



Caracterização físico-química e atividade biológica de óleos de grainha e geleias de uvas

Luana Fernandes

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança
Alimentar*

Orientado por

Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa

Doutor José Alberto Cardoso Pereira

Bragança

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à minha orientadora, Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa, da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, por me ter motivado a realizar o presente trabalho, bem como toda a paciência prestada, disponibilidade, ajuda e amizade.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor José Alberto Pereira, da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, por estar presente ao longo de todo o trabalho e sobretudo por ter dado um novo rumo ao trabalho sempre que as coisas pareciam mais complicadas.

À Professora Doutora Susana Casal, da Faculdade de Farmácia do Porto, por me ensinar, auxiliar e me permitir realizar algumas das análises necessárias para o presente trabalho na sua instituição.

Tenho que prestar um especial agradecimento ao meu colega de mestrado, Nuno Rodrigues, por na fase inicial do meu trabalho ter tido paciência suficiente para lidar com a minha inexperiência laboratorial e me ter auxiliado sobretudo na preparação das geleias de uva.

A todos os meus colegas de laboratório, não mencionando nomes que seriam muitos e à Maria do Céu Fidalgo por terem estado presentes no meu dia-a-dia, por partilharem os seus conhecimentos, apoio e amizade.

À minha família e amigos, sobretudo à minha mãe, por terem estado sempre presentes ao longo da realização deste trabalho.

Não posso esquecer o Professor João Verdial por me ter facultado as uvas usadas na realização do presente trabalho.

Todas as pessoas mencionadas contribuíram diretamente ou indiretamente na realização do presente trabalho. Nesse sentido, um muito Obrigada por me terem permitido alargar os meus horizontes e me fazerem gostar da vertente da investigação.

Índice

Resumo	i
Abstract	iii
Índice de Figuras	v
Índice de Tabelas	vi
Lista de Abreviaturas	viii
Capítulo 1 - Introdução geral e objectivos do trabalho	1
Capítulo 2 - Composição em ácidos gordos e vitamina E de óleos de grainha de uvas de dez castas nacionais	7
Resumo	8
2.1. Introdução	8
2.2. Materiais e métodos	10
2.2.1. Amostragem	10
2.2.2. Extração de óleos de grainha de uva	10
2.2.3. Composição em ácidos gordos	10
2.2.4. Vitamina E	11
2.2.5. Atividade antioxidante dos óleos de grainha de uva	11
2.2.5.1. DPPH (Radicaís 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	11
2.2.5.2. ABTS (Radicaís Ácido 2,2`Azino-bis (3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico))	12
2.2.6. Análise estatística	12
2.3. Resultados e discussão	13
2.3.1. Caracterização das uvas das dez variedades	13
2.3.2. Teor de óleo de grainha de uva	15
2.3.3. Composição em ácidos gordos	15
2.3.4. Composição em vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis)	18
2.3.5. Atividade antioxidante	23
2.4. Conclusões	24
Capítulo 3 - Preparação e caracterização físico-química, biológica e organolética de geleias de uva	26
Resumo	26
3.1. Introdução	27
3.2. Materiais e Métodos	28

3.2.1. Amostragem	28
3.2.2. Preparação das geleias	28
3.2.3. Análises físico-químicas	29
3.2.4. Preparação de extratos de geleias e películas de uva	30
3.2.5. Atividade antioxidante	30
3.2.5.1. Capacidade redutora total	30
3.2.5.2. Efeito bloqueador dos radicais livre de DPPH	30
3.2.5.3. Poder redutor	31
3.2.6. Avaliação organolética	31
3.2.7. Análise estatística	32
3.3. Resultados e discussão.....	33
3.3.1. Parâmetros físico-químicos da geleia	33
3.3.2. Atividade antioxidante	35
3.3.2.1. Capacidade redutora total	35
3.3.2.2. Efeito bloqueador dos radicais livre de DPPH	38
3.3.2.3. Poder redutor	38
3.3.3. Avaliação organolética	40
3.4. Conclusão	45
Capítulo 4 - Conclusão geral.....	47
Referências	49
Anexos.....	57

Resumo

Na região de Trás-os-Montes a viticultura é uma atividade com importância económica, com grande diversidade de castas de videira, quer tintas quer brancas, de frutos com características distintas e únicas, no que respeita à cor, sabor, tamanho dos bagos, doçura, acidez, entre outras. De uma forma geral, as uvas são usadas na produção de vinho, contudo, devido à especialização dos mercados e às características de vinificação de algumas castas, existe o risco de perda das menos valorizadas e consequentemente uma perda de biodiversidade. Neste sentido é urgente a valorização das castas tradicionais, através de produções alternativas para que não ocorra perda deste importante património genético. É também sabido que na indústria vinícola se produz uma grande quantidade de sub-produtos, tais como películas e grainhas, que deverão ser valorizados.

Nesse sentido, com o presente trabalho pretendeu-se extrair e caracterizar óleos de um desses sub-produtos, a grainha, de dez castas tintas, com o intuito de o poder utilizar e valorizar. Além disso, neste estudo procurou-se desenvolver um novo produto à base de uvas, as geleias de uva, para valorizar as castas de menor importância e contribuir para a sua preservação. Após formulação das geleias, procedeu-se à sua caracterização físico-química, biológica e organolética.

Os resultados referentes à primeira parte do estudo demonstraram que os óleos de grainha das dez castas tintas estudadas são uma boa fonte de óleo, variando entre 6,41 (Tinta Barroca) e 12,40% (Touriga Francesa). No que respeita à sua composição em ácidos gordos, o ácido linoleico foi o predominante seguido dos ácidos oleico (C18:1), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0). Ao ter em conta o perfil lipídico, os óleos de grainha apresentaram a seguinte sequência: PUFA > MUFA > SFA, apesar de haver diferenças entre as castas. No teor em vitamina E foram detetados sete vitâmeros, nomeadamente os α -, γ -, δ -tocoferóis e os α -, β -, γ -, δ -tocotrienóis, numa concentração total de 749 a 1436 mg/kg. Os óleos de grainha de uva demonstraram ser mais ricos em tocotrienóis do que em tocoferóis, mais concretamente, em γ -tocotrienol > α -tocotrienol > α -tocoferol. Verificou-se ainda que os óleos extraídos apresentaram uma interessante atividade antioxidante face aos radicais livres de DPPH e ABTS, originando um efeito bloqueador entre 38,68 a 69,89% e 0,334 a 0,489 μ mol eq Trolox/mL de óleo, respetivamente.

Na segunda parte do trabalho, formularam-se sete geleias de uva, tendo cada uma delas apresentado características distintas, designadamente no que se refere à cor, humidade (38,59- 44,97%) e cinzas (0,40-0,69%). Em relação ao pH as diferenças não foram acentuadas (3,60-3,74), ao contrário do observado para a acidez (0,72-1,01%) onde se detetaram diferenças significativas. O processamento usado na elaboração das geleias originou um decréscimo na actividade antioxidante, mas essa diminuição não foi igual para todas as castas. Relativamente à análise organolética, verificou-se existir uma boa aceitação das diferentes geleias por parte de um painel de consumidores.

Em suma, tanto os óleos de grainha de uva como as geleias de uva demonstraram possuir uma composição físico-química que confere características benéficas para a saúde humana, tendo as geleias tido boa aceitação por parte dos consumidores. Nesse sentido, deve-se investir na criação de novos produtos à base de uva de forma a melhor rentabilizar este fruto.

Palavras-chave: óleos de grainha de uva; geleias de uva; análises físico-químicas; atividade antioxidante; análise organolética.

Abstract

Viticulture is an activity with economic importance in Trás-os-Montes region where a great diversity of grape varieties exists. The fruits have distinctive and unique characteristics, with respect to color, taste, berries size, sweetness and acidity, among others. In general, the grapes are used in wine production; however, due to market specialization and specific characteristics of some wines, there is a risk of loss of less valued grape varieties and consequently a loss of biodiversity. In this sense it is of great importance to find out alternatives to traditional grape varieties in order to minimize the potential loss of this important genetic heritage. It is also known that wine industry produces large amounts of by-products, such as seeds and skins, which should be recovered.

In this way, the present work intends to characterize and extract oil from one of these sub-products (seed). Seed oils of ten grape red varieties were extracted in order to enhance their use. Furthermore, in this study a new product based on grapes, grape jellies, were also produced to enhance the grape varieties of minor importance and to contribute to their preservation. After jellies formulation, physic-chemical, biological and sensorial analysis were performed.

The results concerning the first part of the study demonstrated that the ten grape-seed oils were a good source of oil, ranging from 6.41 (Tinta Barroca) to 12.40% (Touriga Francesa). With regard to their fatty acid composition, linoleic acid was the predominant followed by oleic (C18:1), palmitic (C16:0) and stearic (C18:0) acids. Taking into account the lipid profile, grape-seed oils had the following sequence: PUFA > MUFA > SFA, although differences between varieties were observed. In relation to vitamin E composition, seven compounds were detected, namely α -, γ -, δ -tocopherols and α -, β -, γ -, δ -tocotrienols, in a total concentration of 749-1436 mg/kg. The grape-seed oils had proven to be richer in tocotrienols than tocopherols, namely, γ -tocotrienol > α -tocotrienol > α -tocopherol. It was also found that the grape seed oils showed an interesting antioxidant activity against the free radicals of DPPH and ABTS, giving a blocking effect between 38.68 to 69.89% and 0.334 to 0.489 μ mol Trolox eq/mL oil, respectively.

In the second part, seven grape jellies were produced, each showing distinct characteristics, particularly in what regards color, moisture (38.59-44.97%) and ash (0.40-0.69%). In terms of pH, no significant differences were detected between varieties

(3.60-3.74), unlike acidity (0.72-1.01%) for which significant differences were observed. The processing methodology used in jellies preparation caused a decrease in the antioxidant activity, but this reduction was not equal for all grape varieties. Regarding sensory analysis good acceptance of the different jellies was observed by a consumer's panel.

In conclusion, both the grape-seed oils and the grape jellies obtained in the present work had demonstrated physic-chemical composition that confers beneficial properties for human health, being the jellies well accepted by the consumers. Thus, more investment in creating new grape-based products should be carried out in order to valorize this fruit.

Keywords: grape-seed oils, grape jelly, physic-chemical analyzes, antioxidant activity, sensory analysis.

Índice de Figuras

Figura 1.1 - Principais países produtores de uva em 2010, adaptado da FAO (2010).....	2
Figura 1.2 - Produção de géneros alimentares em Portugal em 2010, adaptado da FAO (2010).....	2
Figura 1.3 – Bago de uva.....	4
Figura 2.1 - Dendrograma de dez óleos de grainha de uva tendo em conta o seu perfil lipídico.....	18
Figura 2.2 - Cromatograma da vitamina E para o óleo de grainha de uva da casta Aragônes	19
Figura 2.3 - Tocoferóis e tocotrienóis em dez óleos de grainha de uva.....	20
Figura 2.4 - Dendrograma de dez óleos de grainha de uva em relação à vitamina E.....	22
Figura 3.1 - Fluxograma da formulação de geleias de uvas de sete castas tintas.....	29
Figura 3.2 - Exemplo da ficha elaborada para avaliação organolética das sete geleias de uva elaboradas.....	32
Figura 3.3 - Capacidade redutora total da geleia de uva (A) e da película de uva (B).....	37
Figura 3.4 - Poder redutor da geleia de uva (A) e da película de uva (B).....	40
Figura 3.5 - Distribuição das idades dos consumidores que efetuaram a avaliação organolética das geleias.....	42
Figura 3.6 - Gráficos <i>box-plot</i> obtidos para os parâmetros aparência, paladar, doçura, acidez e apreciação global para as sete geleias estudadas.....	44
Figura 3.7 - Gráfico <i>box-plot</i> para o parâmetro cor para o primeiro dia (A) e segundo dia (B) da avaliação organolética.....	45

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Alguns parâmetros estudados em uvas de dez castas.....	14
Tabela 2.2 – Teor em óleo (% , massa/massa de matéria seca) de grainha de uva e composição de ácidos gordos de dez óleos de grainha de uva estudados no presente trabalho.....	17
Tabela 2.3 - Composição em tocoferóis e tocotrienóis (mg/kg de óleo) de dez óleos de grainha de uva.	21
Tabela 2.4 - Atividade antioxidante de dez óleos de grainha de uva estudados no presente trabalho.....	23
Tabela 3.1 - Parâmetros físico-químicos determinados nas geleias de uva elaboradas a partir de sete castas portuguesas.....	35
Tabela 3.2 - Razão da capacidade redutora entre as geleias e películas de uva.....	38
Tabela 3.3 - Percentagem do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH para a concentração de 5 mg de extrato/mL das geleias e película de uva	39
Tabela 3.4 - Valores de EC50 determinados no ensaio do poder redutor em geleias e película de uva.....	41

Lista de Abreviaturas

ABTS - Radical Ácido 2,2`Azino-bis (3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico)

DPPH - Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FAO - Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação

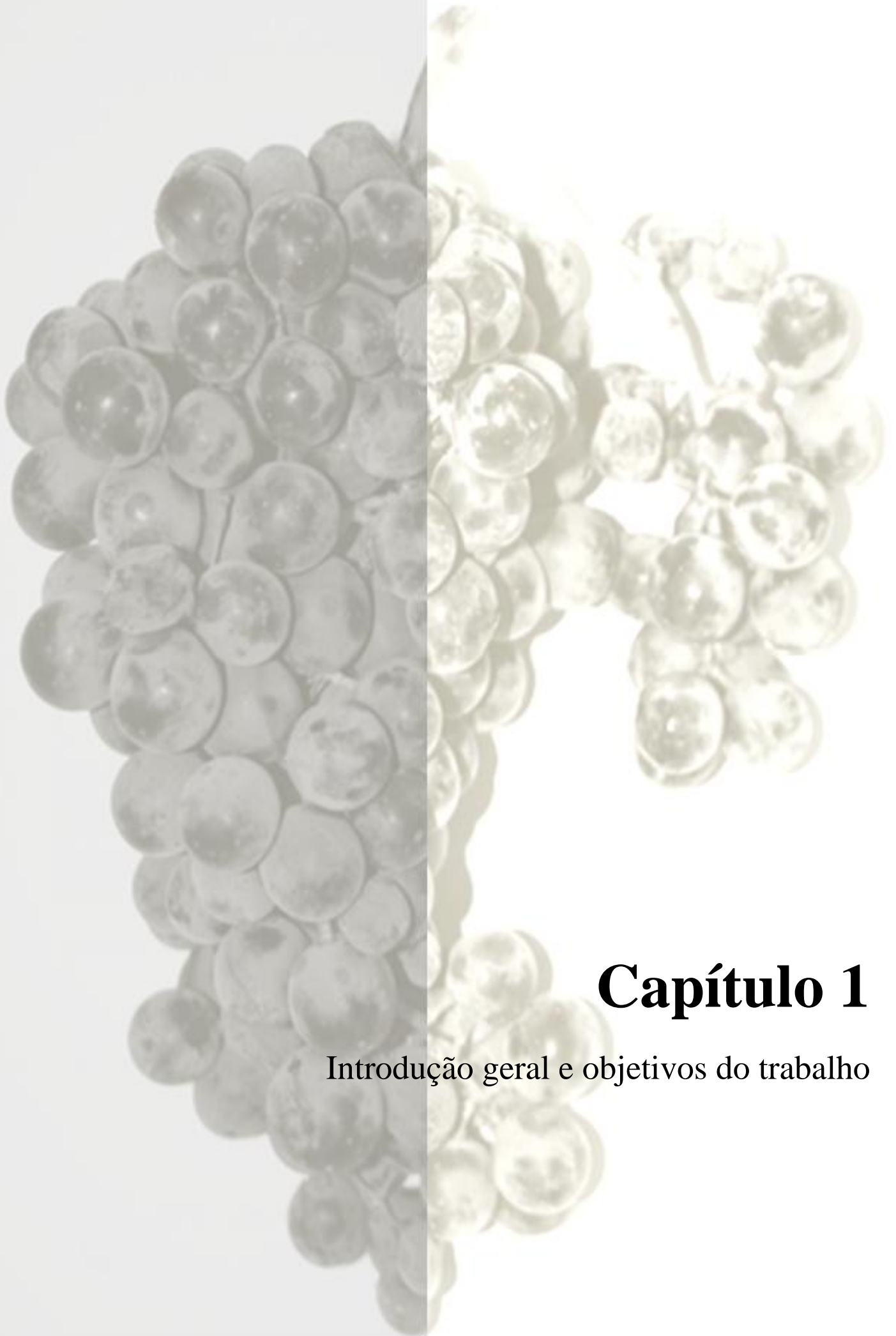
HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

INE - Instituto Nacional de Estatística

MUFA - Ácidos gordos monoinsaturados

PUFA - Ácidos gordos polinsaturados

SFA - Ácidos gordos saturados



Capítulo 1

Introdução geral e objetivos do trabalho

1.1. Introdução geral e objetivos do trabalho

A produção de *Vitis vinifera* L. encontra-se espalhada por todo o mundo, tendo sido a China e a Itália os maiores produtores de uva em 2010 segundo a FAO (Figura 1.1). Apesar de Portugal não constar entre os grandes produtores mundiais, a produção total de uvas nacional é bastante relevante face à de outros géneros alimentícios (Figura 1.2). A produção de uvas, aproximadamente com 945 400 toneladas, é a terceira mais importante, após a do leite de vaca e tomate. Contudo, em termos económicos a produção de uvas assume o segundo lugar, demonstrando a sua importância para a economia do País.

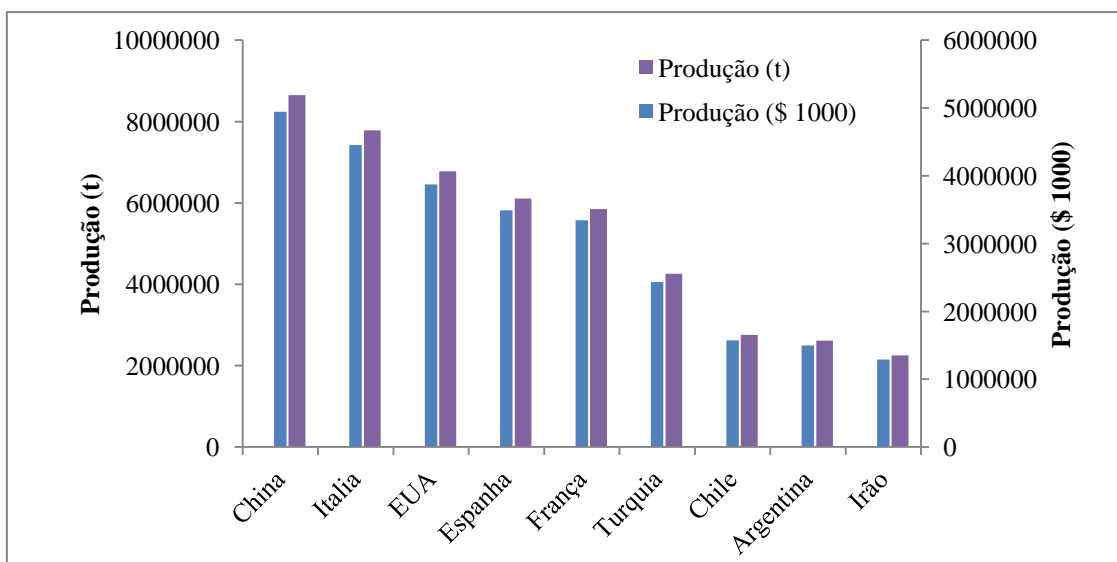


Figura 1.1 - Principais países produtores de uva em 2010, adaptado da FAOSTAT (2010)

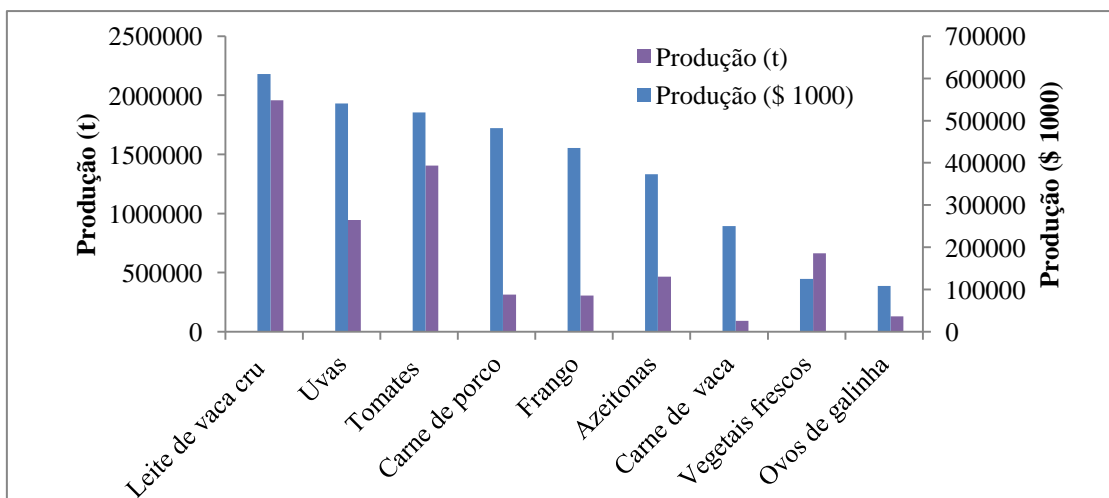


Figura 1.2 – Produção de géneros alimentares em Portugal em 2010, adaptado da FAOSTAT (2010)

Em Portugal, destacam-se várias regiões produtoras de uvas com o intuito de satisfazer a principal indústria associada a este fruto, concretamente a indústria vinícola. Uma dessas regiões é a de Trás-os-Montes, que apesar de não ser tão conhecida como a região do Douro apresenta uma produção de mosto de 98 083 hL. Nesta produção, os vinhos tintos e rosados (que incluem os vinhos de qualidade, regional e de mesa), são os que contribuem mais com 75 291 hL, face aos vinhos brancos cuja produção é de 22 792 hL (INE, 2008). Os vinhos da Região de Trás-os-Montes são, na sua maioria, vinhos de mesa, sendo que a gama de vinhos de qualidade têm ainda pouco expressão.

Em relação à uva, existe um grande número de variedade de castas, cuja qualidade e tipicidade resultam da diversidade e adaptação às várias regiões em que são cultivadas, nomeadamente condições climáticas e geológicas. Concretamente a região de Trás-os-Montes é uma região montanhosa com solos xistosos e com algumas manchas de rochas graníticas. Em relação ao clima este é bastante seco e quente no Verão, enquanto no Inverno é muito frio atingindo valores de temperatura negativos.

As castas são os nomes atribuídos às variantes da planta. Relativamente à vinha, cada uma tem características próprias como a cor, o tipo de bago, a folha e a sua adaptabilidade ao clima e solo. Além disso, a sua maior ou menor suscetibilidade a doenças é também um fator de distinção. Nesse sentido, os produtores cultivam uvas com características distintas e peculiares, tanto em termos de sabor, aroma e cor. Na região de Trás-os-Montes podem ser encontradas castas tintas e brancas, sendo as primeiras as mais comuns. De entre as castas tintas algumas das mais conhecidas são a Touriga Nacional, Trincadeira Preta, Tinto Cão, Aragonês e Touriga Francesa tal como referido pela Comissão Vitivinícola Regional de Trás-os-Montes (Infovini, 2012). Tendo em conta a produção de uvas em Trás-os-Montes e a existência de várias castas nesta região, é de extrema importância, na conjuntura atual, desenvolver novos produtos associados à base de uva e/ou rentabilizar melhor os processos existentes, de forma a tornar esta região mais rica e competitiva nos mercados nacional e internacional.

A globalização dos géneros alimentares tem atingido o setor frutícola, e consequentemente os produtores regionais, em várias vertentes. Mais especificamente o facto de os consumidores terem ao seu dispor frutas de diversos locais do mundo durante todo o ano, faz com que o hábito de comer frutas sazonais e locais, seja menos comum, como outrora. Por outro lado, a maior disponibilidade e variedade de frutas, fez com que o consumidor, em geral, se torne mais exigente e padronize as suas escolhas,

nomeadamente, frutas com calibres uniformes e ótica aparência (sem deformações). Além disso, os produtos regionais vêm os seus preços continuamente desvalorizados em relação aos produtos com elevado conteúdo tecnológico.

