do extrato do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). **Revista Evidência**, Joaçaba, v. 17, ed. 1, p. 45-56, 2017.

BRANDÃO, Taís Silva de Oliveira. Optimization of a technique to quantify the total phenolic compounds in jambolan ( *Syzygium cumini* Lamark) pulp. **Brazilin Journal of Food**

**Technology**, Campinas-SP, v. 22, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.15818>. Acesso em: 12 jul. 2019.

CARVALHO, Juliana Cajado Souza et al. Estudo do impacto da utilização de ativos vegetais em fotoprotetores. **InterfacEHS**, São Paulo, v. 10, ed. 2, p. 62-82, 2015.

CEDRO, Rafaella C. A. et al. Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A2 from Bothrops jararaca snake venom. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, [S. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0170-y>. Acesso em: 22 jul. 2019.

COSTA, Tainara; JORGE, Neuza. Compostos Bioativos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 195-203, 2011.

DEBASTIANI, Gilson *et al.* Cultura da Uva, Produção e Comercialização de Vinhos no Brasil: Origem, Realidades e Desafios. **Revista Cesumar Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 471-485, 2015.

DENGO, BL; FERREIRA, JRN. Avaliação in vitro do potencial fotoprotetor do extrato do bagaço da uva isabel (*vitis labrusca*). **Evidência**, Joaçaba, v. 17, ed. 1, p. 45-56, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18593/eba.v17i1.13560>. Acesso em: 1 out. 2019.

DO NASCIMENTO FILHO, W.B; FRANCO, C.R. Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 1968-1987, 2015.

GONÇALVES, M.C. et al. Estudos preliminares da citotoxicidade e propriedade fotoprotetoras de derivados de benzofenona e lactonas. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 10, ed. 3, p. 600-608, 2018. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v10n3a12.pdf>. Acesso em: 1 out. 2019.

GUILARDUCI, Viviane Vasques da Silva et al. Adsorção de fenol sobre carvão ativado em meio alcalino. **Química Nova**, [s. l.], ano 2006, v. 29, n. 6, p. 1226-1232, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/0D/qn/v29n6/14.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.

ISHIHARA, Hirofumi *et al.* Natural variation in flavonol accumulation in *Arabidopsis* is determined by the flavonol glucosyltransferase BGLU6. **Journal of Experimental Botany**, [S. l.], p. 1505-1517, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv546>. Acesso em: 15 jul. 2019.

JUNIOR, Clésio José Purcina. **Estudo comparativo da inibição das atividades proteolítica e fosfolipásica de peçonha botrópica por diferentes tipos extratos de *Eichhornia crassipe***. 2018. 31 f. Monografia (Bacharel em Biotecnologia) - Graduando, Uberlândia-MG, 2018.

KFOURY, Miriana. Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies. **Food Chemistry**, [s. l.], p. 454-461, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614007572?via%3Dihub>. Acesso em: 14 set. 2019.

KFOURY, Miriana et al. Determination of formation constants and structural characterization of cyclodextrin inclusion complexes with two phenolic isomers: carvacrol and thymol. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 12, p. 29-42, 2016. Disponível em: doi:10.3762/bjoc.12.5. Acesso em: 5 out. 2019.

LIMA, Nayla E. Ferreira. **Perfil fenólico e atividade antioxidante de vinhos Goethe - Caracterização e evolução durante o armazenamento em garrafa**. 2012. Tese (Mestre em Ciência dos Alimentos) - Mestrado, Florianópolis - SC, 2012.

LOBO, Francine Albernaz Teixeira. **Inclusão de carotenoides de pimentão amarelo em B-cilodextrina e avaliação da sua estabilidade, visando aplicações em alimentos**. 2013. 114 f. Dissertação (Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) - Mestranda, [S. l.], 2013.

LOPEZ, Leilane Demito *et al.* Interference of the cultivation system, UV-C radiation and drying method in the quality of grape by-products flour. **Científica: Revista de Ciências Agrárias**, Jaboticabal-SP, v. 45, n. 4, p. 347-354, 2017.