De um modo geral, do processo de conversão da uva *in natura* em outros produtos, como por exemplo no vinho, resultam alguns dos constituintes do bago da uva, nomeadamente a grainha. Na Figura 1.3 encontra-se representado esquematicamente um bago de uva.



Figura 1.3 – Bago de uva.

A grainha corresponde a cerca de 5% do peso do fruto (Choi et al., 2009), o que leva à produção de uma grande quantidade deste sub-produto. Nesse sentido, seria de grande utilidade para os produtores encontrar uma solução para valorizar e rentabilizar esse sub-produto. A rentabilização das grainhas de uva poderá passar pela criação de novos produtos, como já ocorre em alguns países, tais como o óleo de grainha de uva. A valorização das grainhas de uva poderá ser feita através do estudo da composição química e atividade antioxidante de óleos extraídos a partir deste sub-produto e posterior associação com os efeitos benéficos para a saúde. Este aspeto assume particular importância nos tempos atuais, uma vez que estamos perante uma sociedade mais informada e preocupada com saúde. Nesse sentido, os produtos com mais propriedades bioativas provavelmente serão os selecionados pelos consumidores, visto haver um maior conhecimento e compreensão dos efeitos benéficos para a saúde.

Por outro lado, a possibilidade de encontrar um novo produto para as uvas, garantiria aos produtores regionais um outro meio alternativo para aumentarem o seu potencial competitivo. É nesse sentido que as geleias podem surgir como uma solução,

visto ser um produto fácil de produzir com longos períodos de conservação, agrega o valor da fruta e permite valorizar os frutos que possivelmente seriam rejeitados pelo consumidor final. Vários trabalhos já foram realizados para caracterizar físico-química e organoleticamente geleias dos mais variados frutos, tais como, a gabirola (Freitas et al., 2008), abacaxi (Granada et al., 2005), jambolão (Lago et al., 2006); manga (Lago-Vanzela et al., 2011), maracujá (Lamante et al., 2005), banana (Lee et al., 2010), acerola e manga (Maciel et al., 2009), entre outros. Contudo, poucos estudos têm abordado as geleias de uva, visto não ser um produto tão comum, sobretudo em Portugal.

Neste sentido, no presente trabalho pretendeu-se encontrar um maior número de soluções para aproveitar a uva na sua totalidade, concretamente as grainhas, e elaborar um novo produto, como as geleias, que permita ultrapassar as perdas associadas à pós-colheita e uma maior valorização deste fruto.

O presente estudo, visou estudar algumas castas tintas portuguesas, com o intuito de poder valorizar a sua qualidade, diversidade e tipicidade. Os objetivos específicos, foram os seguintes:

- Caracterizar e comparar óleos de grainha de diferentes castas de uva nacionais, em relação ao rendimento em gordura e composição em ácidos gordos e vitamina E, bem como à atividade antioxidante;
- Elaborar geleias de uva de diferentes castas de *Vitis vinifera*;
- Proceder à caracterização das geleias de uva em termos físico-químicos e organoléuticos;
- Comparar a atividade antioxidante das geleias com a associada à película das uvas que lhe deram origem de forma a avaliar se o processamento aplicado afetou ou não essas propriedades bioativas.

De forma a apresentar os resultados obtidos, a presente dissertação está dividida em quatro capítulos, nomeadamente:

Capítulo 1 - O presente capítulo, designado por “Introdução geral e objetivos do trabalho”.

Capítulo 2 - Intitula-se “Composição em ácidos gordos e vitamina E de óleos de grainha de uvas de dez castas Portuguesas”. Nesta parte do trabalho, são mencionados os resultados referentes à caracterização em ácidos gordos, vitamina E e atividade antioxidante dos dez óleos de grainha de uvas extraídos.

Capítulo 3 - Apresenta-se com título “Preparação e caracterização físico-química, biológica e organoléptica de geleias de uva”. Neste capítulo descrevem-se as etapas para

a formulação das geleias de uva de sete castas portuguesas e os resultados obtidos na caracterização das mesmas em relação a alguns parâmetros físico-químicos, nomeadamente, pH, humidade, cinzas, graus Brix°, acidez e cor. Também são apresentados os resultados obtidos após a realização de provas organoléticas com um painel de consumidores. Adicionalmente, é ainda referida a atividade antioxidante das geleias de uva em relação à da película das uvas que lhes deu origem para avaliação do efeito do processamento nas propriedades biológicas dos produtos desenvolvidos.

Capítulo 4 - O último capítulo contém uma conclusão geral do presente trabalho.

TOURIGA FRANCESA

TRINCADEIRA PRETA

TINTA CARVALHA

TRINCADEIRA PRETA

TOURIGA FRANCESA

TINTA BARROCA

TINTA CARVALHA

TINTO CÃO

Capítulo 2

Composição em ácidos gordos e vitamina E de óleos
de grainha de uva de dez castas nacionais

(Tradução do trabalho de Fernandes *et al.* (2012), publicado no jornal “*Food Research International*” e apresentado no Anexo I)

Composição em ácidos gordos e vitamina E de óleos de grainha de uvas de dez castas nacionais

Resumo

Com o intuito de aumentar o potencial e rentabilizar as grainhas de uva, as quais são um dos mais importantes resíduos associados à produção vinícola, no presente trabalho foram extraídos e avaliados óleos de grainha de dez castas portuguesas tradicionais em relação ao seu teor de vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis), perfil em ácidos gordos e atividade antioxidante. Os resultados mostraram que os óleos de grainha de uva são uma fonte potencial de γ -tocotrienol (499-1575 mg/kg), α -tocoferol (85,5-244 mg/kg) e α -tocotrienol (69-319 mg/kg), sendo o γ -tocotrienol o mais comum. No que diz respeito à composição dos ácidos gordos, os ácidos linoleico (C18:2), oleico (C18:1), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) foram os predominantes. Os óleos de grainha de uva demonstraram ser uma boa fonte de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) (63,64-73,53%), enquanto os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e saturados (SFA) variaram entre 14,19-21,29 e 11,64-14,94%, respetivamente. Ainda no presente estudo foram obtidos teores interessantes de atividade antioxidante face aos radicais livres de DPPH e ABTS.

Em suma, o presente trabalho demonstrou que as grainhas de uva de castas portuguesas podem ser reutilizadas e os seus óleos incorporados em outros produtos alimentares, visto apresentarem na sua composição compostos com efeitos benéficos para saúde humana.

Palavras-chave: óleos de grainha de uva; tocoferóis; tocotrienóis; ácidos gordos, atividade antioxidante.

2.1. Introdução

A produção de *Vitis vinifera* L. encontra-se disseminada em todo o mundo, correspondendo a sua produção a mais de 68 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2010). Em 2010, Portugal produziu mais de 945 mil toneladas de uvas, sendo uma das culturas mais relevantes em termos de emprego e riqueza. Parte da produção das uvas é destinada ao consumo *in natura*, sendo a restante utilizada para a produção vinícola ou

na elaboração de produtos processados, como sumos, doces, compotas, entre outros. Contudo, no processamento da uva geram-se grandes quantidades de subprodutos, nomeadamente, película, grainhas, bagaço, que em muitos casos, acarretam custos adicionais para as empresas e são uma fonte de contaminação ambiental. Vários autores referem-se muitas vezes às grainhas de uva como desperdício agrícola e industrial (Lutterodt et al., 2011; Luque-Rodríguez et al., 2005; Kim et al., 2008; Freitas et al., 2008). Nesse sentido, alguns produtores procuram minimizar o impacto ambiental associado a esses subprodutos e direcionam os mesmo para a produção de fertilizantes ou de rações de animais.

As grainhas de uva representam cerca de 5% do peso do fruto (Choi et al., 2008). Em termos mundiais mais de 3 milhões de toneladas de grainhas de uva são rejeitadas anualmente e cerca de 47 mil toneladas, no caso particular de Portugal. As grainhas de uva constituem uma proporção importante do bagaço, correspondendo a cerca de 38-52% da matéria seca (Maier et al., 2009). Nesse sentido, é importante encontrar soluções viáveis para o tratamento desse sub-produto, tais como o desenvolvimento de novos produtos.

Os óleos de grainha de uva podem ser uma boa opção, devido aos inúmeros benefícios que a sua composição tem para a saúde, principalmente no que diz respeito à vitamina E e ácidos gordos essenciais, nomeadamente o ácido linoleico. Esse ácido gordo é referido na literatura como um protetor de doenças cardiovasculares (Wijendran & Hayes, 2004), enquanto a vitamina E tem propriedades neuroprotetoras e antitumorais, é capaz de diminuir os níveis de colesterol e tem propriedades antioxidantes (Choi et al., 2009).

Recentemente, alguns estudos indicam que extratos aquosos preparados a partir de grainhas de uva podem ter atividade antibacteriana e antioxidante (Adámez et al., 2012). Além disso, os óleos de grainha de uva surgiram como um produto com potencial para ser utilizado em aplicações farmacêuticas e alimentares (Bail et al., 2008), sendo já extraído na Itália, Espanha e França (Crews et al., 2006). Assim, a possibilidade de reutilização de grainhas de uva é promissora. Por outro lado, o facto de se viver numa sociedade que é confrontada com questões ambientais (problemas de eliminação de resíduos) e económicas (a necessidade de investir em áreas vulneráveis), a recuperação e reutilização de grainhas de uva revelam-se de grande importância (González-Centeno et al., 2010), contribuindo para reduzir os custos de produção, aumentar o rendimento dos produtores e criar novos produtos para consumo humano (Baydar et al., 2006). Do

nosso conhecimento, nenhum estudo foi realizado até agora, que tenha abordado o uso potencial de óleos de grainha de castas de uvas portuguesas.

Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os óleos de grainha de dez variedades de uva nacionais, em relação aos ácidos gordos e vitamina E, bem como em termos de atividade antioxidante, a fim de valorizar este património genético.

2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Amostragem

As uvas foram colhidas em Valpaços, nordeste de Portugal, tendo sido selecionadas dez variedades tintas, nomeadamente: Aragonês, Cornifesto, Marufo, Periquita, Tinta Barroca, Tinta Carvalha, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional e Trincadeira Preta. Após colheita as uvas foram transportadas sob refrigeração e à sua chegada ao laboratório, os frutos foram lavados com água ultra-pura (Milli-Q). Após a secagem com papel macio, as uvas foram pesadas e as grainhas e as películas separadas da polpa. O número de grainhas e respetivas massas foram também determinados, assim como das peles. Posteriormente, as grainhas foram secas a 40 °C.

2.2.2. Extração de óleos de grainha de uva

Para cada casta 5 gramas de grainhas de uvas foram esmagadas num almofariz com um pilão e adicionado sulfato de sódio anidro para remover restos de humidade. A fração lipídica foi obtida por extração de Soxhlet com éter de petróleo durante 24 h. Posteriormente, para remover o solvente colocaram-se os balões num evaporador rotativo. Cada amostra foi extraída em duplicado.

2.2.3. Composição em ácidos gordos

Os ésteres metílicos de ácidos gordos foram obtidos por hidrólise com uma solução metanólica de KOH (11g/L), esterificação com BF_3/MeOH e extracção com *n*-heptano. Os ácidos gordos foram analisados por cromatografia gasosa (Chrompack, modelo CP-9001), com injetor *split/splitless* e amostrador automático (modelo Chrompack CP-9050). A separação dos ácidos gordos foi efetuada numa coluna CP Sil-

88 (Varian) com as dimensões 50 m × 0,25 mm × 0,19 µm, tendo sido utilizado hélio como gás de arraste a uma pressão de 120 kPa. As temperaturas do injetor e do detetor foram de 250 °C e 270 °C, respetivamente. A separação dos ésteres metílicos foi realizada com gradiente de temperatura, entre 140 e 220 °C, tendo sido a deteção realizada com um detetor de ionização de chama (FID). A recolha e o tratamento dos dados foram realizados pelo programa CP Maitre Chromatography Data System, Versão 2,5 (Chrompack International B.V.). A identificação dos picos cromatográficos foi efetuada comparando o tempo de retenção dos picos da amostra com uma mistura padrão de 37 ésteres metílicos de ácidos gordos (Supelco-37 FAME Mix).

2.2.4. Vitamina E

Uma porção lipídica foi diluída em hexano, seguida da adição do padrão interno, tocol (Matreya, EUA). Os tocoferóis ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) e tocotrienóis ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) foram determinados por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) num cromatógrafo da marca Jasco, equipado com uma bomba (Modelo PU-980), uma câmara de mistura HG-980-30 e um injetor automático modelo AS2057 Plus. A deteção foi efetuada por fluorescência (modelo FP2020 Plus), nos comprimentos de onda de 290 nm (excitação) e 330 nm (emissão). A separação dos tocoferóis e dos tocotrienóis foi efectuada numa coluna de sílica de fase normal Supelcosil LC-SI (Supelco), utilizando uma mistura de hexano:dioxano (97:3 v/v) como eluente, à temperatura ambiente. A quantificação foi realizada pelo método do padrão interno. As soluções padrão de tocoferóis e tocotrienóis foram calibradas em função da sua absorvidade molar. A linearidade e a gama de trabalho foram sempre verificadas para cada um dos compostos em análise.

2.2.5. Atividade antioxidante dos óleos de grainha de uva

2.2.5.1. DPPH (Radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

A atividade antioxidante dos óleos de grainha de uva foi determinada pelo ensaio do DPPH (radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), que avalia a eficiência do sequestro dos radicais livres por parte das amostras estudadas. Os óleos foram diluídos em acetato de etilo (1:10) (m:v), tendo 1 mL desta solução sido adicionada a 4 mL de solução de DPPH (1 mM em acetato de etilo), tal como referido por Kalantzakis et al. (2006),

Espín et al. (2000) e Malheiro et al. (2012). Após 30 min à temperatura ambiente, no escuro, a absorvância foi medida a 515 nm. No controlo usou-se acetato de etilo em vez das amostras de óleos de grainha. A atividade antioxidante foi expressa em percentagem do efeito bloqueador, segundo a fórmula representada na Equação 1.

$$\text{Efeito bloqueador (\%)} = \frac{A_{DPPH} - A_{Amostra}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

em que A_{DPPH} corresponde à absorvância da solução de DPPH sem amostra e a $A_{Amostra}$ corresponde à absorvância da solução de DPPH com amostra.

2.2.5.2. ABTS (Radicais Ácido 2,2`Azino-bis (3-etilbenzotiazoline-6- sulfónico)

O método ABTS utilizado baseou-se no descrito por Zulueta et al. (2009) e tem como base a avaliação da capacidade que uma amostra tem de inibir este radical ($ABTS^{\cdot+}$) em comparação a um antioxidante padrão. O radical $ABTS^{\cdot+}$ foi preparado pela reação de 25 mL de solução ABTS (7 mM) com 440 µl de persulfato de potássio (140 mM). Esta mistura foi mantida à temperatura ambiente no escuro durante 12-16 horas, o tempo necessário para a formação do radical. A solução $ABTS^{\cdot+}$ foi diluída com etanol para se obter uma absorvância a 734 nm de 0,700 ($\pm 0,20$). A cada 100 µl de óleo de grainha de uva foram adicionados 2 mL da solução de $ABTS^{\cdot+}$. Após mistura, aguardou-se 6 minutos e fez-se a leitura da absorvância a 734nm. A capacidade antioxidante dos óleos de grainha de uva foi calculada com base na reta de calibração obtida pela medição da absorvância de soluções de Trolox (0,025 - 0,5 mM). Os resultados foram expressos em µmol equivalentes de Trolox por mL de óleo.

2.2.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL), versão 18.0. A normalidade e a homogeneidade da variância foram verificadas pelos testes Shapiro-Wilk e Levene. Como ambos os parâmetros falharam, foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido da comparação múltipla das médias das ordens como descrito em Maroco (2003). Posteriormente, com o intuito de associar as diferentes castas de uva em grupos homogêneos realizou-se uma análise de cluster,

em que o número de clusters retidos foi determinado pelo critério de R-quadrado, tal como descrito por Maroco (2003).

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Caracterização das uvas das dez variedades

As uvas das dez castas estudadas foram caracterizadas em relação às massas dos frutos, películas e grainhas (Tabela 2.1). Para avaliar cada parâmetro representado na Tabela 2.1. foram pesados 10 bagos de uvas, escolhidos aleatoriamente. As massas dos bagos das uvas variaram entre as castas, nomeadamente entre 1,8 e 3,6 g/bago para o Tinto Cão e Aragonês, respetivamente. Ao considerar o intervalo das massas dos bagos, observou-se que as uvas da casta Tinto Cão foram as mais leves (1,3-2,6 g), enquanto as uvas da casta Aragonês as mais pesadas (2,8-4,4 g). Ao ter em conta as percentagens de películas e grainhas, os maiores valores foram obtidos para a casta Tinto Cão. Além disso, ainda se verificou que existem diferenças no número de grainhas entre castas, variando entre 1,5 para a Trincadeira Preta e 3,3 para o Tinto Cão. De um modo geral, observou-se que as uvas apresentaram entre 1 a 3-4 grainhas, no entanto, as castas que tiveram um maior número de grainhas (ex. Tinto Cão e Touriga Nacional) não apresentaram necessariamente as massas mais elevadas de grainhas.

Tabela 2.1 – Alguns parâmetros estudados em uvas de dez castas

Castas	Massa da uva (g)	Massa da película (g)	% Película	Número de grainhas	Massa das grainhas (g)	% Grainhas
Tinto Cão	1,8±0,3 (1,3-2,6)	0,40±0,07 (0,26-0,55)	22,4±3,4 (13,3-30,2)	3,3±0,7 (2,0-4,0)	0,13±0,04 (0,06-0,18)	7,4±1,3 (3,9-9,4)
Aragonês	3,6±0,5 (2,8-4,4)	0,56±0,08 (0,42-0,73)	15,5±2,4 (11,6-20,5)	2,4±0,8 (1,0-4,0)	0,09±0,03 (0,05-0,18)	2,5±0,7 (1,6-4,2)
Touriga Francesa	2,9±0,6 (2,1-4,2)	0,37±0,09 (0,26-0,56)	13,2±3,8 (6,6-21,6)	2,3±0,9 (1,0-4,0)	0,10±0,03 (0,05-0,17)	3,5±0,7 (2,2-4,7)
Marufo	3,2±0,4 (2,4-4,0)	0,41±0,06 (0,30-0,52)	12,7±2,2 (8,4-16,0)	1,6±0,9 (1,0-4,0)	0,08±0,09 (0,00-0,43)	2,4±2,7 (1,1-13,4)
Touriga Nacional	2,3±0,3 (1,6-2,9)	0,29±0,08 (0,10-0,44)	13,0±3,1 (4,8-17,9)	3,1±0,8 (2,0-5,0)	0,11±0,03 (0,07-0,17)	5,0±1,0 (3,3-6,9)
Tinta Carvalha	2,8±0,4 (2,1-3,8)	0,44±0,10 (0,25-0,59)	16,1±4,0 (9,3-22,9)	2,2±0,7 (1,0-3,0)	0,09±0,03 (0,04-0,13)	3,1±0,9 (1,7-4,9)
Cornifesto	1,9±0,2 (1,5-2,3)	0,37±0,06 (0,25-0,50)	19,4±2,5 (15,6-24,4)	2,2±0,7 (1,0-3,0)	0,09±0,03 (0,04-0,14)	4,7±1,3 (2,2-7,1)
Trincadeira Preta	2,2±0,5 (1,2-3,1)	0,25±0,07 (0,15-0,39)	11,3±3,4 (7,4-22,9)	1,5±0,8 (1,0-3,0)	0,04±0,04 (0,01-0,19)	2,0±2,0 (0,8-10,0)
Periquita	3,1±0,4 (2,3-4,2)	0,34±0,07 (0,21-0,45)	11,2±1,8 (7,5-14,8)	2,2±0,8 (1,0-4,0)	0,15±0,19 (0,04-0,75)	5,1±7,0 (1,6-27,6)
Tinta Barroca	2,8±0,5 (2,3-4,2)	0,56±0,13 (0,21-0,90)	20,6±5,8 (7,5-32,3)	2,2±0,7 (1,0-3,0)	0,08±0,02 (0,04-0,13)	2,9±0,6 (1,6-4,0)
Média	2,67	0,40	16,81	2,30	0,10	3,87

2.3.2. Teor de óleo de grainha de uva

Os teores de óleo, expressos em percentagem de óleo por matéria seca, estão descritos na Tabela 2.2. O maior teor de gordura foi obtido para a Touriga Francesa (12,40%), seguida do Tinto Cão (12,06%), valores três vezes superiores a os determinados para a Marufo (3,95%). Tangolar et al. (2009) refere valores superiores aos determinados no presente estudo, nomeadamente entre 10,45 e 16,73% para castas cultivadas numa vinha experimental da Universidade de Cukurova (Turquia). Pelo contrário, os resultados do presente trabalho foram semelhantes aos obtidos por Beveridge et al. (2005), o qual referiu ter determinado um teor máximo de óleo, extraído com éter de petróleo, de 11,17% para a casta Cabernet Sauvignon e um mínimo de 6,64% para a casta Gamay.

No presente trabalho, salienta-se que todas as castas de uva foram amostradas no mesmo campo experimental, onde todas as plantas foram cultivadas sob as mesmas condições agronómicas e ambientais. Nesse contexto, as variações observadas foram reguladas apenas por fatores genéticos.

2.3.3. Composição em ácidos gordos

Os teores de ácidos gordos dos dez óleos extraídos de grainha de uva encontram-se indicados na Tabela 2.2. A fração lipídica das grainhas de uva é constituída principalmente por ácido linoleico (C18:2) (63,0-73,1%), seguido de ácido oleico (C18:1), ácido palmítico (C16:0) e ácido esteárico (C18:0). Para além destes ácidos gordos, outros foram identificados e quantificados, nomeadamente os ácidos: mirístico (C14:0), heptadecanóico (C17:0), araquídico (C20:0), beénico (C22:0), palmitoleico (C16:1), heptadecenóico (C17:1), eicosenóico (C20:1), alfa-linolénico (C18:3) e eicosadienóico (C20:2). Refira-se também que os ácidos gordos *trans* foram detetados em pequenas quantidades, o que é desejável.

Os resultados do presente trabalho foram semelhantes aos relatados por outros autores que referem o ácido linoleico como sendo o ácido gordo mais abundante em óleos de grainha de uva. Tangolar et al. (2009) obtiveram valores de ácido linoleico entre 62,5 e 69,24% para os óleos de grainha de uva das castas Alicante Bouschet e Muscat of Hamburgo, respetivamente; Lutterodt et al. (2011) entre 66,0 (Rubi Red) e 75,3% (Concord), Beveridge et al. (2005) entre 66,76 (Malbec) e 73,61% (Merlot) e

Pardo et al. (2009), entre 60,94 (Tintorera Garnacha) e 69,16% (Petit Verdot). O elevado teor de ácido linoleico em óleos de grainha de uva é particularmente interessante, uma vez que se trata de um dos principais ácidos gordos que tem a capacidade de regular o metabolismo da lipoproteína de baixa densidade (LDL)-C, através da diminuição da sua produção e favorecendo a sua depuração (Wijendran et al., 2004).

Ao considerar a classificação geral dos ácidos gordos (Tabela 2.2), verificou-se que os óleos de grainha de uva têm a seguinte sequência: PUFA > MUFA > SFA, que está de acordo com outros estudos (Lutterodt et al., 2011; Luque.-Rodríguez et al., 2005; Tangolar et al., 2009; Matthäus, 2008; Pardo et al., 2009; Beveridge et al., 2005; Labuschagne et al., 2008). Ao analisar o perfil lipídico das dez castas (Tabela 2.2), algumas diferenças foram observadas entre elas. As castas com maiores teores de SFA e MUFA são a Tinta Barroca seguida da Touriga Francesa. Os maiores valores de PUFA foram determinados para a Marufo, Aragonês e Tinta Carvalha, seguidas pelo Tinto Cão, Periquita e Trincadeira Preta. Os intervalos de valores determinados para as dez castas portuguesas estudadas em relação aos SFA (11,64-14,94%), MUFA (14,19-21,29%) e PUFA (63,64 -73,53%) foram semelhantes aos relatados em outros estudos. Lutterodt et al. (2011) obtiveram valores de SFA entre 9,66-12,6%, MUFA 14,5-22,2% e PUFA 66,3-75,8%, bem como Tangolar et al. (2009) que determinaram valores de SFA entre 12,01-15,10%, MUFA 18,19-23,29% e PUFA 62,88-69,49%, valores idênticos aos determinados no presente trabalho para as dez castas tradicionais portuguesas.

O rácio PUFA/SFA variou entre 4,26 (Tinta Barroca) e 6,22 (Aragonês). Esta relação está muito acima do mínimo recomendado pelo HMSO (1994) que é igual a 0,45. Os nossos rácios determinados no presente trabalho foram semelhantes ao valor máximo de 5,64 relatado por Tangolar et al. (2009) para as uvas das castas Muscat Hamburgo e Salt Creek. No nosso estudo, os ácidos gordos insaturados (MUFA + PUFA) representaram 84,93% (Tinta Barroca) e 89,03% (Cornifesto) dos ácidos gordos totais. Tendo em conta a elevada proporção de ácidos gordos insaturados, os óleos de grainha das dez castas estudadas no presente trabalho são altamente recomendados para o consumo humano, apresentando um perfil de ácidos gordos mais favorável do que outros óleos vegetais. Além disso, no que diz respeito aos ácidos gordos *trans*, os quais podem aumentar o colesterol LDL e baixar as concentrações do colesterol HDL, os óleos analisados apresentaram percentagens muito baixas destes compostos.

Tabela 2.2 – Teor em óleo (% , massa/massa de matéria seca) de grainhas de uva e composição de ácidos gordos dos dez óleos de grainha de uva estudados no presente trabalho.

	Castas de uvas									
	Tinto Cão	Aragonês	Touriga Francesa	Marufo	Touriga Nacional	Tinta Carvalha	Cornifesto	Trincadeira Preta	Periquita	Tinta Barroca
Teor em óleo (% , v/m matéria seca)	12,06±0,36	10,78±0,05	12,40±0,01	3,95±0,02	11,12±0,88	8,49±0,36	7,79±0,42	9,89±0,92	7,24±0,58	6,41±0,65
C14: 0	0,06 a (0,05-0,09)	0,06 a (0,05-0,06)	0,13 b (0,09-0,18)	0,16 b (0,14-0,18)	0,07 a,c (0,06-0,08)	0,08 c,d (0,08-0,10)	0,07 a (0,06-0,08)	0,10 b,d (0,09-0,10)	0,07 a,c (0,05-0,09)	0,12 b (0,10-0,14)
C16: 0	7,00 a (6,53-7,44)	7,28 a,b (7,23-7,43)	7,49 c,d (7,43-8,59)	7,01 a,e (6,96-7,06)	6,99 a (6,86-7,33)	6,71 a (6,69-6,80)	6,71 f (6,69-6,80)	7,34 b,d (7,30-7,38)	6,17 f (6,09-6,25)	8,50 c (8,00-9,04)
C16:1	0,15 a,b,c (0,14-0,15)	0,13 b (0,11-0,14)	0,20 d,e (0,20-0,22)	0,22 e (0,21-0,24)	0,18 d,f (0,17-0,20)	0,17 a,f (0,14-0,19)	0,14 a,b (0,09-0,17)	0,17 f (0,14-0,22)	0,18 c,f (0,16-0,19)	0,24 e (0,20-0,30)
C17: 0	0,07 a (0,06-0,08)	0,07 a (0,06-0,08)	0,09 b,c (0,08-0,09)	0,14 b (0,14-0,14)	0,08 a,c,d (0,08-0,08)	0,07 a (0,06-0,08)	0,07 a,e (0,03-0,09)	0,08 a,e (0,07-0,08)	0,08 b,d (0,08-0,09)	0,10 b (0,08-0,11)
C17:1	0,04 a (0,04-0,04)	0,02 a (0,00-0,004)	0,04 a (0,04-0,06)	tr	0,04 a (0,03-0,05)	0,03 a (0,03-0,004)	0,03 a (0,03-0,04)	0,03 a (0,03-0,05)	0,01 a (0,00-0,04)	0,04 a (0,03-0,05)
C18: 0	4,85 a,b (4,16-5,88)	4,09 c (3,95-4,19)	4,89 b,d (4,81-4,96)	4,58 a,c (4,48-4,68)	4,72 a,d (4,68-4,74)	4,65 a,c (4,62-4,69)	4,72 a,d (4,60-5,01)	4,78 a,b (4,70-4,85)	5,04 b,e (5,00-5,08)	5,91 e (5,13-6,74)
C18: 1	16,1 a (14,6-17,1)	14,8 b,c (14,6-15,3)	20,8 d (20,5-20,9)	13,7 (13,6-13,99c)	20,3 d (20,1-20,4)	15,2 a,b (14,9-15,49)	18,7 e (18,3-18,7)	17,1 f (16,0-17,3)	17,1 f (17,0-17,2)	20,8 d (19,8-22,0)
C18:1t	0,04 a,b,c (0,04-0,05)	0,05 a,c (0,00-0,15)	tr	0,16 (0,15-0,18) a,b	tr	tr	0,00 c,d (0,00-0,09)	0,01 c,e (0,00-0,02)	0,01 d,c (0,00-0,02)	0,04 a,c (0,00-0,10)
C18: 2	70,8 a (68,7-72,4)	72,3 b (71,8-72,6)	65,3 c,d (64,6-65,5)	73,1 b (72,8-73,3)	66,6 c (66,0-66,8)	71,9 b (71,8-72,3)	69,4 e (68,4-69,5)	69,7 a,e (69,1-70,69)	70,2 a,e (70,1-70,3)	63,0 d (60,4-65,4)
C18: 2t	0,12 a (0,11-0,13)	0,13 a (0,11-0,14)	0,06 b,d (0,00-0,09)	tr	0,05 b (0,04-0,05)	0,07 b,e (0,07-0,07)	0,08 b,c,e (0,05-0,10)	0,08 a,d,e (0,07-0,11)	0,08 a,c,d,e (0,07-0,3)	0,16 a,c (0,08-0,25)
C18: 3	0,47 a,b (0,39-0,48)	0,51 a (0,47-0,55)	0,45 b,c (0,44-0,48)	0,43 b,d,e (0,40-0,46)	0,46 a,b (0,46-0,48)	0,47 a,c,d (0,45-0,51)	0,42 b,d,g (0,39-0,51)	0,36 e,g,h (0,33-0,45)	0,49 a (0,50-0,50)	0,43 b,h (0,42-0,45)
C20: 0	0,23 a,b (0,21-0,25)	0,22 a,b,c (0,21-0,25)	0,20 d,e (0,16-0,23)	0,27 f (0,27-0,28)	0,18 d (0,18-0,19)	0,20 c,d (0,18-0,249)	0,21 a,b,c,e (0,21-0,24)	0,22 a,c,e (0,20-0,22)	0,24 b,f (0,22-0,26)	0,26 f (0,25-0,32)
C 20:1	0,17 a,b,c (0,16-0,20)	0,19 a (0,18-0,20)	0,18 a,b (0,17-0,22)	0,11 (0,11-0,12) c	0,22 d (0,20-0,24)	0,20 e,d (0,20-0,24)	0,22 d (0,21-0,24)	0,19 a (0,18-0,20)	0,19 a,e (0,18-0,20)	0,17 b,c (0,16-0,17)
C20: 2n6	0,05 a (0,05-0,06)	0,05 a,b,c (0,04-0,06)	tr	tr	0,05 a,b (0,04-0,06)	0,04 a,c (0,04-0,06)	0,04 b,c,f,g,h (0,04-0,05)	0,05 a,b,c,d (0,04-0,07)	0,04 b,c,e,f,g,h (0,03-0,05)	0,05 a,h (0,04-0,07)5
C22: 0	0,04 a,b,c (0,00-0,12)	0,07 b,d (0,05-0,12)	0,06 a,b (0,06-0,07)	tr	0,06 a,b,f (0,06-0,07)	0,05 a,d,c (0,05-0,05)	0,09 f (0,06-0,09)	0,05 a,b,f,g (0,05-0,08)	0,04 c,g (0,03-0,05)	0,05 b,d,f,g (0,05-0,08)
Total SFA	12,25	11,73	12,86	12,16	12,10	11,76	11,87	12,57	11,64	14,94
Total MUFA	16,50	15,19	21,22	14,19	20,74	15,60	19,09	17,50	17,49	21,29
Total PUFA	71,44	72,99	65,81	73,53	67,16	72,48	69,94	70,19	70,81	63,64
PUFA/SFA	5,83	6,22	5,12	6,05	5,55	6,16	5,89	5,58	6,08	4,26

Tr- quantidades vestigiais

Posteriormente, realizou-se uma análise de clusters de forma a agrupar as diferentes castas de uva de acordo com a composição em ácidos gordos dos óleos das suas grainhas (Figura 2.1). Quatro grupos foram detetados com um R^2 de 0,72. O primeiro grupo incluiu sete castas, concretamente o Tinto Cão, Tinta Carvalha, Periquita, Aragonês, Touriga Nacional, Cornifesto e Trincadeira Preta, uma vez que a composição em ácidos gordos foi semelhante entre elas. O segundo e terceiro clusters incluíram a Touriga Francesa e Tinta Barroca, respetivamente, uma vez que foram as castas que apresentaram os maiores valores de SFA e MUFA. No entanto, a Tinta Barroca apresentou um maior teor de SFA do que a Touriga Francesa, enquanto em relação aos MUFA os valores foram bastante semelhantes. Finalmente, o quarto cluster incluiu a casta Marufo por ter apresentado os maiores teores de PUFA e os valores mais baixos de MUFA.

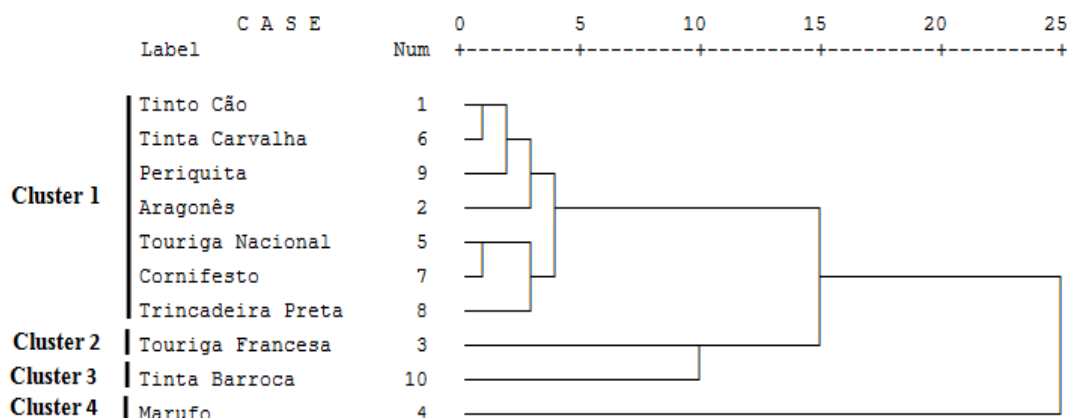


Figura 2.1- Dendrograma de dez óleos de grainha de uva tendo em conta o seu perfil lipídico.

2.3.4. Composição em vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis)

Nos óleos de grainha de uva detetaram-se sete picos cromatográficos, relativos a tocoferóis e tocotrienóis. A Figura 2.2 mostra um cromatograma obtido para o óleo de grainha de uva da casta Aragonês, onde se pode verificar que a resolução foi bastante boa.

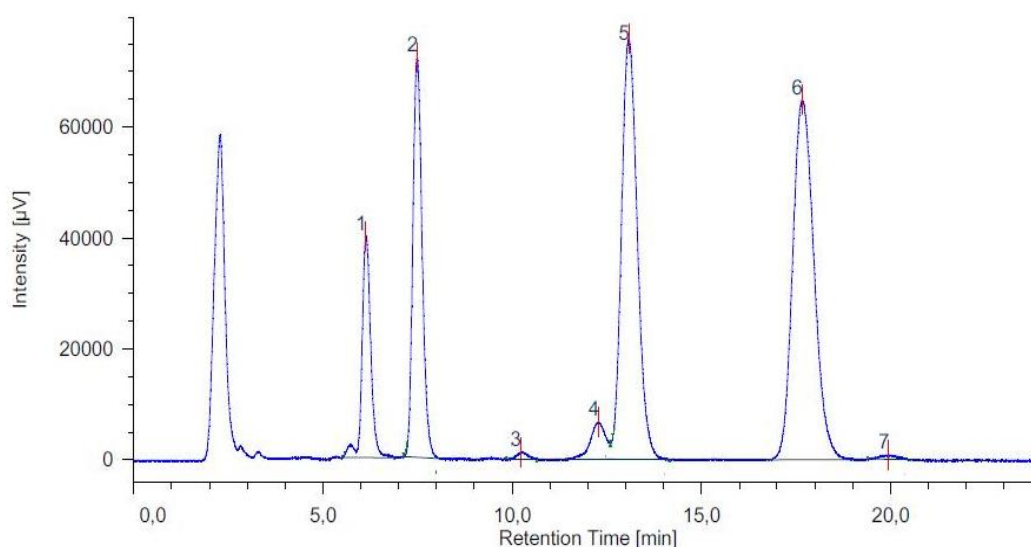


Figura 2.2 - Cromatograma da vitamina E obtido para o óleo de grainha de uva da casta Aragônes. Picos: 1, α -tocoferol; 2, α -tocotrienol; 3, γ -tocoferol; 4, β -tocotrienol; 5, γ -tocotrienol; 6, padrão interno; 7, δ -tocotrienol.

A composição em vitamina E dos óleos de grainha de uva encontra-se descrita na Tabela 2.3. Em quase todos os óleos de grainha de uva foram determinados sete compostos, incluindo três tocoferóis (α -, γ -, δ -) e quatro tocotrienóis (α -, β -, γ -, δ -). Todos os óleos de grainha apresentaram teores de tocotrienóis superiores aos dos tocoferóis. O γ -tocotrienol foi o mais abundante, seguido pelo α -tocotrienol e α -tocoferol. O β -tocoferol não foi detectado em qualquer um dos óleos de grainha, ao passo que δ -tocoferol foi detectado apenas em cinco variedades em pequenas quantidades, nomeadamente, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional, Cornifesto e Periquita. O óleo de grainha da casta Marufo foi o que apresentou o maior valor global de vitamina E. O valor máximo obtido no presente trabalho para o α -tocoferol foi semelhante ao descrito por Crews et al. (2006) para os óleos de grainha de uvas francesas (229 mg/kg). Teores inferiores foram determinados por estes autores em castas italianas (160 mg/kg) e espanholas (75 mg/kg). Crews et al. (2006) também observaram que o γ -tocotrienol foi o composto predominante, o que está em conformidade com o relatado no presente estudo.

Em relação ao teor total de tocoferóis e tocotrienóis (Tabela 3), os valores variaram entre 749 e 2192 mg/kg de óleo, os quais são superiores aos descritos no

Codex Stan 210-1999 para óleos de grãinha de uva (240-410 mg/kg) (Codex Alimentarius, 1999).

Tendo em conta os valores obtidos para os dois principais tocoferóis (α -, γ -tocoferol) e tocotrienóis (α -, γ -tocotrienol) (Figura 3), uma maior variabilidade entre as castas foi observada para o α -tocoferol e γ -tocotrienol. O γ -tocoferol apresentou concentrações inferiores em comparação com os outros três tocóis apresentando o Tinto Cão o maior valor. Os níveis mais elevados de α -tocoferol e α -, γ -tocotrienol foram observados para a variedade Marufo.

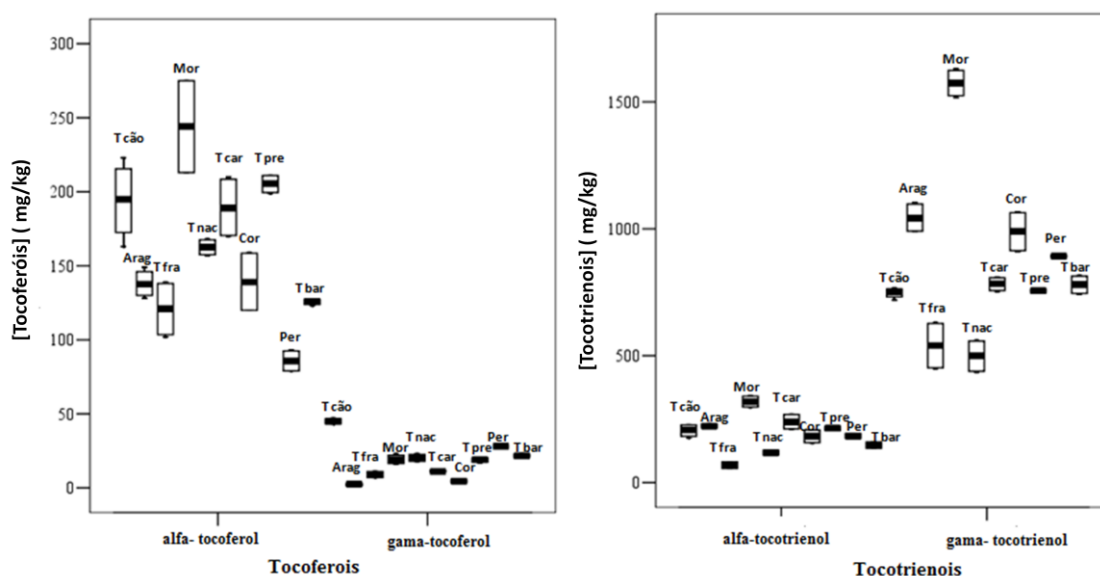


Figura 2.3- Tocoferóis e tocotrienóis determinados em dez óleos de grainha de uva, designadamente: T cão – Tinto Cão; Arag - Aragonês; T fra - Touriga Francesa; Mor - Marufo; T nac - Touriga Nacional; T car - Tinta Carvalha; Cor - Cornifesto; T pre – Trincadeira Preta; Per – Periquita, T bar - Tinta Barroca.

Tabela 2.3- Composição em tocoferóis e tocotrienóis (mg/kg de óleo) de dez óleos de grainha de uva.

	Tinto Cão	Aragônes	Touriga Francesa	Marufo	Touriga Nacional	Tinta Carvalha	Cornifesto	Trincadeira Preta	Periquita	Tinta Barroca
Tocoferóis (1)										
<i>α</i> -tocoferol	195 (116-223) a	138(128-149) b	121 (102-139) b	244(123-275) c	162 (157-168) d	189(170-210) a	139(120-159) b	205(199-211) a,c	85,5 (70,0-93,0) e	126 (123-127) b
<i>β</i> - tocoferol	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>γ</i> - tocoferol	45,0 (43,0-47-0) a	2,50(3,00-2,00) b	9,00(7,00-11,0) c	19,0(16,0-23,0) d	20,0 (18,0-23,0) d,f	11,0 (11,0-12,0) c	4,50(4,00-5,00) b	19,0 (17,0-20,0) d	28,0(28,0-28,0) e	21,5(21,0-23,0) f
<i>δ</i> - tocoferol	1,00(1,00-3,00) a	tr	0,50(0,00-1,00) c	tr	1,00(1,00-2,00) a	nd	1,00(1,00-2,00) a	tr	0,50 (0,00-1,00) c	nd
Tocotrienóis (2)										
<i>α</i> -tocotrienol	208(176-227) a	222(216-232) a	69(56,0-82,0) b	319(297-341) c	118(110-127) b,e	240,(212-208) a	183 (157-208) d	214(209-219) a	183 (175-193) d	147(136-160) d,e
<i>β</i> - tocotrienol	7,00(1,00-7,00) a	23,0(22,0-25,0) c	4,00(1,00-5,00) a	17,5(13,0-21,00) d	8,00 (7,00-9,00) e	14,5 (12,0-15,0) f	16,0 (15,0-17,0) d	11,5(10,0-12,0) g	12,5(12,0-13,0) f,g	7,50 (7,00-8,00) b,e
<i>γ</i> - tocotrienol	751(719-766) a	1041(991-1103) b,c	540(449-630) d	1575(1517-1630) c	499(436-560) d	783 (753-808) a	989(910-1067) b,e	756(751-760) a	891(886-898) e	780(742-816) a
<i>δ</i> - tocotrienol	8,00 (8,00-10,0) a	9,00(8,00-10,0) a,b	6,00(6,00-7,00) c	17,5(17,0-19,0) d	9,50(9,00-12,0) b,e	10,0(10,0-11,0) e	17,5(16,0-18,0) d	10,0(9,00-12,0) e	13,0 (9,00-12,0) f	12,5(11,0-14,0) f
Total (mg/kg) (1+2)	1215	1436	749	2192	818	1247	1333	1216	1212	1094
Atividade Vitamin E ^a (expressa em equivalentes de <i>α</i> -tocoferol)	269,77	216,41	148,20	358,23	204,80	270,65	205,05	279,24	152,69	180,42

nd - não detectado; tr - quantidades vestigiais

^a Os fatores de conversão para a atividade de vitamina E foram os seguintes: *α*-tocoferol × 1,00; *β*-tocoferol × 0,40; *γ*-tocoferol × 0,10; *δ*-tocoferol × 0,01; *α*-tocotrienol × 0,30; *β*-tocotrienol × 0,05; e *γ*-tocotrienol × 0,01 (McLaughlin and Weihrauch, 1979).

A Tabela 2.3 também indica que os óleos de grainha de uva das dez variedades estudadas neste trabalho são uma excelente fonte de vitamina E (148 a 358 equivalentes de α -tocoferol). A inclusão de 10 g de óleo de grainha da casta Touriga Francesa ou de 4,2 g de Marufo na dieta humana por dia vai fornecer 10% do valor recomendado (*Recommended Dietary Allowances*, RDA) de vitamina E para adultos. A RDA para homens e mulheres é de 15 mg ou 35 mmol/dia de α -tocoferol (National Research Council, 1989).

A vitamina E traz vários benefícios para a saúde, uma vez que se trata de um importante antioxidante lipossolúvel. Assim, é capaz de proteger as células do corpo humano dos danos causados pelos radicais livres. Nesse sentido, os óleos de grainha de uva das dez castas portuguesas podem ser usados para retardar o processo de envelhecimento do organismo e para prevenir a ocorrência de algumas doenças crônicas.

Na Figura 2.4 está representado o dendrograma em relação à vitamina E, onde foram detetados quatro clusters com um R-quadrado igual a 0,91, valor que explica uma percentagem significativa da variabilidade total. O primeiro cluster identificado foi constituído por seis castas de uva, concretamente, a Tinta Carvalha, Trincadeira Preta, Periquita, Tinta Barroca, Aragonês e Cornifesto, porque todos os óleos dessas castas apresentaram um conteúdo semelhante em tocóis. A Touriga Francesa e a Touriga Nacional foram incluídas no segundo cluster porque ambas as castas apresentaram um menor teor em α - e γ -tocotrienol (Figura 2.4). O óleo de grainha de uva da casta Tinto Cão foi incluído no terceiro cluster, devido ao seu conteúdo elevado em γ -tocoferol (45,0 mg/kg).

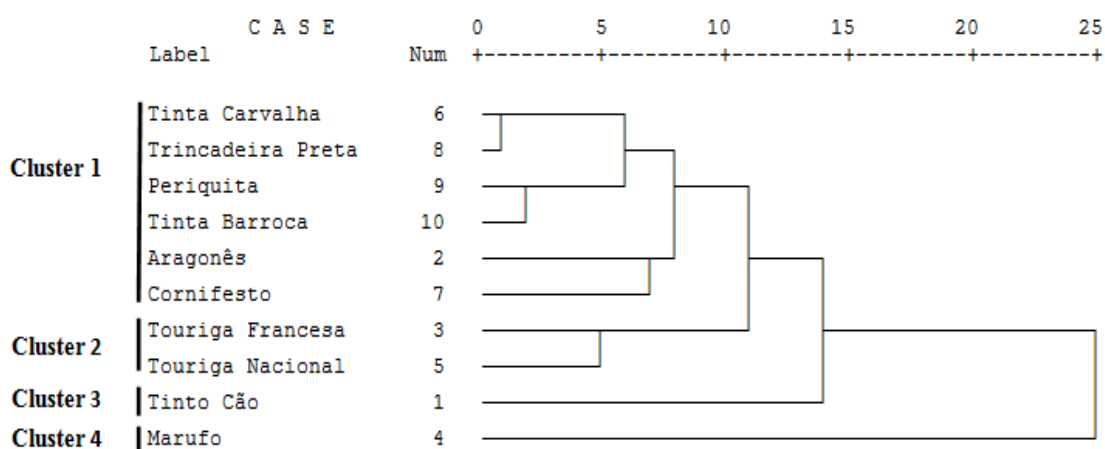


Figura 2.4- Dendrograma de dez óleos de grainha de uva em relação à vitamina E.