LYRA, M.A.M. et al. Ferramentas analíticas aplicadas a caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s. l.], v. 31, ed. 2, p. 117-124, 2010.

MAGALHÃES, Marta Regina. **Caracterização de enzimas em peçonhas animais: identificação de fosfolipases do escorpião *Hadrurus gerstchi* e atividades enzimáticas da arraia *Potamotrygon falkneri***. 2017. Tese (Doutor em Biologia animal) - Doutorado, Brasília, 2017. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/94141024.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.

MARQUES, Helena Maria Cabral. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour and Fragrance Journal**, [S. l.], v. 25, p. 313-326, 2010.

MARQUES, Tamara R. et al. Jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) skin extracts as inhibitors of phospholipases A2 and proteases. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro - RJ, v. 1, n. 2, 2019.

MARQUES, Tamara R. et al. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 191-196, 2016.

MENEZES, M.A.G *et al.* Quantificação de Antocianinas dos Extratos de Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*). **Holos**, [S. l.], v. 1, p. 30-34, 2015.

MUNHUWEYI, Karen et al. Physical and antifungal properties of  $\beta$ -cyclodextrin microcapsules and nanofibre films containing cinnamon and oregano essential oils. **Elsiever**, [s. l.], v. 87, p. 413-422, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.012>. Acesso em: 13 out. 2019.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], p. 226-238, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.01.058>. Acesso em: 5 out. 2019.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], p.

238-250, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708514001137?via%3Dihub>. Acesso em: 14 set. 2019.

NASCIMENTO JUNIOR, José Adão Carvalho *et al.* Análise dos pedidos de patente recentes envolvendo ciclodextrinas no setor farmacêutico. **Revista Interdisciplinar de Pesquisa e Inovação**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1-7, 2015.

NETO, Antônio Guilherme de Carvalho. **Elucidação da interação hospede-hospedeiro entre R-(-)-carvona e B-ciclodextrina**. 2017. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Mestrando, [S. l.], 2017.

NISHIYAMA, Yara Paula de Oliveira. **Composição fenólica das partes comestíveis das uvas BRS Carmem BRS Magna**. 2016. Tese (Mestre em Engenharia de Ciência dos Alimentos) - Mestrado, São José do Rio Preto, 2016. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/136180/nishiyama\\_ypo\\_me\\_ibilce\\_int.pdf?sequence=6&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/136180/nishiyama_ypo_me_ibilce_int.pdf?sequence=6&isAllowed=y). Acesso em: 21 set. 2019.

OLIVEIRA, Daniela Aparecida. **Caracterização farmacológica de extratos de Averrhoa carambola: efeitos sobre enzimas**. 2017. 160 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Mestranda, [S. l.], 2017.

ORLANDA, J.F.F.; VALE, V.V. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, ed. 4, p. 730-736, 2015.

ÖZCAN, M. M. et al. Determination of bioactive compounds and mineral contents of seedless parts and seeds of grapes. **South Africa Journal of Enology and Viticulture**, [s. l.], v. 38, ed. 2, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21548/38-2-1605>. Acesso em: 13 out. 2019.

POZZAN, Maria Suzana Vial; BRAGA, Gilberto Costa; SALIBE, Ariane Bush. Teores de antocianinas, fenóis totais, taninos e ácido ascórbico em uva "bordô" sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Ceres**, Viçosa-MG, v. 59, n. 5, p. 701-708, 2012.

**Produção integrada de uva para processamento : implantação do vinhedo, cultivares e manejo da planta** / Samar Velho da Silveira, Alexandre Hoffmann, Lucas da Ressurreição Garrido, editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa, 2015. v. 3, 72 p. ; il. color. ; 21 cm x 29,7 cm.

RAKMAI, Jaruporn *et al.* Encapsulation of yarrow essential oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: physiochemical characterization and evaluation of bio-efficacies. **CYTA - Journal of Food**, [S. l.], v. 15, p. 409-417, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1286523>. Acesso em: 15 jul. 2019.