O último cluster foi formado pela casta Marufo, uma vez que esta apresentou os teores mais elevados de γ -tocotrienol, α -tocotrienol, α -tocoferol, β -tocotrienol e δ -tocotrienol (Tabela 2.3 e Figura 2.4).

2.3.5. Atividade antioxidante

Para caracterizar o potencial antioxidante dos óleos de grainha das dez castas de uva utilizaram-se os métodos DPPH e ABTS, cujos resultados encontram-se descritos na Tabela 2.4.

Em relação ao método DPPH, determinaram-se valores entre 38,68 e 69,89%, para a concentração de 100 g de óleo/L. A casta Trincadeira Preta foi aquela que apresentou a menor capacidade de sequestrar os radicais DPPH, ao contrário da Cornifesto que apresentou a maior atividade antioxidante.

Em relação aos valores da capacidade antioxidante dos óleos de grainha de uva obtidos pelo método ABTS, as diferentes castas apresentaram resultados bastantes semelhantes entre si, variando entre 0,334 e 0,489 μmol equivalentes de Trolox/mL de óleo. A casta Tinta Barroca foi a que apresentou a menor capacidade antioxidante em relação ao sequestro dos radicais ABTS, sendo as castas Cornifesto Aragonês e Trincadeira Preta aquelas que apresentaram as maiores propriedades bioativas em termos de sequestro dos radicais ABTS.

Tabela 2.4 – Actividade antioxidante dos dez óleos de grainha de uva estudados no presente trabalho.

CASTAS	ABTS (μmol eq Trolox/ mL óleo)	DPPH Efeito bloqueador (%)
Tinto Cão	0,477 \pm 0,001	65,4 \pm 0,1
Aragonês	0,489 \pm 0,001	59,4 \pm 0,5
Touriga Francesa	0,486 \pm 0,001	50,7 \pm 0,5
Marufo	0,482 \pm 0,001	67,8 \pm 0,2
Touriga Nacional	0,391 \pm 0,001	56,2 \pm 0,5
Tinta Carvalha	0,480 \pm 0,001	51,5 \pm 0,1
Cornifesto	0,489 \pm 0,001	69,9 \pm 0,7
Trincadeira Preta	0,489 \pm 0,001	38,7 \pm 0,1
Periquita	0,483 \pm 0,001	50,7 \pm 0,2
Tinta Barroca	0,334 \pm 0,001	53,4 \pm 0,1

2.4. Conclusões

O presente estudo demonstrou que os dez óleos de grainha de uva extraídos a partir de castas portuguesas são uma boa fonte de vitamina E, apresentam um perfil interessante de ácidos gordos e têm potencial antioxidante. As quantidades significativas de tocoferóis e ácido linoleico, determinadas nesses óleos podem contribuir para que surjam novas aplicações para os mesmos. Verificou-se no presente trabalho que os óleos de grainha de uva têm compostos com efeitos benéficos para a saúde, permitindo a valorização de um sub-produto muito comum e geralmente menos prezado em Portugal. Além disso, como as diversas castas originaram óleos de grainha de uva com composições diversas, diferentes tipos de óleos podem ser produzidos, o que permitirá diversificar a produção desses óleos que podem ser desenvolvidos a partir desse sub-produto.



Capítulo 3

Preparação e caracterização físico-química, biológica e organolética de geleias de uva

(Tradução do trabalho de Fernandes *et al.* (2012) que foi submetido)

Preparação e caracterização físico-química, biológica e organolética de geleias de uva

Resumo

A região Nordeste de Portugal é conhecida por apresentar uma elevada produção de uvas (*Vitis vinifera* L.). Nesse sentido é de extrema importância valorizar este fruto, através da criação de novos produtos que possam acrescentar algum valor competitivo no mercado nacional e internacional.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo formular geleias de uva de sete castas tintas portuguesas e de seguida caracterizá-las em relação a parâmetros físico-químicos e atividade antioxidante. Paralelamente, também se pretendeu analisar, em termos organoléticos, a aceitação das geleias através de um painel de consumidores.

Os resultados indicaram que as geleias de uva confeccionadas apresentaram valores de pH, teores de humidade e cor diferentes entre as castas utilizadas. Em relação à acidez também se verificaram diferenças significativas entre elas, variando entre 0,72 e 1,01 g de ácido tartárico/100 g de amostra, para as castas Tinta Barroca e Touriga Nacional, respetivamente. No que respeita aos teores de cinza, estes variaram entre 0,40 e 0,69% para as castas Cornifesto e Marufo, respetivamente. Ao analisar a atividade antioxidante das películas de uva e das geleias, as primeiras revelaram maior poder antioxidante, tal como esperado. Tanto para as películas como para as geleias, detetaram-se diferenças entre castas. As geleias da casta Tinta Carvalha foram as que apresentaram maior atividade antioxidante. A análise organolética demonstrou que houve uma boa aceitação por parte dos consumidores. Contudo, não se detetaram diferenças significativas entre as sete geleias de uva para a maioria dos parâmetros avaliados, exceto na cor.

Em suma, as geleias de uva poderão surgir como um produto que agrega as propriedades bioativas da uva, com diferentes características físico-químicas resultantes da tipicidade de cada casta, podendo ir de encontro aos gostos de um maior número de consumidores.

Palavras-chave: geleias de uva; película de uva; análises físico-químicas; atividade antioxidante; análise organolética.

3.1. Introdução

A região do Nordeste de Portugal é uma zona conhecida pela elevada produção de uvas (*Vitis vinifera* L.) de várias castas. A qualidade e tipicidade dessas castas resultam da diversidade e adaptação às várias regiões em que são cultivadas. Assim, o conhecimento, investimento e preservação dessas castas podem contribuir para o desenvolvimento de produtos diferenciados que, com garantia de qualidade, são uma grande oportunidade para o aumento da competitividade no mercado.

Cada vez mais o consumidor procura produtos naturais e saudáveis. A busca de produtos ricos em antioxidantes é um bom exemplo disso. A uva vai de encontro a essas exigências, uma vez que apresenta elevado potencial antioxidante, sendo parte desse poder associado à película da uva (Bekhit et al., 2011; Katalinic et al., 2010; Poudel et al., 2008). Vários estudos mencionam que a película da uva é rica em compostos fenólicos, cujo perfil varia de acordo com a casta, estágio de maturação e origem do fruto. Nesse sentido, diferentes castas de uva podem apresentar composição química distinta que conseqüentemente poderá influenciar o seu potencial antioxidante, tanto na uva *in natura* como em produtos derivados.

A produção de geleias é um bom exemplo da conjugação do valor da fruta com a obtenção de um produto fácil de produzir e consumir, com períodos de conservação longos e que permite valorizar frutos geralmente rejeitados pelo consumidor, tais como bagas soltas, defeituosas e de pequeno calibre. Segundo o Decreto de Lei nº 230/2003 de 27 de Setembro, entende-se por geleia um produto, suficientemente gelificado, resultante da mistura de açúcares e sumo e/ou extrato aquoso de um ou mais tipos de frutos.

Ao contrário de outras geleias de outros frutos, do nosso conhecimento poucos estudos têm sido realizados até ao momento sobre geleias de uva. Os existentes têm abordado o efeito do uso de diferentes agentes geleificantes (Gaspar et al., 1998), a atividade enzimática, designadamente da peroxidase e polifenoloxidase (Freitas et al., 2008) e a atividade antioxidante (Falcão et al., 2007) de duas geleias produzidas a partir de uvas da *V. labrusca* e da *V. vinifera*.

No presente trabalho pretendeu-se elaborar sete geleias de uva de diferentes castas de *V. vinifera* e caracterizar as mesmas em termos físico-químicos e de atividade antioxidante. Em simultâneo, pretendeu-se comparar a actividade antioxidante das geleias com a associada à película das uvas que lhe deram origem de forma a avaliar se

o processamento realizado afetou ou não essas propriedades bioativas. Adicionalmente, pretendeu-se avaliar a aceitação das geleias produzidas através de um painel de consumidores.

3.2. Materiais e Métodos

3.2.1. Amostragem

As uvas foram colhidas na região de Valpaços (Nordeste de Portugal), tendo sido selecionadas sete castas tintas, nomeadamente: Periquita, Touriga Nacional, Cornifesto, Tinta Barroca, Marufo, Trincadeira Preta e Tinta Carvalha. Após colheita, as uvas foram transportadas até ao laboratório sob refrigeração. À sua chegada, as uvas foram lavadas com água ultra pura (Sistema Milli-Q). Uma porção das uvas foi utilizada para a formulação de geleias, enquanto às restantes se fez a separação da película. Até posterior utilização as uvas e películas foram devidamente acondicionadas – 18 °C.

3.2.2. Preparação das geleias

A formulação das diferentes geleias foi realizada conforme o fluxograma apresentado na Figura 3.1. Os ingredientes utilizados na sua preparação foram uva *in natura* e açúcar (sacarose). Inicialmente maceraram-se as uvas (incluindo todos os constituintes do bago) e o conteúdo obtido foi aquecido até à ebulição, mantendo-se durante 10 minutos. Posteriormente, a mistura foi filtrada, tendo-se adicionado o açúcar à solução obtida, na proporção de 1:2 g de açúcar/ mL de líquido. Levou-se novamente à fervura até se atingir um °Brix entre 65 e 70%, tal como indicado por Lago et al. (2006) e Lago-Vanzela et al. (2011).



Figura 3.1- Fluxograma da formulação de geleias de uva de sete castas tintas estudadas no presente trabalho.

3.2.3. Análises físico-químicas

No sumo das uvas das sete castas, antes de iniciar o processamento das geleias, mediu-se o °Brix, com um refratómetro.

Nas geleias preparadas a partir das sete castas foram avaliados os seguintes parâmetros: cor, cinzas, pH, humidade e acidez. A cor foi avaliada com um colorímetro Minolta CR-400, no modo CIELAB, avaliando-se as coordenadas L*, a* e b* em que L* varia entre 0 (totalmente preto) e 100 (totalmente branco), a* entre -80 (verde) e +100 (vermelho), e b* entre -50 (azul) e +70 (amarelo). O pH foi medido diretamente com um potenciómetro da marca Jenway, modelo 370 pH Meter. A humidade foi determinada por perda de peso a 105 °C até se atingir peso constante e as cinzas pelo método AOAC 940.26. A acidez (% de ácido tartárico) foi determinada por análise titrimétrica que consistiu numa titulação com NaOH 0,1 M. Contudo, devido à coloração da geleia, a qual não permitia visualizar com exatidão o ponto de viragem do

indicador (fenolftaleína), utilizou-se um potenciômetro e um agitador para se obter a curva de titulação. O pH correspondente ao ponto de equivalência foi o de 8,1, segundo a NP-1421 (1977). A % de ácido tartárico foi calculada através da Equação 1:

$$\text{Ácido tartárico (g / 100g amostra)} = \frac{[\text{NaOH}](\text{mol} / \text{dm}^3) \times v_{\text{gasto}}(\text{dm}^3) \times (\text{MM}(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6) / 2) \times 100}{m_{\text{amostra}}(\text{g})} \quad (1)$$

Durante a preparação das geleias o teor de sólidos solúveis totais foi obtido pela medição dos °Brix por leitura direta num refratômetro de Abbe.

3.2.4. Preparação de extratos de geleias e película de uva

De cada amostra retiraram-se 5 g, aos quais se adicionaram 20 mL de metanol. No caso concreto da película de uva, esta foi previamente triturada. A mistura obtida foi colocada sob agitação durante uma hora. Posteriormente filtrou-se o conteúdo através de papel Whatman nº 2 para um balão de fundo redondo previamente pesado. Com o intuito de evaporar o solvente, o balão foi colocado no evaporador rotativo e de seguida na estufa a uma temperatura entre 40-45 °C. O extrato obtido foi redissolvido em metanol de forma a ter uma concentração de 50 mg de extrato/mL.

3.2.5. Atividade antioxidante

3.2.5.1. Capacidade redutora total

A capacidade redutora total das amostras foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu. A 100 µl das soluções de extratos das diferentes geleias, adicionou-se 7,90 mL de água desionizada e 500 µl do reagente de Folin-Ciocalteu. O branco foi preparado da mesma forma, substituindo-se a amostra por metanol. Após 3 a 8 minutos adicionou-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Aguardou-se duas horas e fez-se a leitura da absorvância a 765 nm. A curva de calibração foi obtida com ácido gálico.

3.2.5.2 Efeito bloqueador dos radicais livre de DPPH

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio do DPPH (radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), que avalia a eficiência do sequestro destes radicais livres. O

DPPH (0,024 g) foi dissolvido em 100 mL de metanol de forma a obter-se uma solução $6,09 \times 10^{-4}$ mol/dm³. Das soluções de extratos de geleia de concentração de 5 mg extrato/mL retiraram-se 300 µl de cada amostra e adicionou-se 2,7 mL da solução metanólica de DPPH. Após 1 hora no escuro à temperatura ambiente, a absorvância foi determinada a 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa através da percentagem do efeito bloqueador segundo a fórmula indicada na Equação 2. O branco foi feito com metanol.

$$\text{Efeito bloqueador (\%)} = \frac{\text{Absorvância}_{DPPH} - \text{Absorvância}_{Amostra}}{\text{Absorvância}_{DPPH}} \times 100 \quad (2)$$

Em que Absorvância_{DPPH} corresponde à absorvância da solução de DPPH sem amostra e a Absorvância_{Amostra} corresponde à absorvância da solução de DPPH com amostra.


3.2.5.3. Poder redutor

Diferentes concentrações de extratos foram preparadas a partir das soluções mãe de 50 mg/mL, referidas na Secção 3.2.4. A 1,0 mL de cada solução foram adicionados 2,5 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de K₃[Fe(CN)₆] a 1% (m/v). Após agitação no vortex, a mistura foi incubada a 50 °C durante 20 minutos. Foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) às soluções nos tubos de ensaio, com posterior agitação. Um volume de 2,5 mL da mistura foi transferido para outro tubo de ensaio, no qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl₃ a 0,1% (m/v). A leitura da absorvância foi realizada a 700 nm. A partir do gráfico Abs *versus* concentração de extrato de cada casta, determinaram-se os valores de EC50, correspondentes às concentrações de extrato que originaram uma absorvância igual a 0,5.

3.2.6. Avaliação organolética

De forma a avaliar a aceitação das geleias elaboradas, realizaram-se provas organoléticas, recorrendo a um painel de consumidores em dois dias consecutivos devido ao número elevado de amostras. Desse modo, em cada dia foram analisadas quatro amostras de geleia de uva. Visto que só havia sete geleias de uva, uma delas,

nomeadamente a Tinta Barroca, foi repetida nos dois dias, mas identificada com um número diferente. Em cada dia e a cada provador foram dadas aleatoriamente 4 geleias identificadas com 3 dígitos, tendo cada amostra de geleia de uva cerca de 15 g (1 colher de sobremesa). Após uma explicação sucinta de como realizar a análise, os provadores foram convidados a assinalar numa escala hedónica de 9 pontos (1 - Desgostei extremamente, 2 - Desgostei muito, 3 - Desgostei moderadamente, 4 - Desgostei ligeiramente, 5 - Indiferente, 6 - Gostei ligeiramente, 7 - Gostei moderadamente, 8 - Gostei muito, 9 - Gostei extremamente) os seguintes atributos da geleia de uva: aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global (Figura 3.2 e Anexo II).



Nome: _____ Data: ____/____/____

Sexo: F M Idade: _____ Profissão: _____

Por favor, avalie as amostras fornecidas utilizando a escala a baixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto.

Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.

Deve-se enxaguar a boca após cada degustação das amostras e esperar 30-40 segundos antes de realizar nova prova.

Amostra: ____

1. Aparência




Figura 3.2- Exemplo da ficha elaborada para a análise organolética das sete geleias de uva elaboradas.

3.2.7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL), versão 18.0. Para as propriedades físico-químicas e atividade antioxidante das geleias, a normalidade e a homogeneidade da variância foram sempre verificadas pelos testes Shapiro-Wilk e Levene, respetivamente. Quando ambas as condições falharam, foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido da comparação múltipla das médias das ordens como descrito em Maroco (2003). Pelo contrário, quando foi observada normalidade e homogeneidade de variâncias, aplicou-se uma ANOVA, seguida do teste *post-hoc* de Tukey.

Em relação aos resultados obtidos na avaliação organolética, uma vez que se utilizaram variáveis ordinais, aplicou-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis. Para verificar se houve diferenças entre o primeiro e segundo dia em relação à geleia que foi repetida utilizou-se o teste Wilcoxon-Mann-Whitney.

3.3. Resultados e discussão

3.3.1. Parâmetros físico-químicos da geleia

Os sumos de uva das sete variedades de castas apresentaram valores de sólidos solúveis totais distintos, variando entre 18,7 e 33,5 °Brix para a Touriga Francesa e Trincadeira Preta, respetivamente, indicando diferenças no grau de doçura das castas.

No que se refere às geleias de uvas, os resultados da caracterização físico-química encontram-se representados na Tabela 3.1. Os teores de humidade variaram entre 38,59% (Periquita) e 44,97% (Touriga Nacional) e os teores em cinza entre 0,40% (Cornifesto) e 0,69% (Marufo), sugerindo um maior teor em minerais na geleia preparada a partir da casta Marufo. Em relação à cor e em particular à luminosidade (L^*), constatou-se que a casta Periquita (33,44) foi a que apresentou o maior valor, sendo a geleia mais clara, enquanto a Tinta Carvalha (31,84) foi a mais escura. Para os parâmetros a^* (verde-vermelho⁺) e b^* (azul-amarelo⁺), as castas Tinta Carvalha e Marufo foram as que apresentaram os valores mais elevados para estes parâmetros, respetivamente, enquanto as castas Tinta Barroca e Tinta Carvalha apresentaram os valores menores. Nesse sentido, constataram-se diferenças nas cores das geleias consoante a casta. No que se refere ao pH, também se observaram diferenças significativas entre elas, variando entre 3,60 e 3,74. Em relação à acidez, as geleias apresentaram diferenças entre si, variando entre 0,72% para a casta Tinta Barroca e 1,01% para a Touriga Nacional. Desse modo, as geleias preparadas a partir das sete castas de uva serão diferentes em termos organoléticos (cor e sabor), o que permitirá produzir uma maior gama de produtos que irá de encontro a vários gostos dos consumidores.

Tabela 3.1- Parâmetros físico-químicos determinados nas geleias de uva elaboradas a partir de sete castas portuguesas

Castas	Humidade (%)	Cinza (%)	Cor			pH	Acidez (% de ácido tartárico)
			L*	a*	b*		
Marufo	41,04±0,06 ^{a,b}	0,69±0,08 ^a	32,40±0,19 ^{a,b,d}	0,27±0,03 ^a	1,00±0,07 ^{a,b}	3,60±0,06 ^{a,b}	0,73±0,00 ^a
Touriga Nacional	44,97±0,29 ^c	0,56±0,10 ^a	32,31±0,02 ^{b,d}	0,09±0,01 ^{b,c}	0,81±0,05 ^c	3,74±0,01 ^a	1,01±0,00 ^b
Tinta Carvalha	43,90±0,43 ^d	0,58±0,14 ^a	31,84±0,05 ^a	0,41±0,04 ^a	0,77±0,04 ^{a,c}	3,62±0,01 ^b	0,75±0,14 ^{a,b,c}
Cornifesto	42,00±0,07 ^a	0,40±0,06 ^a	32,42±0,08 ^{b,d}	0,05±0,01 ^{b,c}	0,88±0,02 ^{a,b,c}	3,64±0,01 ^b	0,85±0,03 ^{a,b,c}
Trincadeira Preta	42,93±0,44 ^d	0,51±0,02 ^a	32,43±0,04 ^b	0,04±0,01 ^{b,c}	0,86±0,02 ^{a,b,c}	3,66±0,01 ^b	0,74±0,01 ^a
Periquita	38,59±0,14 ^b	0,56±0,02 ^a	33,44±0,18 ^c	0,09±0,03 ^b	0,90±0,04 ^b	3,68±0,01 ^a	0,82±0,01 ^c
Tinta Barroca	43,49±0,06 ^d	0,51±0,00 ^a	32,22±0,01 ^d	-0,09±-0,04 ^c	0,88±0,01 ^{a,b}	3,71±0,02 ^{a,b}	0,72±0,01 ^a

3.3.2. Atividade antioxidante

3.3.2.1. Capacidade redutora total

Os resultados obtidos para a capacidade redutora total determinada nas geleias e películas estão apresentados nas Figuras 3.3A e 3.3B, respetivamente. Numa primeira análise da Figura 3.3 verificou-se que os teores em fenóis totais determinados nos extratos preparados a partir de geleias foram inferiores os obtidos através da película da uva. Tal situação era previsível, uma vez que as geleias são obtidas a partir da polpa das uvas e açúcar, além das películas, as quais são mais ricas em compostos fenólicos.

Verificou-se que tanto para a película como para as geleias de uva se detetaram diferenças entre as castas. Concretamente, nas geleias de uva os valores de capacidade redutora total variaram entre 0,54 e 1,27 mg equivalentes de ácido gálico/g de extrato, para a Tinta Barroca e Tinta Carvalha, respetivamente. Já em relação à película da uva, os fenóis totais apresentaram valores muito superiores, entre 24,36 (Periquita) e 57,05 (Touriga Nacional) mg de equivalentes de ácido gálico/g de extrato.

Ao comparar os valores da capacidade redutora total determinados para a película de uva do presente trabalho, expressos em matéria fresca - 12,04-19,61 mg GAE/g de amostra de uvas frescas - com os indicados por outros autores, verificou-se que as castas tintas portuguesas estudadas apresentaram valores superiores ao indicado por Katalinic et al. (2008), para a casta Trnjak (tinta) da localidade Imotski, cujo valor máximo foi de 3486 mg GAE/kg de uvas frescas. Pelo contrário os nossos valores foram semelhantes aos descritos por Poudel et al. (2008), que referem 13,8 mg GAE/g de uvas frescas como sendo o teor de compostos fenólicos para a casta Shiohitashibudou. Soares et al. (2008) também determinaram o teor de fenóis totais em películas de duas castas de uva (Isabel e Niágara). Contudo, comparando os resultados obtidos nesse estudo com os do presente trabalho verificou-se que os valores obtidos para as duas castas de 1026,69 (Isabel) e 1242,78 (Niágara) mg GAE/100g de peso seco foram próximos aos encontrados para as castas Marufo (1203,98 mg GAE/100g de peso seco) e Periquita (1271,19 mg GAE/100g de peso seco) analisadas no presente trabalho, as quais foram aquelas que apresentaram os valores mais baixos de fenóis totais nas películas.

Apesar dos escassos estudos em relação à atividade antioxidante das geleias de uva, verificou-se que os teores de fenóis totais obtidos nas geleias do presente trabalho são bastante inferiores aos referidos por Falcão et al. (2007) para um sistema modelo de

geleia de uva da casta Isabel, nomeadamente 63,4 e 95,1 mg GAE/ g de extrato para os solventes de extração etanol e acetona a 70% (v/v). Além dos solventes de extração terem sido diferentes do usado no presente trabalho, o modo de produção de geleias descrito por estes autores foi bastante mais complexo, incluindo a utilização de agentes gelificantes, ácido cítrico e de extratos antociânicos, os quais podem justificar a maior actividade antioxidante determinada por Falcão et al. (2007).

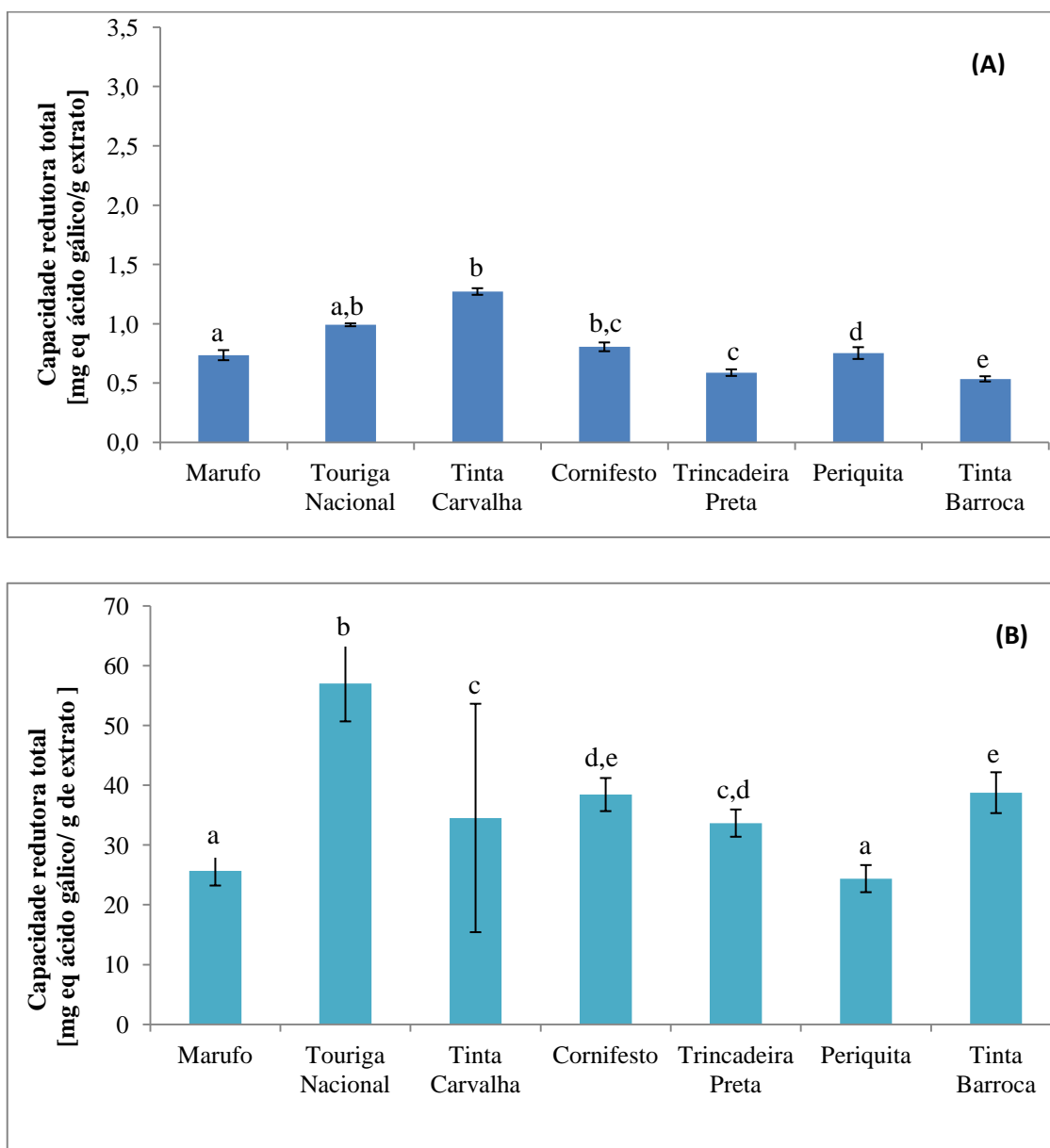


Figura 3.3 – Capacidade redutora total da geleia de uva (A) e da película de uva (B)

Ao considerar os valores da capacidade redutora total, expressa em mg GAE/g de geleia (Tabela 3.2), e tendo em conta que na sua formulação se utilizou polpa e película

e conhecendo-se a proporção entre elas, determinaram-se as concentrações de fenóis totais esperadas provenientes das cascas em termos de mg GAE/g de película. Ao comparar estes valores com os obtidos tendo em conta os valores reais determinados para as películas antes de serem processadas (*in natura*), verificou-se que as concentrações existentes nas geleias corresponderam a 14,59% (Tinta Barroca) e 62,28% (Periquita), o que indica que durante o fabrico da geleia a taxa de difusão dos compostos fenólicos para a solução açucarada ou a perda desses mesmos compostos durante o aquecimento aplicado na produção de geleias, variou com as castas.

Em termos gerais e considerando os valores da capacidade redutora total obtidos para as diferentes castas (Figura 3.3A e Tabela 3.2), Tinta Carvalha parece ser a casta mais indicada para a produção de geleias com uma maior quantidade de compostos bioativos. De facto, esta casta foi aquela que apresentou uma cor mais escura de película (menor L*) e uma maior proporção de pigmentos vermelhos (maior a*), sugerindo a presença de uma quantidade maior de antocianinas. Contudo, os resultados do presente trabalho também indicam que, no futuro, no fabrico das geleias poder-se-á tentar otimizar o processo de forma a se conseguir extrair um maior número de compostos fenólicos das películas de modo a aumentar as percentagens de extração.

Tabela 3.2 – Razão da capacidade redutora entre as geleias e películas de uva

Castas	mg GAE/g de geleia	mg GAE/g de fruto	g de fruto	g de película	mg GAE/g de película	mg GAE/g de película (real)	% geleias/películas
Marufo	0,52	0,77	3,24	0,41	6,12	12,04	50,84
Touriga Nacional	0,68	1,02	2,27	0,29	7,97	19,61	40,65
Tinta Carvalha	0,87	1,31	2,77	0,44	8,26	14,81	55,74
Cornifesto	0,57	0,85	1,92	0,37	4,41	16,27	27,10
Trincadeira Preta	0,42	0,63	2,24	0,25	5,60	15,67	35,74
Periquita	0,59	0,88	3,05	0,34	7,92	12,71	62,28
Tinta Barroca	0,36	0,53	2,79	0,56	2,66	18,23	14,59

*GAE- Equivalentes de ácido gálico

3.3.2.2. Efeito bloqueador dos radicais livre de DPPH

A actividade antioxidante determinada pelo método de DPPH, expresso em % de efeito bloqueador para a concentração de 5 mg/mL (Tabela 3.3), demonstrou que as geleias de uva apresentaram valores muito diferentes entre as castas, mais concretamente de 9,85% para a Periquita e 60,04% para a Tinta Carvalha. Desse modo, os extratos com maior capacidade bloqueadora dos radicais DPPH foram preparados a partir da geleia da casta Tinta Carvalha, indo de encontro aos resultados obtidos para a Capacidade Redutora Total. Já em relação à película de uva, os valores entre as castas são mais semelhantes, tendo variado entre 84,92% para a Tinta Barroca e 89,93% para a Periquita.

Além disso, mais uma vez se verificou que a película de uva tem maior poder antioxidante do que as geleias, uma vez que os processos físico-químicos do processamento podem influenciar as características bioativas dos produtos vegetais.

Tabela 3.3- Percentagem do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH para a concentração de 5 mg de extrato/mL das geleias e película de uva.

Castas	Geleia de uva	Película
	% Efeito bloqueador para a Conc =5mg/mL	
Marufo	22,47±0,53 ^a	88,27±0,84 ^a
Touriga Nacional	42,28±0,80 ^b	87,74±0,41 ^b
Tinta Carvalha	60,04±0,18 ^c	89,70±0,23 ^{b,c}
Cornifesto	31,80±0,96 ^{d,e}	88,87±0,40 ^{b,c}
Trincadeira Preta	28,08±0,35 ^{c,d}	88,87±0,58 ^{c,d}
Periquita	9,85±0,35 ^a	89,93±0,27 ^{d,e}
Tinta Barroca	58,97±1,20 ^e	84,92±0,70 ^e

*Letras diferentes na mesma coluna indicam a existência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

3.3.2.3. Poder redutor

Os resultados obtidos para o poder redutor estão apresentados na Figura 3.4 e Tabela 3.4. Ao observar a Figura 3.4 constatou-se que tanto para os extratos preparados a partir das geleias e películas de uvas se observou um aumento do poder redutor com o acréscimo de concentração. Contudo, as concentrações de extrato preparadas a partir

das geleias foram cerca de 10 vezes superiores às das películas de forma a se obterem valores de absorvância semelhantes.

Na Tabela 4 encontram-se descritos os valores de EC50, os quais foram superiores para a geleia (9,17 a 41,28 mg extrato/mL) do que para a película (2,19 a 2,60 mg extrato/mL). Este resultado era esperado, uma vez que o EC50 é inversamente proporcional à capacidade antioxidante, demonstrando que as películas são ricas em antioxidantes. Novamente, a geleia produzida a partir da casta Tinta Carvalha foi aquela que apresentou o menor valor de EC50, sugerindo novamente um maior potencial antioxidante.

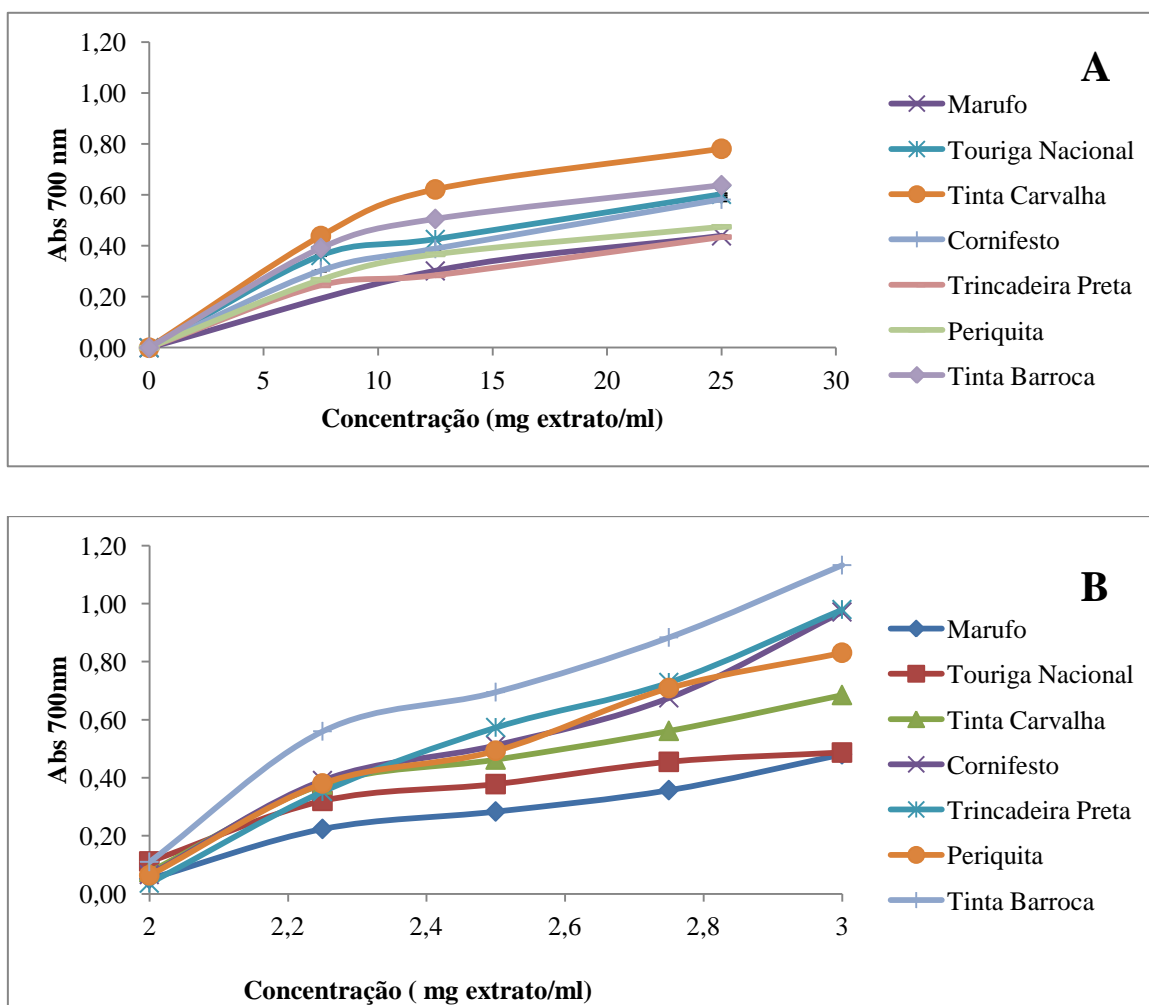


Figura 3.4 - Poder redutor da geleia de uva (A) e da película de uva (B)

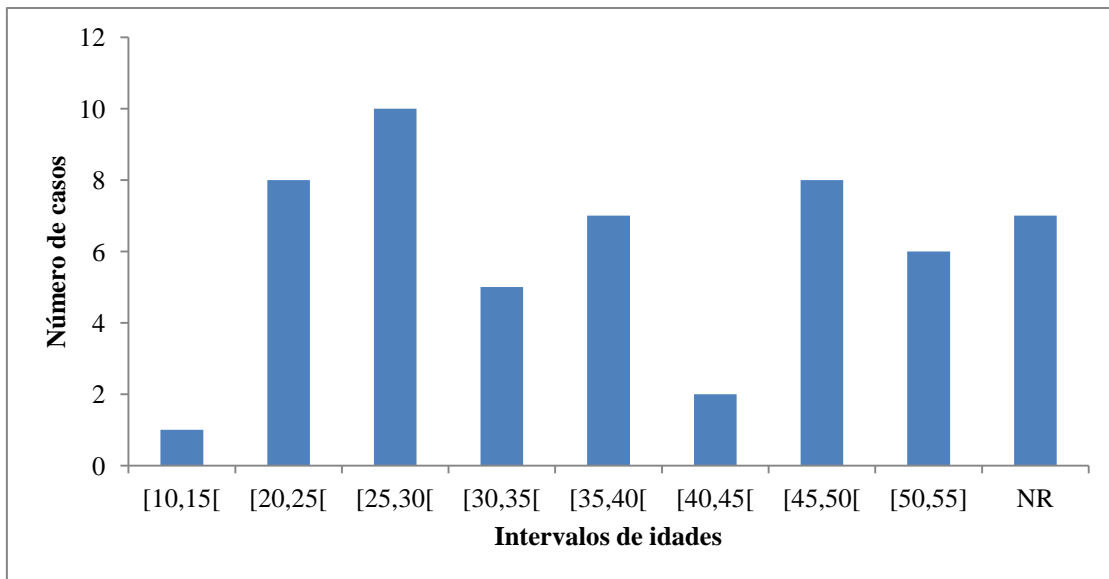
Tabela 3.4- Valores de EC50 determinados no ensaio do poder redutor em geleias e película de uva.

Castas	Geleia de uva	Película
	EC50 (mg de extrato/mL)	
Marufo	26,93±3,76	2,60±0,08
Touriga Nacional	17,78±0,46	2,54±1,11
Tinta Carvalha	9,17±0,17	2,35±0,00
Cornifesto	19,70±0,38	2,24±0,00
Trincadeira Preta	31,97±1,32	2,25±0,00
Periquita	41,28±070	2,28±0,00
Tinta Barroca	12,22±0,03	2,19±0,00

Segundo Abel et al. (2007), as uvas de coloração escura apresentam maior conteúdo em compostos fenólicos e capacidade antioxidante, tal como se verificou no presente estudo. De facto, tal como indicado anteriormente, a casta Tinta Carvalha foi aquela que apresentou bagos de uva mais escuros (menores valores de L*) (Tabela 1) e uma coloração mais vermelha (maior valor de a*), indicativo de uma maior concentração de antocianinas, o que pode ter originado uma geleia com uma maior capacidade redutora total (1,27 mg GAE/g de extrato), maior % de efeito bloqueador de radicais DPPH (60,04 %) e menor EC50 para o poder redutor (9,17 mg de extrato/mL).

3.3.3. Avaliação organolética

Após análise dos dados da prova organolética verificou-se que estiveram presentes 54 provadores, sendo 34 do sexo feminino e 20 do sexo masculino. Através do histograma representado na Figura 3.5, verificou-se que as idades dos provadores variaram entre os 12 e os 55 anos. Em relação à profissão, constatou-se que 14 dos provadores eram docentes, 11 bolseiros, 12 estudantes, 11 funcionários da escola, 2 investigadores e 1 desempregado, não tendo respondido a essa questão 3 pessoas.



*NR – Não respondeu

Figura 3.5 – Distribuição das idades dos consumidores que efetuaram a avaliação organolética das geleias.

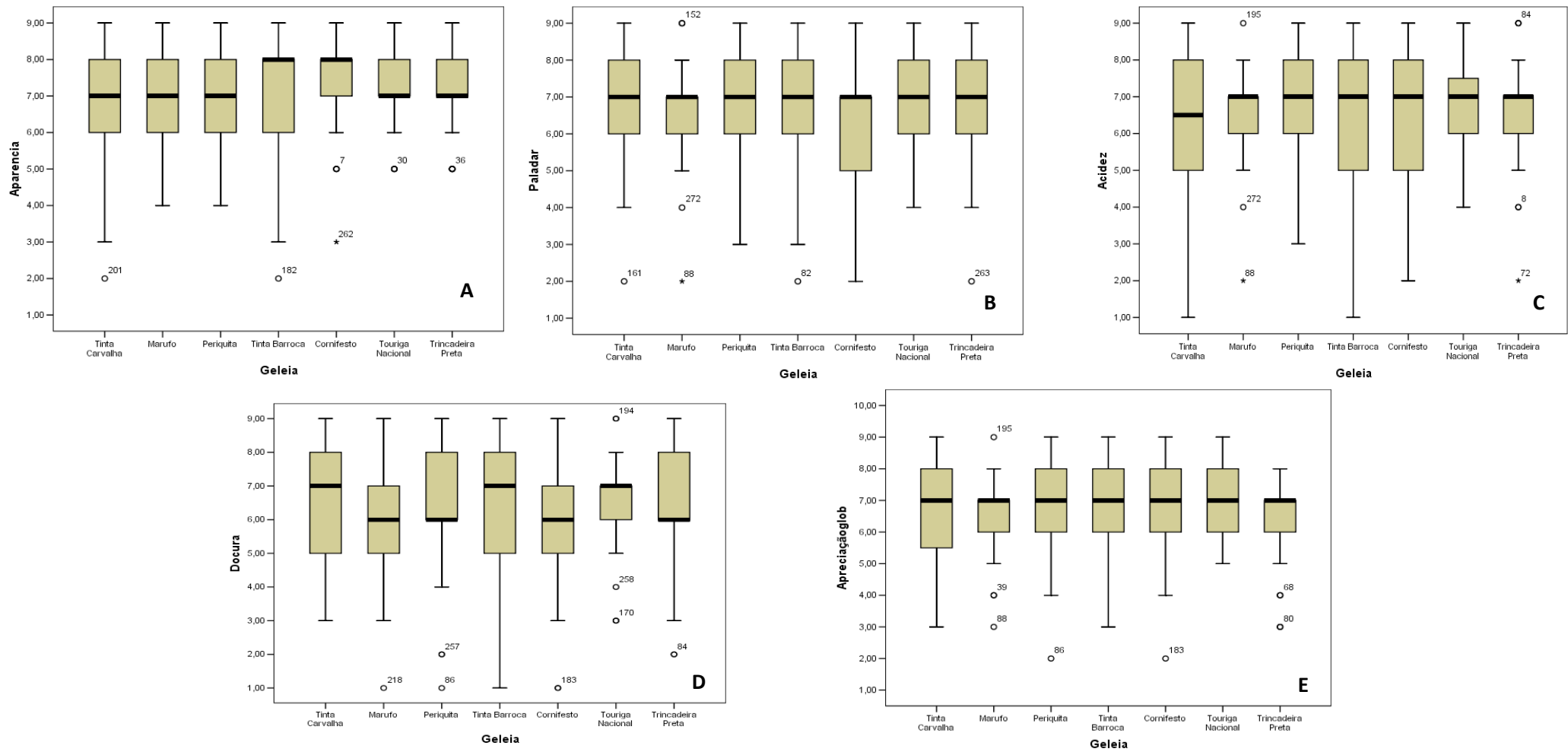
Antes de iniciar a análise estatística dos resultados, averiguou-se se os dados obtidos para a geleia da casta Tinta Barroca, no primeiro dia foram semelhantes aos obtidos no segundo dia, através do teste Wilcoxon-Mann-Whitney. Com esse teste, detetou-se que a maioria dos parâmetros avaliados não apresentou diferenças significativas entre os dias para um $\alpha=0,05$, nomeadamente aparência ($p=0,088$), paladar ($p=0,054$), doçura ($p=0,309$), acidez ($p=0,323$) e apreciação global ($p=0,077$). No entanto, em relação à cor ($p=0,003$), já se detetaram diferenças significativas entre o primeiro e o segundo dia. Uma das possíveis justificações foi o facto da geleia Tinta Barroca ter sido posta à prova com diferentes geleias no primeiro e o segundo dia, tendo a sua cor sido influenciada pela cor das restantes. Por exemplo, se no segundo dia os provadores tiveram à sua frente geleias com cores que fossem mais da sua preferência do que as fornecidas no primeiro dia, os provadores no dia seguinte classificaram pior a geleia que esteve a ser avaliada no dia anterior por terem à sua frente outras que lhes agradaram mais.

Posteriormente, averiguou-se se havia diferenças entre os sexos. Contudo em nenhum dos parâmetros avaliados se detetaram diferenças significativas (Anexo II).

Através do teste Kruskal-Wallis procurou-se comparar as geleias entre si com o intuito de verificar se havia diferenças entre elas em relação aos parâmetros avaliados. Os resultados indicaram que para os parâmetros, aparência ($p=0,442$), paladar

($p=0,607$), doçura ($p=0,870$), acidez ($p=0,911$) e apreciação global ($p=0,652$) não se detetaram diferenças significativas, uma vez que o $p>0,05$. Contudo, a cor foi o único parâmetro que manifestou ter diferenças significativas entre as setes geleias, uma vez que apresentou um $p=0,001$.

Mesmo para os parâmetros em que não se encontraram diferenças significativas entre as geleias, elaboraram-se gráficos *box-plot* com o intuito de averiguar em que zona da escala de encontrava a maioria das respostas do painel de consumidores (Figura 3.6). Além disso, os gráficos *box-plot* permitem averiguar se as respostas estão distribuídas de forma simétrica, se há respostas mais acima ou abaixo em relação ao ponto central da escala aplicada, se as respostas estão muito concentradas à volta da mediana ou se as respostas são heterogéneas.



(Não significativo para um $\alpha=0,05$)

Figura 3.6 – Gráficos *box-plot* obtidos para os parâmetros aparência (A), paladar (B), acidez (C), doçura (D) e apreciação global (E) para as sete geleias estudadas.

Ao analisar os gráficos *box-plot* verificou-se que para todas as geleias e todos os parâmetros, as medianas das respostas estão acima do ponto 5 da escala (indiferente), situando-se na maioria dos casos num valor próximo de 7 (gostei moderadamente). Logo, pode-se afirmar que houve uma boa aceitação das geleias por parte dos consumidores. No entanto, verificaram-se a existência de alguns *outliers*, que resultaram de respostas bastante distintas de alguns consumidores face às indicadas pelos restantes.

Ao observar os gráficos *box-plot* verificou-se que os valores de mediana foram muito semelhantes entre as sete geleias analisadas para os parâmetros aparência, paladar e acidez. Pelo contrário, para o parâmetro doçura já se observou uma maior discrepância entre as medianas das geleias produzidas a partir das sete castas, situando-se as medianas um pouco mais abaixo (próximo de 5) face aos parâmetros anteriores. Em relação à apreciação global, todas as geleias apresentaram uma mediana de 7 pontos, indicando que os consumidores gostaram moderadamente das geleias produzidas. Tendo em conta os parâmetros analisados, a doçura parece ser aquele que deverá ser trabalhado no futuro de forma a aumentar a apreciação global das mesmas.

Em relação à cor, como se verificou a existência de diferenças significativas neste parâmetro para os dois dias de prova, optou-se por realizar dois gráficos *box-plot*, um para o primeiro dia (Figura 3.7A) e outro para o segundo dia (Figura 3.7B).