REZENDE, Danubia Aparecida de Carvalho Selvati. Essential Oils from *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis*, *Peumus boldus* and *Foeniculum vulgare*: Inhibition of Phospholipase A2 and Cytotoxicity to Human Erythrocytes. **Scientific Research An Academic Publisher**, [S. l.], v. 8, n. 9, 2017. Disponível em: 10.4236/ajps.2017.89147. Acesso em: 22 jul. 2019.

RODRIGUES DA SILVA, Laís *et al.* Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity. **Acta Toxicológica Argentina**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

ROLDAN, Bruna Bresolin. **Influência do método de extração sobre a composição do suco de uva Bordô (*Vitis labrusca*)**. 2016. 57 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de

alimentos) - Mestranda, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/150292>. Acesso em: 13 out. 2019.

Saraiva, B. R., Vital, A. C. P., Anjo, F. A., Cesaro, E. & Matumoto-Pintro, P. T. 2018. Valorização de resíduos agroindustriais: fontes de nutrientes e compostos bioativos para a alimentação humana. **Pubsaúde**, 1, a007. DOI: [https:// dx.doi.org/10.31533/pubsaude1.a007](https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude1.a007).

SILVA, Cíntia de Souza et al. Persea americana: determinação de compostos fenólicos por CLAE-DAD. **Anais Seminário de Iniciação Científica**, [s. l.], ed. 21, 2017.

SILVA, Rafaela Candido Oliveira da. **Validação de Metodologia Analítica por CLAE-DAD para Determinação de Compostos Fenólicos e Atividade Biológica em Coprodutos Agroindustriais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Mestrado, Pato Branco-PR, 2016. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1771/1/PB\\_PPGTP\\_M\\_Silva%2c%20Rafa%20Candido%20Oliveira%20da\\_2016.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1771/1/PB_PPGTP_M_Silva%2c%20Rafa%20Candido%20Oliveira%20da_2016.pdf). Acesso em: 16 jul. 2019.

SILVA, Renata Vieira da. **Extratos dos frutos de Spondias purpurea L. como princípio ativo para a formulação fitocosmética fotoprotetora**. 2015. 81 f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Mestranda, Feira de Santana, BA, 2015.

SILVA, Lucilene Fernandes. **Caracterização química, atividades antibacteriana, antioxidante, fosfolipásica, hemolítica e genotóxica dos óleos essenciais**. 2014. Dissertação (Mestre em Química) - Mestrado, [S. l.], 2014.

SOUZA, A.R.; MORGON, N.H. Interação entre o Dímero de Apocinina e Ciclodextrina. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 417-424, 2016. Disponível em: <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/1615/756>. Acesso em: 18 jul. 2019.

SOUZA, Angela Vacaro de; VIEIRA, Marcos Ribeiro da Silva; PUTTI, Fernando Ferrari. Correlations between the phenolic compounds and antioxidant activity in the skin and pulp of table grape varieties. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas-MG, v. 21, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.10317>. Acesso em: 15 jul. 2019.

SOUZA, Cláudia R.F. *et al.* Complexos de inclusão binários, ternários e quartenários contendo óleo essencial de Lippia sidoides. **Revista Química Nova**, [S. l.], v. 39, n. 8, p. 979-986, 2016.

SUCUPIRA, Natália Rocha *et al.* Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TANG, Guo-Yi et al. Potential of Grape Wastes as a Natural Source of Bioactive Compounds. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2598, 2018.

URBAN, Amanda Migliorini *et al.* Efetividade antifúngica de fármacos complexados com ciclodextrinas. **Revista Saúde - UNG - SER**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 97-110, 2016.

URIAS ORONA, Vania *et al.* Phenolic acids with antioxidant activity in maize bran and wheat bran. **Ecosistemas y recursos agropecuarios**, Villahermosa, v. 3, n. 7, 2016.

Disponível em: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-90282016000100005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282016000100005). Acesso em: 16 jul. 2019.

VENTURINI, Cristina de Garcia *et al.* Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Revista Química Nova**, São Paulo-SP, v. 31, n. 2, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000200032>. Acesso em: 18 jul. 2019.