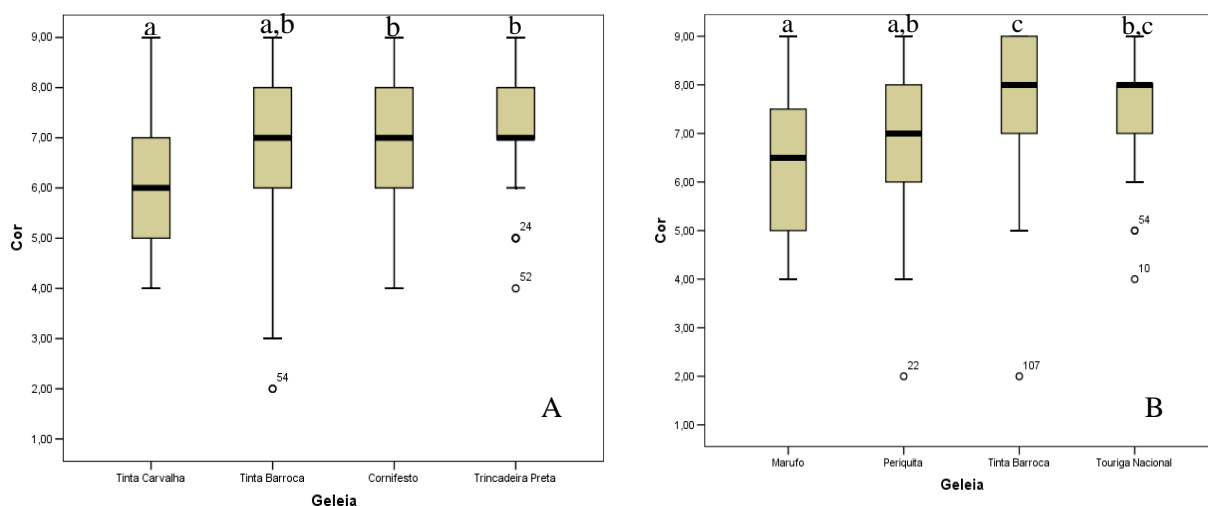


Figura 3.7 – Gráfico *box-plot* para o parâmetro cor para o primeiro dia (A) e segundo dia (B) da avaliação organolética.

Tanto para o primeiro como para o segundo dia, verificaram-se diferenças significativas entre as geleias, (primeiro dia $p=0,009$, segundo dia $p<0,001$). A geleia comum aos dois dias (Tinta Barroca) foi avaliada no primeiro dia com uma mediana de 7 e no segundo dia com uma mediana de 8. Além disso, foi aquela que apresentou a mediana mais elevada. No dia em que teve a avaliação maior, no segundo dia, uma das possíveis justificações é ter sido avaliada em conjunto com outras geleias que apresentaram uma cor que os consumidores não apreciaram tanto.

Para complementar os gráficos apresentados na Figura 3.6, realizaram-se gráficos de barras de frequência de número de casos para cada parâmetro e cada geleia (Anexo II), tendo-se novamente confirmado que a maioria da frequência das respostas para todos os parâmetros avaliados, esteve acima do ponto 5 (indiferente), tal como se tinha verificado na Figura 3.6. Mais concretamente, para os seis parâmetros avaliados nas geleias de uva, cerca de 76 a 100% das respostas dadas estiveram acima dos 5 pontos (indiferente). Em termos individuais, ao avaliar a apreciação global verificou-se que a geleia da casta Touriga Nacional foi aquela que mais agradou aos consumidores, uma vez que 100% da pontuação desta esteve acima do ponto 5. Em termos gerais, pode-se afirmar que as geleias de uva teriam uma boa aceitação por parte dos consumidores, apesar de ser necessário aperfeiçoar mais algumas das suas características, tendo em conta a especificidade de cada casta.

3.4. Conclusão

A produção de geleias de uva mostrou-se viável o que representa mais uma opção para o pequeno produtor e para a fruticultura portuguesa. Na caracterização físico-química das geleias encontraram-se diferenças entre as diferentes castas, principalmente nos parâmetros da acidez e cor, o que indica a futura obtenção de geleias com características distintas, indo de encontro com os gostos de um maior número de consumidores.

Em relação à atividade antioxidante, e tal como era esperado, verificou-se que as películas de uva têm maiores teores de fenóis totais, poder redutor e % de efeito bloqueador do radical DPPH em comparação com as geleias de uva. Contudo, estas continuam a ter potencial antioxidante. Nesse sentido, as geleias de uva podem surgir como um novo produto a comercializar, já que continuam a manter algumas das propriedades bioativas associadas ao fruto *in natura*.

Contudo, no futuro poder-se-á tentar aumentar a extração de compostos fenólicos da película para este produto. Em relação às geleias produzidas a partir das diferentes castas, a da Tinta Carvalha foi aquela que apresentou a maior quantidade de compostos bioativos. Após, realização das avaliações organolépticas, não se encontraram diferenças significativas entre as geleias das setes castas estudadas para a maioria dos parâmetros avaliados, exceto na cor. Em relação à apreciação global, os consumidores gostaram moderadamente das geleias produzidas, havendo no futuro a necessidade de se otimizar alguns parâmetros.



TOURIGA FRANCESA

TRINCADEIRA PRETA

TINTA CARVALHA

TRINCADEIRA PRETA

TOURIGA FRANCESA

TINTA BARROCA

TINTA CARVALHA

TINTO C

TINTA BARROCA

TRINCADEIRA PRETA

Capítulo 4

Conclusão geral

Com o presente trabalho demonstrou-se que os óleos de grainha de dez castas de uvas portuguesas são uma boa fonte de vitamina E, ácidos gordos insaturados (principalmente ácido linoleico) e apresentam propriedades antioxidantes. Além disso, detetaram-se diferenças entre os óleos extraídos a partir das diferentes castas analisadas, permitindo a obtenção de uma maior variedade de produtos. A composição dos óleos de grainha de uva pode ser um ponto de partida para os produtores regionais e nacionais de uvas, de forma a valorizar um sub-produto da atividade vinícola e cativar os consumidores para a futura ingestão de produtos feitos à base de grainha de uva ou que incorporem os óleos destas, referindo os possíveis efeitos benéficos na saúde associados à sua composição. Além disso, as indústrias farmacêuticas e de cosméticos podem também surgir como potenciais clientes deste produto.

Adicionalmente, o presente trabalho também demonstrou que a formulação de geleias de uva de sete castas portuguesas mostrou ser uma atividade viável, surgindo como mais uma opção para a indústria frutícola. Detetaram-se diferenças significativas nas características físico-químicas das geleias de uva produzidas a partir de diferentes castas, indicando que a produção de geleias com diferentes propriedades é possível, podendo satisfazer os gostos de um maior número de consumidores. Por outro lado, concluiu-se que as geleias mantêm algumas das propriedades bioativas encontradas, sobretudo, na pele da uva *in natura*. Após avaliação organoléptica, verificou-se existir uma aceitação destes produtos por parte dos consumidores.

Nesse sentido, estes dois capítulos complementam-se, uma vez que do conteúdo aquoso resultante da maceração do bago da uva, podem-se formular geleias de uva, enquanto as grainhas podem ser aproveitadas para a produção de óleos.

Apesar de no presente estudo se ter demonstrado algumas das possíveis tentativas de valorização da uva, há que continuar a aperfeiçoar alguns pontos, nomeadamente:

- A inclusão das grainhas de uva ou dos seus óleos em outros géneros alimentícios, de forma a favorecer as suas propriedades intrínsecas, tais como, melhorar o seu perfil lipídico;
- Na formulação das geleias de uva incluir outros compostos que permitam preservar mais a atividade antioxidante da fruta *in natura*;
- Otimizar a formulação das geleias de uva tendo em conta a tipicidade e características próprias de cada casta, de forma a melhorar a sua aceitação por parte dos consumidores.

Referências

Abe, L.T., Mota, R.V., Lajolo, F.M., & Genovese, M.I. (2007). Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **27**, 394- 400.

Adámez, J.D., Samino, E.G., Sánchez, E.V., & González-Gómez, D. (2012). In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, **24**, 136-141.

Bail, S., Stuebiger, G., Krist S., Unterweger, H., & Buchbauer, G. (2008). Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols. *Food Chemistry*, **108**, 1122–1132.

Baydar, N.G., & Ozkan, G. (2006). Tocopherol contents of some Turkish wine by-products. *European Food Research and Technology*, **223**, 290–293.

Bekhit, A.E.A., Cheng, V.J., McConnell, M., Zhao, J.H., & Sedcole, R. (2011). Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry*, **129**, 837-845.

Beveridge, T.H.J., Girard, B., Kopp, T., & Drover, J.C.G. (2005). Yield and Composition of Grape Seed Oils Extracted by Supercritical Carbon Dioxide and Petroleum Ether: Varietal Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1799-1804

Choi, Y., & Lee, J. (2009). Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction. *Food Chemistry* **114**, 1386–1390.

Codex Alimentarius Commission (1999). *Codex Standard for named vegetable oils, Codex stan 210 -1999*.

Crews, C., Hough, P., Godward, J., Brereton, P., Lees, M., Guiet, S., & Winkelmann, W. (2006). Quantitation of the Main Constituents of Some Authentic Grape-Seed Oils of Different Origin. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 6261-6265.

Decreto de Lei nº 230/2003 de 27 de Setembro.

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., & Wichers, H.J. (2000). Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 648-656.

INE (2008). Estatísticas Agrícolas 2007. Instituto Nacional de Estatística, I.P. (Ed.), Lisboa, Portugal.

Falcão, A.P., Chaves, E.S., Kuskoski, E.M., Fett, R., Falcão, L.D., & Bordignon-Luiz M.T. (2007). Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **27**, 637-642.

FAOSTAT, (2010). <http://faostat.fao.org> (accedido em Agosto 2012).

Freitas, A.A., Francelin, M.F., Hirata, G.F., Clemente, E., & Schimidt, F.L. (2008). Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geleias. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **28**, 172- 177.

Freitas, L.S., Jacques, R.A., Richter, M.F., Silva, A.L., & Caramão, E.B. (2008). Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. *Journal of Chromatography A*, **1200**, 80–83.

Gaspar, C., Laureano, O., & Sousa, I. (1998). Production of reduced-calorie grape juice jelly with gellan, xanthan and locust bean gums: sensory and objective analysis of texture. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, **206**, 169-174.

Granada, G.G., Zambiazzi, R.C., Medonça, C.R.B., & Silva, E. (2005) Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de geleias light de abacaxi. *Ciência e tecnologia dos alimentos*, **25**, 629-635.

González-Centeno, M.R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M.C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems. *LWT - Food Science and Technology*, **43**, 1580-1586.

HMSO (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease. *Report on health and social subjects* nº 46. London: HMSO.

Infovini (2012), <http://www.infovini.com/pagina.php?codNode=3891> (Acedido em 23 de Outubro de 2012)

Kalantzakis, G., Blekas, G., Pegklidou, K., & Boskou, D. (2006). Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *Journal Agriculture Food Chemistry*, **108**, 329-335.

Katakinic, V., Mozina, S.S., Skroza, D., Generalic, I., Abramovic, M.M., Ljubenkovic, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinic, P., & Boban, M. (2010). Polyphenolic

profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, **119**, 715-723.

Kim, H., Kim, S.G., Choi, Y., Jeong, H.S., & Lee, J. (2008). Changes in Tocopherols, Tocotrienols, and Fatty Acid Contents. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **85**, 487–489.

Labuschagne, M.T., & Hugo, A. (2008). Oil content and fatty acid composition of cactus pear seed compared with cotton and grape seed. *Journal of Food Biochemistry*, **34**, 93–100.

Lago, E.S., Gomes, E., & Silva R. (2006). Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): produção de geléia de jambolão: processamento, parâmetros físicos-químicos e avaliação sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **26**, 847-852.

Lago- Vanzela, E.S., Ramin, P., Umsza-Guez, M.A., Santos, G.V., Gomes, E., & Silva, R. (2011). Chemical and sensory characteristics of pulp and peel 'cajá-manga' (*Spondias cytherea* Sonn.) jelly. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **31**, 398- 405.

Lamante, A.C.B., Dada, M.A., Furquim, M., Gravena, C., Bellarde, F.B., & Lucia, F.D. (2005). Obtenção de geleia "diet" elaborada com suco de maracujá. *Revista Uniaria*, **16**, 189-197

Lee, E., Yeom, H., Ha, M., & Bae, D. (2010). Development of Banana Peel Jelly and Its Antioxidant and Textural Properties. *Food Science and Biotechnology*, **19**, 449-455.

Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., & Yu, L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, **128**, 391-399.

Luque-Rodríguez, J.M., Castro, M.D.L., & Pérez-Juan, P. (2005). Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*, **68**, 126–130.

Maciel, M.I.S., Melo, D.A., Lima, V.L.A.G., Silva, W.S., Maranhão, C.M.C., & Souza, K.A. (2009) Características sensorias e físico-químicas de geleias mistas de manga e acerola. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de alimentos*, **2**, 247-256.

Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D.R., & Carle, R. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, **112**, 551–559.

Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., & Pereira, J.A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, **48**, 148-154.

Maroco, J. (2003). *Análise Estatística com utilização do SPSS* (2ª ed.). Portugal, Lisboa: Edições Sílabo.

Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**, 645–650.

McLaughlin, P.J., Weihrauch, J. (1979). Vitamin E content of foods. *Journal of American Dietetic Association*, **75**, 647-665.

National Research Council. (1989), *Recommended Dietary Allowances*. (10th Ed.). Washington: National Academy Press.

NP-1421. (1977), Géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas - Determinação da acidez.

Pardo, J.E., Fernández, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., & Alonso, G.L. (2009). Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, **111**, 188-193.

Poudel, P.R., Tamura, H., Kataoka, I., & Mochioka, R. (2008). Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, 622-625.

Soares, M., Welter, L., Kuskoski, E.M., Gonzaga, L. & Pett, R. (2008). Compostos fenólicos e actividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **30**, 059-084

Tangolar, S.G., Ozogul, Y., Tangolar, S., & Torun, A. (2009). Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. *International Journal of Sciences and Nutrition*, **60**, 32-29.

Wijendran, V., & Hayes, K.C. (2004). Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*, **24**, 597–615.

Zulueta, A., Esteve, M.J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, **114**, 310-316.

Anexos

Anexo I

Accepted Manuscript

Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties

Luana Fernandes, Susana Casal, Rebeca Cruz, José Alberto Pereira, Elsa Ramalhosa

PII: S0963-9969(12)00398-5
DOI: doi: [10.1016/j.foodres.2012.09.039](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.039)
Reference: FRIN 4281

To appear in: *Food Research International*

Received date: 6 July 2012
Accepted date: 30 September 2012

Please cite this article as: Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J.A. & Ramalhosa, E., Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties, *Food Research International* (2012), doi: [10.1016/j.foodres.2012.09.039](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.039)

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.



**Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting
chemical and antioxidant properties**

Luana Fernandes^a, Susana Casal^b, Rebeca Cruz^b, José Alberto Pereira^a and Elsa
Ramalhosa^{a*}

*^aMountain Research Centre (CIMO) - School of Agriculture, Polytechnic Institute of
Bragança, Campus de St^a Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal*

*^bREQUIMTE/Laboratory of Bromatology and Hydrology, Faculty of Pharmacy, Porto
University, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal*

*To whom correspondence should be addressed. Telephone: +351-273-303308. Fax:
+351-273-325405. E-mail: elsa@ipb.pt

ABSTRACT

To increase the potential and better exploring of grape seeds that are an important wine-industrial waste, oils of ten traditional Portuguese grape varieties were evaluated in relation to their vitamin E content (tocopherols and tocotrienols), fatty acids profile, as well as, antioxidant properties. Our results showed that the grape-seed oils were a good source of γ -tocotrienol (499-1575 mg/kg), α -tocopherol (85.5-244 mg/kg) and α -tocotrienol (69-319 mg/kg). Concerning fatty acids profile, linoleic (C18:2 cc), oleic (C18:1), palmitic (C16:0) and stearic (C18:0) acids were the predominant. Grape-seed oils demonstrated to be a good source of polyunsaturated fatty acids (PUFA) (63.64-73.53%), whereas monounsaturated (MUFA) and saturated (SFA) fatty acids ranged between 14.19-21.29 % and 11.64-14.94 %, respectively. Interesting values of DPPH and ABTS radical scavenging activities were also obtained. This study demonstrated that these seeds may be reused and their oils incorporated in other food products, taking into account the compounds with positive effects on human health that are present in their composition.

Keywords: Grape-seed oils; Tocopherols; Tocotrienols; Fatty acids; Antioxidant activity.

1. INTRODUCTION

Vitis vinifera L. production is widespread throughout the world, exceeding 68 million tons (FAOSTAT, 2010). In 2010, Portugal produced more than 945 ktons of grapes, being one of the most relevant crops in terms of employment and wealth. As grape-seeds comprise about 5 % of the fruit weight (Choi & Lee, 2008), more than 3 million tons of grape seeds are discarded annually worldwide and around 47 kton in the particular case of Portugal. Grape seeds are an important part of the pomace, corresponding to 38-52 % of dry matter (Maier, Schieber, Kammerer & Carle, 2009). So, grape seeds are often referred as a significant agricultural and industrial waste (Lutterodt, Slavin, Whent, Turner & Yu, 2011; Luque –Rodríguez, Castro & Perez-Juan, 2005; Kim, Choi, Jeong & Lee, 2008; Freitas, Jacques, Ricther, Silva & Caramão, 2008). Thus, finding feasible solutions for treating this residue, including attempts to the development of new products, would constitute an excellent opportunity. Grape-seed oils may be a good option, as numerous health benefits associated with their composition may exist, mainly in what concerns vitamin E and essential fatty acids, particularly the linoleic acid. This fatty acid is referred in the literature as a protector of cardiovascular diseases (Wijendran & Hayes, 2004), while vitamin E has neuroprotective and antitumoral properties; it is able to lower the cholesterol levels and has antioxidant activity (Choi et al., 2009). Recently, some studies indicate that aqueous extracts prepared from grape seeds can have antibacterial and antioxidant activities (Adámez, Samino, Sánchez & González-Gomez, 2012). Furthermore, grape-seed oils have emerged as a product with potential to be used in pharmaceutical and food applications (Bail, Stvebiger, Krist, Unterweger & Buchbauer, 2008; Furiga, Lonvaud-Funel & Badet, 2009), being already extracted in Italy, Spain and France (Crews et al., 2006). Thus, the possibility of reuse of grape seeds is promising. On the other hand, the

fact of living in a society that face environmental (waste disposal problems) and economic (the need to invest in most vulnerable areas) issues, the recovery and reuse of grape seeds are of great importance (González- Centeno, Rosselló, Simal, Garau, López & Femenia, 2010), contributing to lower the production costs, to increase producers income and to create new products for human consumption (Baydar & Ozkan, 2006). Of our knowledge, no study has been performed until now that focused on the potential use of seed oils of Portuguese grape varieties. So, this study aims to characterize seed oils of ten national grape varieties in relation to fatty acids and vitamin E contents, as well as antioxidant activity, in order to valorize this genetic patrimony.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Grape seed samples

Grapes were harvested at their ripening time in Valpaços, northeast of Portugal. Ten red varieties were selected, including: Aragonês, Cornifesto, Marufo, Periquita, Tinta Barroca, Tinta Carvalha, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional and Trincadeira Preta. After harvest, the grapes were transported under refrigeration and on their arrival at the laboratory the fruits were washed with ultra-pure water (Milli-Q system). After drying with soft paper, the grapes were weighted and the seeds and skins separated from the pulp. The number of seeds and their weights were also determined, as well as the weights of the skins. Afterwards, the seeds were dried at 40 °C.

2.2. Grape-seed oils extraction

For each variety, 5 grams of seeds were crushed in a mortar with a pestle. Anhydrous sodium sulfate was added to remove moisture remains. The lipid fraction was obtained by Soxhlet extraction using petroleum ether for 24 h. Each sample was extracted in duplicate.

2.3. Fatty acids composition

Methyl esters of fatty acids were obtained by hydrolysis with a methanolic solution of potassium hydroxide (11 g/L), BF_3/MeOH esterification and extraction with *n*-heptane. Fatty acids were analyzed in a gas chromatograph (GC) (Chrompack, model CP-9001), equipped with a split/splitless injector system and an autosampler (Chrompack CP-9050 model). Fatty acids separation was carried out on a CP Sil-88 column (Varian) with the dimensions 50 m \times 0.25 mm \times 0.19 μm . Helium was used as carrier gas at a pressure of 120 kPa. Injector and detector temperatures were 250 °C and 270 °C, respectively. Methyl esters separation was carried out with a temperature gradient between 140 and 220 °C and detection was performed with a flame ionization detector (FID). Collection and processing of the data was performed by the CP Maitre Chromatography Data System Program, Version 2.5 (Chrompack International BV). The identification of the chromatographic peaks was made by comparing the retention time of the sample peaks with a standard mixture of 37 fatty acid methyl esters (FAME Mix-37 Supelco).

2.4. Vitamin E

An accurate lipid portion was diluted in hexane, followed by the addition of the internal standard, tocol (Matreya, USA). Tocopherols (α , β , γ , δ) and tocotrienols (α , β , γ , δ) were determined on an HPLC Jasco chromatograph, equipped with a pump (PU-980 Model), a mixing chamber HG-980-30 and an autosampler Plus AS2057 model.

Detection was performed by the fluorescence detector FP2020 Plus model at 290 nm (excitation) and 330 nm (emission) wavelengths. A normal phase silica Supelcosil LC-SI (Supelco) column was used with a mobile phase of hexane:dioxan (97:3 v/v) at ambient temperature. Standard solutions of tocopherols and tocotrienols were graded according to their molar absorptivity. The linear working range was always checked for each of the compounds.

2.5. Antioxidant activity of the grape-seed oils

2.5.1. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity

The free radical scavenging activities of the grape-seed oils were determined by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radicals. Briefly, the oil samples were diluted in ethyl acetate (1:10) and 1 ml of this solution was added to 4 ml of DPPH solution (1 mM in ethyl acetate). After 30 min at room temperature in the dark, the absorbance was measured at 515 nm. Ethyl acetate was used instead of seed oils as a control. The ability to scavenge the DPPH radicals was determined using Equation 1.

$$DPPH \text{ scavenging effect } (\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{Sample}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

, where A_{DPPH} was the absorbance of the control reaction and A_{Sample} the absorbance in the presence of the sample.

2.5.2. ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) radical scavenging activity

The ABTS radical scavenging capacities of the grape-seed oils were determined as described by Zulueta, Esteve & Frígola (2009), based on the capacity of a sample to

inhibit this radical ($\text{ABTS}^{\cdot+}$) compared with a reference antioxidant standard. Briefly, the $\text{ABTS}^{\cdot+}$ radical was prepared by the reaction of 25 ml of ABTS solution (7 mM) with 440 μl of potassium persulphate (140 mM). This mixture was kept at room temperature in the dark for 12-16 hours, the time required for forming the radical. The $\text{ABTS}^{\cdot+}$ solution was then diluted with ethanol to obtain an absorbance of 0.700 (\pm 0.20) at 734 nm. 100 μl of each grape-seed oil was mixed with 2 ml of $\text{ABTS}^{\cdot+}$ solution and the absorbance was measured 6 min after mixing. The antioxidant capacities of the grape-seed oils were calculated by a standard curve obtained by measuring the absorbances of Trolox solutions (0.025 – 0.5 mM). The results were expressed in μmol of Trolox equivalents per mL of oil.

2.6. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the SPSS statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL), version 18.0. The normality and variance homogeneity were checked by Shapiro-Wilk and Levene tests. As both failed the non-parametric Kruskal-Wallis test was applied. When significant differences were detected, a One-Way Anova to rank means and the LSD Post-hoc test were applied. In order to join grape varieties in homogeneous groups a cluster analysis was performed taking into account the fatty acids composition (SFA, MUFA and PUFA) and vitamin E composition (tocopherols (α -, γ -, δ -) and tocotrienols (α -, β -, γ -, δ -)). The subjects were grouped after performing an Hierarchical Cluster Analysis, using the Nearest neighbor method and the squared Euclidean distance. The number of clusters to retain was established by the R-squared criteria, as described in Maroco (2003).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Grapes characterization

Grapes of the ten studied varieties were characterized in terms of the weights of the fruits, skins and seeds (Table 1). The grapes weights varied within and between varieties, the means ranging between 1.82 and 3.63 g for Tinto Cão and Aragonês, respectively. When considering the ranges, it was observed that Tinto Cão grapes were the lightest (1.26 to 2.60 g) whereas Aragonês were the heaviest (2.82 to 4.38 g). When considering the percentages of skins and seeds, higher values were obtained for the formers. It was also stated differences in the number of seeds between varieties, the means ranging from 1.53 for Trincadeira Preta and 3.30 for Tinto Cão. Generally, it was observed that the grapes presented 1 to 3-4 seeds; however, the varieties that had a higher number of seeds (ex. Tinto Cão and Touriga Nacional) did not show necessarily higher seed weights.

3.2. Grape seed oil contents

Oil contents, expressed in percentage of oil in dry basis, are reported in Table 2. The highest fat content (12.40 %) was obtained for Touriga Francesa, followed by Tinto Cão (12.06 %), values three times higher than that determined for Marufo (3.95 %). These values were smaller than those referred by Tangolar, Ozogul, Tangolar & Torun, 2009, of 10.45 % to 16.73 % for grape varieties grown in the experimental vineyard of the Cukurova University (Turkey). On the other hand, our values were similar to those obtained by Beveridge, Girard, Kopp & Drover, 2005. These authors referred a maximum oil content, extracted with petroleum ether, of 11.17 % for Cabernet

Sauvignon and a minimum of 6.64 % for Gamay grape varieties. In the present work, we reinforced that all grape varieties were collected in the same experimental vineyard, where all plants were grown under the same agronomic and environmental conditions. In this context, the observed variations were regulated only by the genetic factors.

3.3. Fatty acid composition

Table 2 shows the fatty acid contents of the ten grape-seed oils extracted in the present work. The lipid fraction of grape seeds was composed mainly by linoleic acid (C18:2) (63.0.-73.1 %), followed by oleic acid (C18:1), palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0). In addition to these main fatty acids, others were also identified and quantified, namely: myristic (C14:0), heptadecanoic (C17:0), arachidic (C20:0), behenic (C22:0), palmitoleic (C16:1), heptadecenoic (C17:1), eicosenoic (C20:1), alfa-linolenic (C18:3) and eicosadienoic (C20:2n6) acids. Minor *trans* fatty acids were detected. These results were similar to those reported by other authors that referred linoleic acid as the most abundant fatty acid in grape-seed oils. Tangolar et al. (2009) obtained values for linoleic acid between 62.5 and 69.24 % for seed oils of Alicante Bouschet and Muscat of Hamburg varieties, respectively; Lutterodt et al. (2011) between 66.0 % (Ruby red) and 75.3 % (Concord), Beveridge et al. (2005) between 66.76 % (Malbec) and 73.61 % (Merlot) and Pardo, Fernández, Rubio, Alvarruiz & Alonso, 2009, between 60.94 % (Tintorera Garnacha) and 69.16 % (Petit Verdot). The high content of linoleic acid in grape-seed oils is particularly interesting once linoleic acid is the major dietary fatty acid that regulates the low-density lipoprotein (LDL)-C metabolism by downregulating LDL-C production and enhancing its clearance (Wijendran et al., 2004).

When considering the general classification of the fatty acids (Table 2), it was found that the grape-seed oils had the following sequence: PUFA > MUFA > SFA, which is in

agreement with other studies (Lutterodt et al., 2011; Luque-Rodríguez et al., 2005; Tangolar et al., 2009; Matthäus, 2008; Pardo et al., 2009; Beveridge et al., 2005; Labuschagne & Hugo, 2008). By analyzing the lipid profiles of the ten varieties (Table 2), minor differences were observed. The variety with the highest contents on SFA and MUFA was Tinta Barroca, followed by Touriga Francesa. The highest values of PUFA were determined for Marufo, Aragonês and Tinta Carvalha, followed by Tinto Cão, Periquita and Trincadeira Preta. The ranges observed between varieties for SFA (11.64-14.94 %), MUFA (14.19-21.29 %) and PUFA (63.64 -73.53 %) were similar to those reported in other studies. Lutterodt et al. (2011) obtained SFA values between 9.66 - 12.6 %, MUFA 14.5 - 22.2 % and PUFA 66.3 - 75.8 %, as well as Tangolar et al. (2009) who determined values of SFA between 12.01 to 15.10 %, MUFA 18.19 to 23.29 % and PUFA 62.88-69.49 %, all in line with those determined in the present work. Regarding the PUFA/SFA ratio, it varied between 4.26 (Tinta Barroca) and 6.22 (Aragonês). This ratio is well above the minimum recommended by HMSO (1994) that is equal to 0.45. Our ratios were similar to the maximum of 5.64 reported by Tangolar et al. (2009) for Muscat Hamburg and Salt Creek grapes. The unsaturated fatty acids (MUFA+PUFA) determined in the varieties studied in the present work, represented 84.93 % (Tinta Barroca) to 89.03 % (Cornifesto) of the total fatty acids. Taking into account the high proportion of unsaturated fatty acids, the seed oils of the ten grape varieties studied in our work are highly recommended for human consumption, presenting a more favorable fatty acid profile than other vegetable oils. Furthermore, it what concerns *trans* fatty acids that might raise LDL cholesterol and lower HDL cholesterol concentrations, the oils analyzed presented very low percentages of these fatty acids.

A cluster analysis was performed to group the various grape varieties according to their seed oils fatty acid compositions (Figure 1). Four clusters were detected with a R-

Squared of 0.72. The first cluster included seven varieties, namely, Tinto Cão, Tinta Carvalha, Periquita, Aragonês, Touriga Nacional, Cornifesto and Trincadeira Preta, because the fatty acid composition was similar among them. The second and third clusters included Touriga Francesa and Tinta Barroca that were the varieties with the highest levels of SFA and MUFA. However, Tinta Barroca had a higher SFA content than Touriga Francesa, whereas MUFA contents were quite similar. Finally the fourth cluster included Marufo variety because it presented the highest PUFA and the lowest MUFA levels.

3.4. Vitamin E composition (Tocopherols and Tocotrienols)

Six distinct chromatographic peaks were observed in the seed oils corresponding to tocopherols and tocotrienols. Figure 2 shows a representative chromatogram obtained for the grape-seed oil of Aragonês variety, where a good resolution can be observed. Peaks 1, 2, 3, 4, 5 and 7 corresponded to α -tocopherol, α -tocotrienol, γ -tocopherol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol and δ -tocotrienol, respectively. Peak 6 was of the internal standard, tocol. The δ -tocopherol peak is not represented in the chromatogram because this compound was only detected in trace amounts in Aragonês variety. Vitamin E composition of the grape-seed oils is described in Table 3. Seven compounds were determined in almost all seed oils, including three tocopherols (α -, γ -, δ -) and four tocotrienols (α -, β -, γ -, δ -). All seed oils were richer in tocotrienols than tocopherols. γ -tocotrienol was the most abundant, followed by α -tocotrienol and α -tocopherol. β -tocopherol was not detected in any of the seed oils, whereas δ -tocopherol was only detected in small amounts in five varieties, namely Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional, Cornifesto and Periquita. The seed oil of Marufo variety was the one that presented the highest global vitamin E amount. The maximum value obtained for α -

tocopherol in the present work was similar to that described by Crews et al. (2006) for oils of French grape seeds (229 mg/kg). Lower amounts were determined by these authors in Italian (160 mg/kg) and Spanish (75 mg/kg) varieties. Crews et al (2006) also observed that γ -tocotrienol was the highest tocol-like compound which is in line with the reported in the present study. Regarding the total content of tocopherols and tocotrienols (Table 3), the values ranged between 749 and 2192 mg/kg of oil that were higher than those described in Codex Stan 210-1999 for grape-seed oil (240-410 mg/kg) (Codex Alimentarius Commission, 1999). In Figure 3 the concentration values of the two main tocopherols (α -, γ -tocopherol) and tocotrienols (α -, γ -tocotrienol) determined in grape-seed oils are represented. α -tocopherol and γ -tocotrienol were those compounds that presented the highest variability between varieties, being Marufo variety the one that presented the highest values of both compounds. Regarding γ -tocopherol, lower values and lower variability were observed when compared to α -tocopherol. It should be mentioned that for γ -tocopherol, Tinto Cão was the variety that presented the highest concentration. In terms of α -tocotrienol, a lower variability and lower values were obtained when compared to γ -tocotrienol. Marufo was the variety that presented the highest α -tocotrienol concentration.

Table 3 also indicates that grape-seed oils of the ten varieties studied in this work are an excellent source of vitamin E (148 to 358 α -tocopherol equivalents). The inclusion of 10 g of Touriga Francesa or of 4.2 g of Marufo variety seed oil in human diet per day will supply 10 % of the Recommended Dietary Allowances (RDA) of vitamin E for adults. RDA for both men and women is 15 mg (35 μ mol)/day of α -tocopherol (National Research Council, 1989). Vitamin E brings several health benefits, as it is a powerful lipid-soluble antioxidant. It is able to protect the human body's cell from the damage cause by free radicals. In spite of this the grape-seed oils of the ten varieties collected on

Portugal may be used to delay the body's aging process and to prevent the occurrence of some chronic diseases. After performing a dendrogram to vitamin E contents of the ten varieties studied in this work (Figure 1), four clusters were detected with R-squared equal to 0.91, through which a significant proportion of the total variation was retained. The first cluster identified was constituted by six grape-seed oils, namely Tinta Carvalha, Trincadeira Preta, Periquita, Tinta Barroca, Aragonês and Cornifesto varieties, because all of them had similar tocopherol contents. Touriga Francesa and Touriga Nacional were included in cluster 2 because both varieties had comparatively lower α - and γ -tocotrienol contents (Figure 1). The grape-seed oil of Tinto Cão variety was included in cluster 3 due to its high γ -tocopherol content (45.0 mg/kg). The last cluster was represented by Marufo. This variety presented the highest levels of γ -tocotrienol, α -tocotrienol, α -tocopherol, β -tocotrienol and δ -tocotrienol (Table 4 and Figure 4).

3.5 Antioxidant activity of grape-seed oils

To characterize the antioxidant potential of the seed oils of the ten grape varieties, DPPH and ABTS radical scavenging activities were measured, being the results presented in Table 4. DPPH radical scavenging activities varied between 38.68 and 69.89 %.

Regarding the values of the antioxidant capacity of the grape-seed oils obtained by ABTS assay, similar results (0.334 to 0.489 μ mol Trolox/mL oil) were obtained for the ten varieties. The lowest antioxidant capacity was determined for Tinta Barroca, whereas the highest value for Aragonês, Cornifesto and Trincadeira Preta.

4. CONCLUSIONS

The present study demonstrated that the seed oils of ten Portuguese grape varieties are a very good source of vitamin E and have an interesting fatty acid profile and high antioxidant potential, despite some differences between them. Their high amounts of tocopherols and linoleic acid could open important applications to those oils. Grape-seed oils have compounds with beneficial health effects, allowing the valorization of one waste product very common and usually not valorized in Portugal. Moreover, as the different varieties originated seed-oils with different compositions, several types of grape-seed oils can be obtained, increasing the number of new products that can be developed from these.

Acknowledgements

Authors are grateful to the POCTEP - Programa Cooperação Transfronteiriça Espanha-Portugal 2007-2013 for financial support through the project "Mejora de la competitividad del sector agrario de Castilla y León y Norte de Portugal através de la innovación y el desarrollo de productos diferenciados de alto valor".

REFERENCES

- Adámez, J. D., Samino, E. G., Sánchez, E. V., & González-Gómez, D. (2012). In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera L.*). *Food Control*, 24, 136-141.
- Bail, S., Stuebiger, G., Krist S., Unterweger, H., & Buchbauer, G. (2008). Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols. *Food Chemistry*, 108, 1122–1132.
- Baydar, N. G., & Ozkan, G. (2006). Tocopherol contents of some Turkish wine by-products. *European Food Research and Technology*, 223, 290–293.
- Beveridge, T. H. J., Girard, B., Kopp, T., & Drover, J. C. G. (2005). Yield and Composition of Grape Seed Oils Extracted by Supercritical Carbon Dioxide and Petroleum Ether: Varietal Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1799-1804.
- Choi, Y., & Lee, J. (2009). Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction. *Food Chemistry*, 114, 1386–1390.
- Codex Alimentarius Commission (1999). *Codex Standard for named vegetable oils, Codex stan 210 -1999*.

- Crews, C., Hough, P., Godward, J., Brereton, P., Lees, M., Guiet, S., & Winkelmann, W. (2006). Quantitation of the Main Constituents of Some Authentic Grape-Seed Oils of Different Origin. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6261-6265.
- FAOSTAT, (2010). <http://faostat.fao.org>
- Freitas, L. S., Jacques, R. A., Richter, M. F., Silva, A. L., & Caramão, E. B. (2008). Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. *Journal of Chromatography A*, 1200, 80–83.
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1580-1586.
- HMSO (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease. *Report on health and social subjects* n° 46. London: HMSO.
- Kim, H., Kim, S. G., Choi, Y., Jeong, H. S., & Lee, J. (2008). Changes in Tocopherols, Tocotrienols, and Fatty Acid Contents. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 487–489.

- Labuschagne, M.T., & Hugo, A. (2010). Oil content and fatty acid composition of cactus pear seed compared with cotton and grape seed. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 93–100.
- Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., & Yu, L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, 128, 391-399.
- Luque-Rodríguez, J. M., Castro, M. D. L., & Pérez-Juan, P. (2005). Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*, 68, 126–130.
- Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 112, 551–559.
- Maroco, J. (2003). *Análise Estatística com utilização do SPSS* (2th ed.). Portugal, Lisboa: Edições Sílabo.
- Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 645–650.
- McLaughlin, P. J., Weihrauch, J. (1979). Vitamin E content of foods. *Journal of American Dietetic Association*, 75, 647-665.

National Research Council. (1989), *Recommended Dietary Allowances*. (10th Ed.).

Washington: National Academy Press.

Pardo, J. E., Fernández, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., & Alonso, G. L. (2009).

Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*).

European Journal of Lipid Science and Technology, 111, 188-193.

Tangolar, S. G., Ozogul, Y., Tangolar, S., & Torun, A. (2009). Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes.

International Journal of Sciences and Nutrition, 60, 32-29.

Wijendran, V., & Hayes, K. C. (2004). Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*, 24 , 597–615.

Zuleata, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114, 310-316.

Figure Captions

Figure 1 – Dendrograms of the ten grape-seed oils varieties taking into account their fatty acids (A) and vitamin E (B) compositions.

Figure 2 - Tocols chromatogram of Aragonês grape-seed oil. Peaks: 1, α -tocopherol; 2, α -tocotrienol; 3, γ -tocopherol; 4, β -tocotrienol; 5, γ -tocotrienol; 6, internal standard; 7, δ -tocotrienol.

Figure 3 - Tocopherols and tocotrienols of seed oils of ten grape varieties (T cão – Tinto Cão; Arag - Aragonês; T fra - Touriga Francesa; Mor - Marufo; T nac - Touriga Nacional; T car - Tinta Carvalha; Cor - Cornifesto; T pre – Trincadeira Preta; Per – Periquita, T bar - Tinta Barroca).

Table 1 – Some parameters of the studied grape varieties

Varieties	Weight grape (g)	Weight skin (g)	% skin	Number Seed	Weight seed (g)	% Seed
Tinto Cão	1.82±0.31 (1.26-2.60)	0.40±0.07 (0.26-0.55)	22.45±3.41 (13.32-30.16)	3.30±0.73 (2.00-4.00)	0.13±0.04 (0.06-0.18)	7.36±1.35 (3.88-9.37)
Aragonês	3.63±0.46 (2.82-4.38)	0.56±0.08 (0.42-0.73)	15.51±2.38 (11.59-20.52)	2.35±0.81 (1.00-4.00)	0.09±0.03 (0.05-0.18)	2.53±0.74 (1.60-4.19)
Touriga Francesa	2.93±0.58 (2.10-4.24)	0.37±0.09 (0.26-0.56)	13.16±3.76 (6.55-21.60)	2.30±0.92 (1.00-4.00)	0.10±0.03 (0.05-0.17)	3.46±0.66 (2.18-4.71)
Marufo	3.24±0.44 (2.37-4.03)	0.41±0.06 (0.30-0.52)	12.68±2.17 (8.39-15.99)	1.60±0.88 (1.00-4.00)	0.08±0.09 (0.04-0.43)	2.46±2.67 (1.07-13.41)
Touriga Nacional	2.27±0.31 (1.62-2.87)	0.29±0.08 (0.10-0.44)	12.95±3.43 (4.81-17.92)	3.10±0.79 (2.00-5.00)	0.11±0.03 (0.07-0.17)	5.00±1.03 (3.33-6.87)
Tinta Carvalha	2.77±0.44 (2.12-3.77)	0.44±0.10 (0.25-0.59)	16.10±4.03 (9.27-22.90)	2.20±0.70 (1.00-3.00)	0.09±0.03 (0.04-0.13)	3.10±0.93 (1.66-4.92)
Cornifesto	1.92±0.21 (1.52-2.31)	0.37±0.06 (0.25-0.50)	19.41±2.48 (15.65-24.40)	2.20±0.75 (1.00-3.00)	0.09±0.03 (0.04-0.14)	4.74±1.29 (2.25-7.11)
Trincadeira Preta	2.24±0.51 (1.16-3.12)	0.25±0.07 (0.15-0.39)	11.34±3.36 (7.44-22.91)	1.53±0.77 (1.00-3.00)	0.04±0.04 (0.01-0.19)	2.01±2.00 (0.83-10.02)
Periquita	3.05±0.44 (2.27-4.15)	0.34±0.07 (0.21-0.45)	11.22±1.79 (7.47-14.83)	2.20±0.83 (1.00-4.00)	0.15±0.19 (0.04-0.75)	5.14±7.03 (1.64-27.59)
Tinta Barroca	2.79±0.53 (2.27-4.22)	0.56±0.13 (0.21-0.90)	20.56±5.76 (7.47-32.30)	2.20±0.70 (1.00-3.00)	0.08±0.03 (0.04-0.13)	2.91±0.60 (1.64-4.02)
Mean	2.67	0.40	16.81	2.30	0.10	3.87

Table 2 – Oil contents (% , v/m dry basis) of grape seeds and fatty acids composition of grape-seed oils.

	Grapes varieties									
	Tinto cão	Aragonês	Touriga Francesa	Marufo	Touriga Nacional	Tinta Carvalha	Cornifesto	Trincadeira Preta	Periquita	Tinta Barroca
Oil content (% , v/m dry basis)	12.06±0.36	10.78±0.05	12.40±0.01	3.95±0.02	11.12±0.88	8.49±0.36	7.79±0.42	9.89±0.92	7.24±0.58	6.41±0.65
C14: 0	0.06 a (0.05-0.09)	0.06 a (0.05-0.06)	0.13 b (0.09-0.18)	0.16 b (0.14-0.18)	0.07 a,c (0.06-0.08)	0.08 c,d (0.08-0.10)	0.07 a (0.06-0.08)	0.10 b,d (0.09-0.10)	0.07 a,c (0.05-0.09)	0.12 b (0.10-0.14)
C16: 0	7.00 a (6.53-7.44)	7.28 a,b (7.23-7.43)	7.49 c,d (7.43-8.59)	7.01 a,e (6.96-7.06)	6.99 a (6.86-7.33)	6.71 a (6.69-6.80)	6.71 f (6.69-6.80)	7.34 b,d (7.30-7.38)	6.17 f (6.09-6.,25)	8.50 c (8.00-9.04)
C16:1	0.15 a,b,c (0.14-0.15)	0.13 b (0.11-0.14)	0.20 d,e (0.20-0.22)	0.22 e (0.21-0.24)	0.18 d,f (0.17-0.20)	0.17 a,f (0.14-0.19)	0.14 a,b (0.09-0.17)	0.17 f (0.14-0.22)	0.18 c,f (0.16- 0.19)	0.24 e (0.20-0.30)
C17: 0	0.07 a (0.06-0.08)	0.07 a (0.06-0.08)	0.09 b,c (0.08-0.09)	0.14 b (0.14-0.14)	0.08 a,c,d (0.08-0.08)	0.07 a (0.06-0.08)	0.07 a,e (0.03-0.09)	0.08 a,e (0.07-0.08)	0.08 b,d (0.08-0.09)	0.10 b (0.08-0.11)
C17:1	0.04 a (0.04-0.04)	0.02 a (0.00-0.004)	0.04 a (0.04-0.06)	tr	0.04 a (0.03-0.05)	0.03 a (0.03-0.004)	0.03 a (0.03-0.04)	0.03 a (0.03-0.05)	0.01 a (0.00-0.04)	0.04 a (0.03-0.05)
C18: 0	4.85 a,b (4.16-5.88)	4.09 c (3.95-4.19)	4.89 b,d (4.81-4.96)	4.58 a,c (4.48-4.68)	4.72 a,d (4.68-4.74)	4.65 a,c (4.62-4.69)	4.72 a,d (4.60-5.01)	4.78 a,b (4.70-4.85)	5.04 b,e (5.00-5.08)	5.91 e (5.13-6.74)
C18: 1	16.1 a (14.6-17.1)	14.8 b,c (14.6-15.3)	20.8 d (20.5-20.9)	13.7 (13.6-13.99c)	20.3 d (20.1-20.4)	15.2 a,b (14.9-15.49)	18.7 e (18.3-18.7)	17.1 f (16.0-17.3)	17.1 f (17.0-17.2)	20.8 d (19.8-22-0)
C18:1t	0.04 a,b,c (0.04-0.05)	0.05 a,c (0.00-0.15)	tr	0.16 (0.15-0.18) a,b	tr	tr	0.00 c,d (0.00-0.09)	0.01 c,e (0.00-0.02)	0.01 d,c (0.00-0.02)	0.04 a,c (0.00-0.10)
C18: 2cc	70.8 a (68.7-72.4)	72.3 b (71.8-72.6)	65.3 c,d (64.6-65.5)	73.1 b (72.8-73.3)	66.6 c (66.0-66.8)	71.9 b (71.8-72.3)	69.4 e (68.4-69.5)	69.7 a,e (69.1-70.69)	70.2 a,e (70.1-70.3)	63.0 d (60.4-65.4)
C18: 2t	0.12 a (0.11-0.13)	0.13 a (0.11-0.14)	0.06 b,d (0.00-0.09)	tr	0.05 b (0.04-0.05)	0.07 b,e (0.07-0.07)	0.08 b,c,e (0.05-0.10)	0.08 a,d,e (0.07-0.11)	0.08 a,c,d,e (0.07-70.3)	0.16 a,c (0.08-0.25)
C18: 3	0.47 a,b (0.39-0.48)	0.51 a (0.47-0.55)	0.45 b,c (0.44-0.48)	0.43 b,d,e (0.40-0.46)	0.46 a,b (0.46-0.48)	0.47 a,c,d (0.45-0.51)	0.42 b,d,g (0.39-0.51)	0.36 e,g,h (0.33-0.45)	0.49 a (0.50-0.50)	0.43 b,h (0.42-0.45)
C20: 0	0.23 a,b (0.21-0.25)	0.22 a,b,c (0.21-0.25)	0.20 d,e (0.16-0.23)	0.27 f (0.27-0.28)	0.18 d (0.18-0.19)	0.20 c,d (0.18-0.249)	0.21 a,b,c,e (0.21-0.24)	0.22 a,c,e (0.20-0.22)	0.24 b,f (0.22-0.26)	0.26 f (0.25-0.32)
C 20:1	0.17 a,b,c (0.16-0.20)	0.19 a (0.18-0.20)	0.18 a,b (0.17-0.22)	0.11 (0.11-0.12) c	0.22 d (0.20-0.24)	0.20 e,d (0.20-0.24)	0.22 d (0.21-0.24)	0.19 a (0.18-0.20)	0.19 a,e (0.18-0.20)	0.17 b,c (0.16-0.17)
C20: 2n6	0.05 a (0.05-0.06)	0.05 a,b,c (0.04-0.06)	tr	tr	0.05 a,b (0.04-0.06)	0.04 a,c (0.04-0.06)	0.04 b,c,f,g,h (0.04-0.05)	0.05 a,b,c,d (0.04-0.07)	0.04 b,c,e,f,g,h (0.03-0.05)	0.05 a,h (0.04-0.07)5
C22: 0	0.04 a,b,c (0.00-0.12)	0.07 b,d (0.05-0.12)	0.06 a,b (0.06-0.07)	tr	0.06 a,b,f (0.06-0.07)	0.05 a,d,c (0.05-0.05)	0.09 f (0.06-0.09)	0.05 a,b,f,g (0.05-0.08)	0.04 c,g (0.03-0.05)	0.05 b,d,f,g (0.05-0.08)
Total SFA	12.25	11.73	12.86	12.16	12.10	11.76	11.87	12.57	11.64	14.94
Total MUFA	16.50	15.19	21.22	14.19	20.74	15.60	19.09	17.50	17.49	21.29
Total PUFA	71.44	72.99	65.81	73.53	67.16	72.48	69.94	70.19	70.81	63.64
PUFA/SFA	5.83	6.22	5.12	6.05	5.55	6.16	5.89	5.58	6.08	4.26

nd- not detect ; Tr -trace amount

Table 3 - Tocopherols and tocotrienols (mg/kg of oil) composition of the ten grape-seed oils.

	Tinto Cão	Aragônes	Touriga Francesa	Marufo	Touriga Nacional	Tinta Carvalha	Cornifesto	Trincadeira Preta	Periquita	Tinta Barroca
Tocopherols (1)										
α -tocopherol	195 (116-223) a	138(128-149) b	121 (102-139)b	244(123-275)c	162 (157-168)d	189(170-210) a	139(120-159)b	205(199-211)a,c	85.5 (70.0-93.0)e	126 (123-127)b
β - tocopherol	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
γ - tocopherol	45.0 (43.0-47.0)a	2.50(3.00-2.00)b	9.00(7.00-11.0)c	19.0(16.0-23.0)d	20.0 (18.0-23.0)d,f	11.0 (11.0-12.0)c	4.50(4.00-5.00)b	19.0 (17.0-20.0)d	28.0(28.0-28.0)e	21.5(21.0-23.0)f
δ - tocopherol	1.00(1.00-3.00)a	tr	0.50(0.00-1.00)c	tr	1.00(1.00-2.00)a	nd	1.00(1.00-2.00)a	tr	0.50 (0.00-1.00)c	nd
Tocotrienols (2)										
α -tocotrienol	208(176-227) a	222(216-232)a	69(56.0-82.0)b	319(297-341)c	118(110-127) b,e	240.(212-208)a	183 (157-208)d	214(209-219)a	183 (175-193)d	147(136-160)d,e
β - tocotrienol	7.00(1.00-7.00)a	23.0(22.0-25.0)c	4.00(1.00-5.00)a	17.5(13.0-21.0)d	8.00 (7.00-9.00)e	14.5 (12.0-15.0)f	16.0 (15.0-17.0)d	11.5(10.0-12.0)g	12.5(12.0-13.0)f,g	7.50 (7.00-8.00)b,e
γ - tocotrienol	751(719-766)a	1041(991-1103)b,c	540(449-630)d	1575(1517-1630)c	499(436-560)d	783 (753-808)a	989(910-1067)b,e	756(751-760)a	891(886-898)e	780(742-816)a
δ - tocotrienol	8.00 (8.00-10.0)a	9.00(8.00-10.0)a,b	6.00(6.00-7.00)c	17.5(17.0-19.0)d	9.50(9.00-12.0)b,e	10.0(10.0-11.0)e	17.5(16.0-18.0)d	10.0(9.00-12.0)e	13.0 (9.00-12.0)f	12.5(11.0-14.0)f
Total (mg/kg) (1+2)	1215	1436	749	2192	818	1247	1333	1216	1212	1094
Vitamin E activity^a (expressed as α -tocopherol equivalents)	269,77	216,41	148,20	358,23	204,80	270,65	205,05	279,24	152,69	180,42

Nd- not detected; Tr -trace amount

^a The conversion factors for vitamin E activity were as follows: α - tocopherol \times 1.00, β - tocopherol \times 0.40, γ - tocopherol \times 0.10, δ - tocopherol \times 0.01, α -tocotrienol \times 0.30, β - tocotrienol \times 0.05, and γ - tocotrienol \times 0.01 (McLaughlin and Weihrauch, 1979)

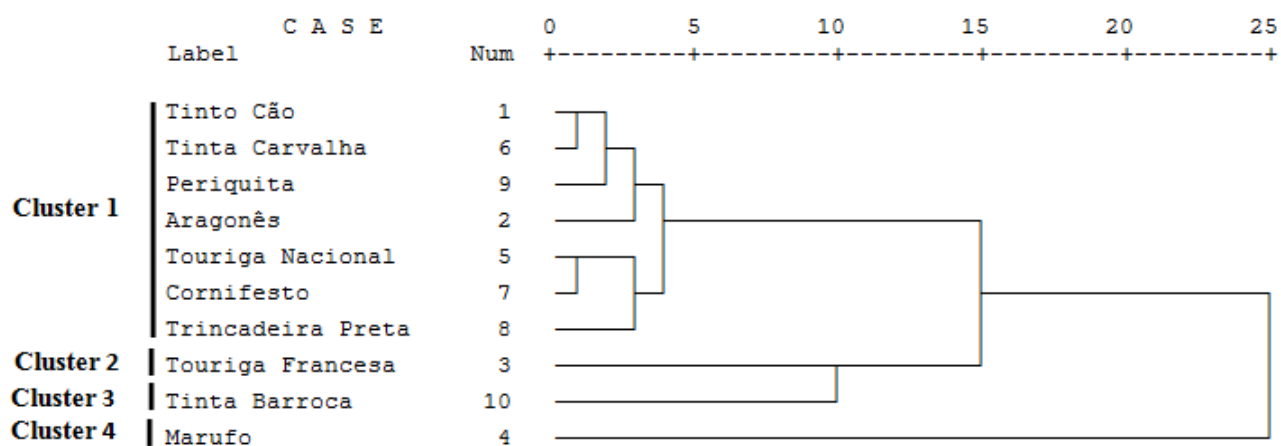
Table 4 – Antioxidant activity of the ten grape-seed oils.

Varieties	ABTS ($\mu\text{mol Trolox/ mL oil}$)	DPPH Radical scavenging effect (%)
Tinto Cão	0.477 \pm 0.001	65.39 \pm 0.14
Aragonês	0.489 \pm 0.000	59.41 \pm 0.54
Touriga Francesa	0.486 \pm 0.001	50.74 \pm 0.52
Marufo	0.482 \pm 0.000	67.83 \pm 0.15
Touriga Nacional	0.391 \pm 0.001	56.20 \pm 0.52
Tinta Carvalha	0.480 \pm 0.000	51.49 \pm 0.09
Cornifesto	0.489 \pm 0.000	69.89 \pm 0.74
Trincadeira Preta	0.489 \pm 0.000	38.68 \pm 0,09
Periquita	0.483 \pm 0.000	50.65 \pm 0.17
Tinta Barroca	0.334 \pm 0.000	53.38 \pm 0.09

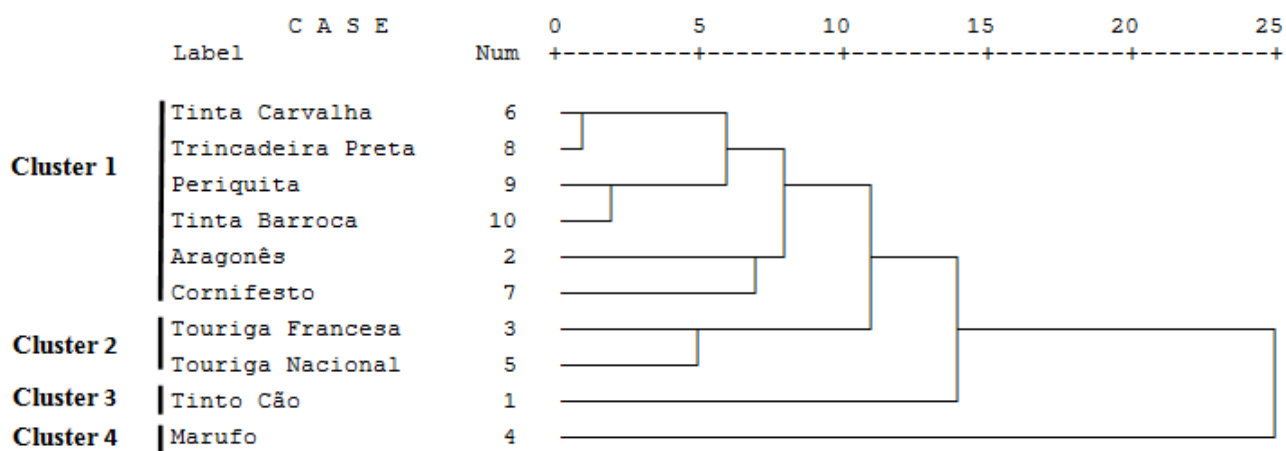
Highlights

- Fatty acids and vitamin E compositions of ten grape-seed oils were determined;
- Grape-seed oils are rich in unsaturated fatty acids and particularly in linoleic acid;
- Grape-seed oils are a good source of γ -tocotrienol, α -tocopherol and α -tocotrienol;
- Grape-seed oils presented interesting DPPH and ABTS radical scavenging activities.

ACCEPTED MANUSCRIPT

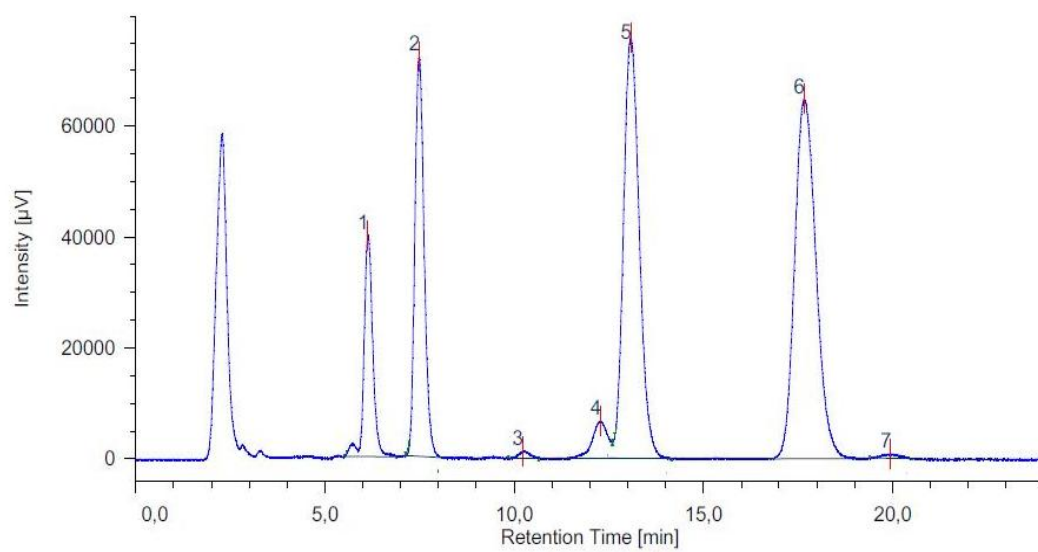


(A)



(B)

Figure 1

**Figure 2**

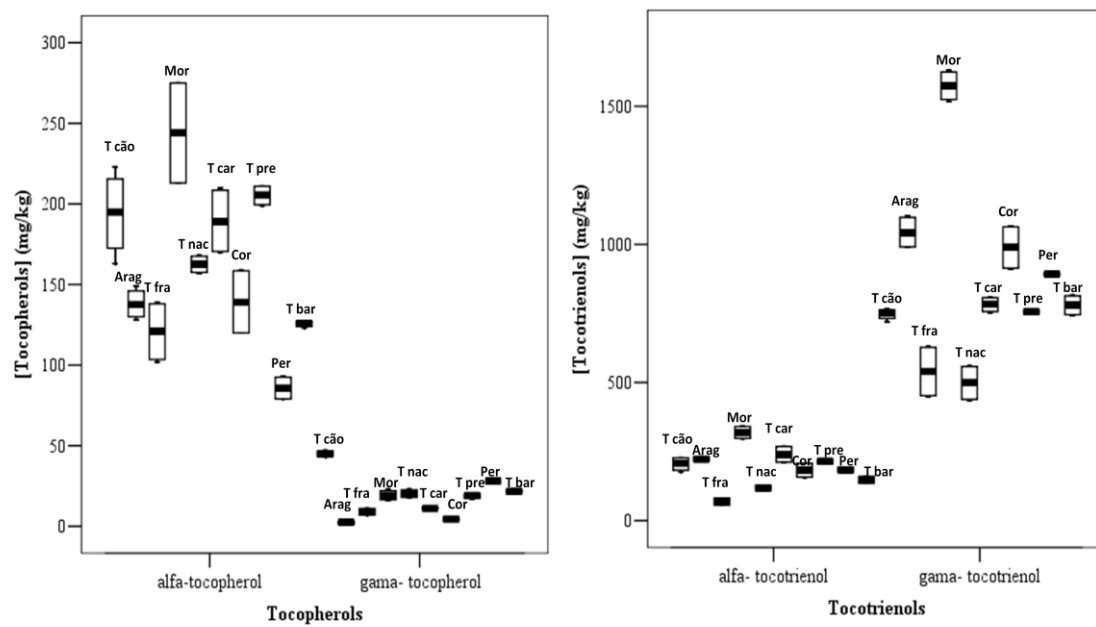


Figure 3

Anexo II

Nome: _____ Data: ___ / ___ / ___

Sexo: F ___ M ___ Idade: _____ Profissão: _____

Por favor, avalie as amostras fornecidas utilizando a escala a baixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto.

Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.

Deve-se enxaguar a boca após cada degustação das amostras e esperar 30-40 segundos antes de realizar nova prova.

Amostra: _____

1. Aparência



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

2. Cor



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

3. Paladar



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

4. Acidez



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

5. Doçura



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

7. Apreciação Global



Desgostei extremamente

Gostei extremamente

Obrigada pela sua participação!

Figura 1- Exemplo da ficha elaborada para a avaliação organoléptica das sete geleias de uva elaboradas.

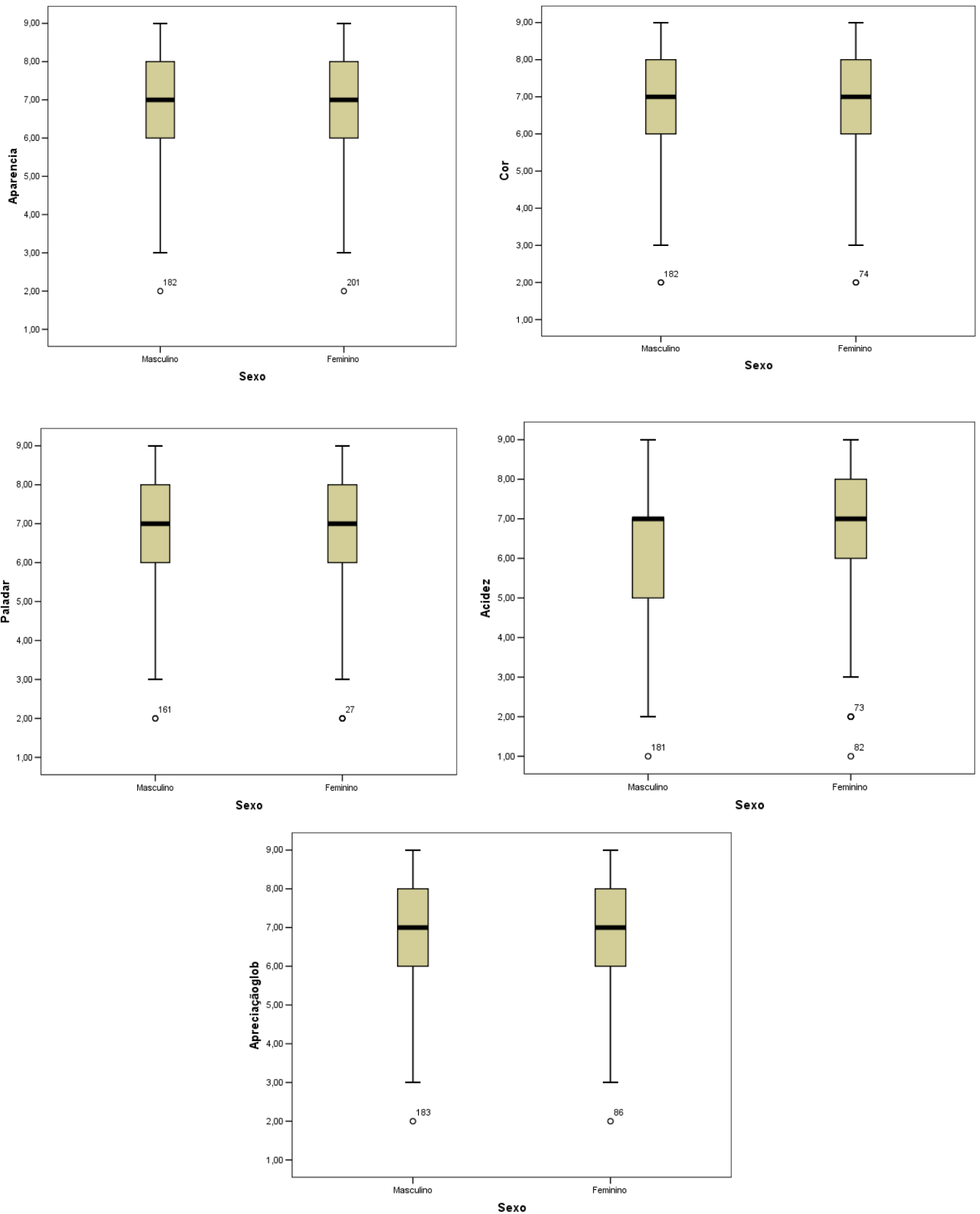


Figura 2- Comparação dos parâmetros aparência, cor, paladar, acidez e apreciação global entre o sexo masculino e feminino, através dos gráficos *box-plot*.

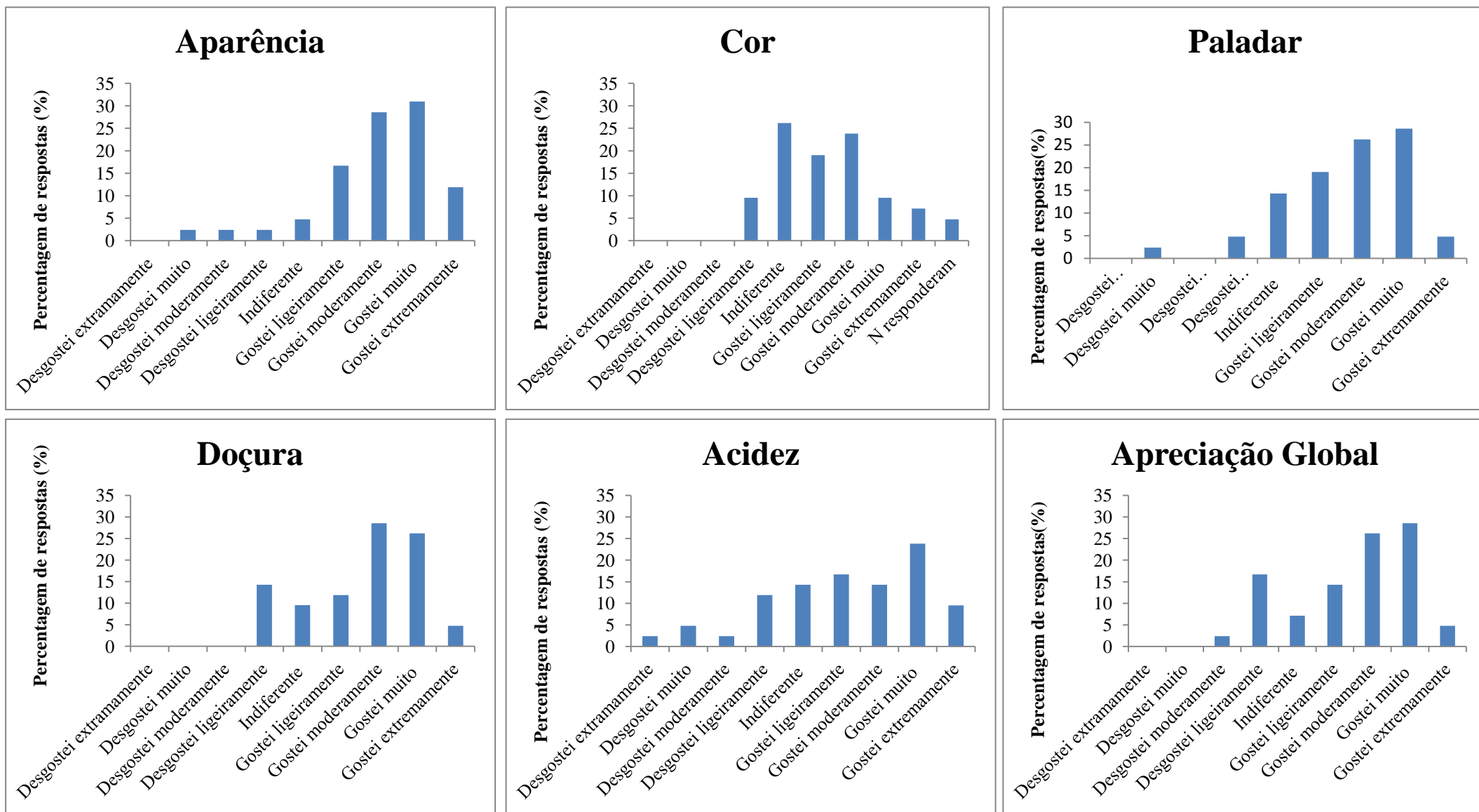


Figura 3 – Percentagem de respostas dadas pelos provadores em relação à geleia da casta **Touriga Nacional** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, doçura, acidez e apreciação global.

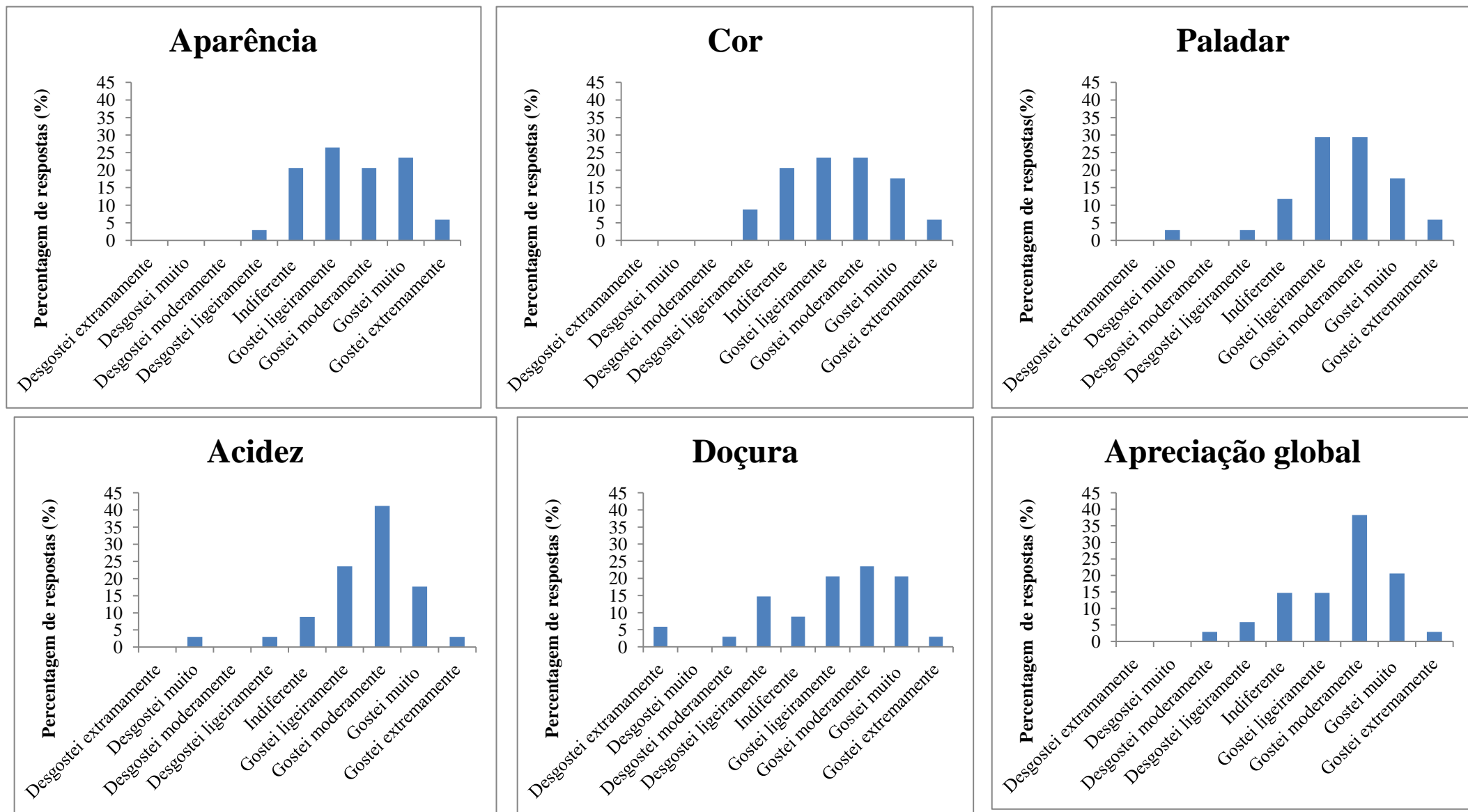


Figura 4 – Percentagem de respostas dadas pelos provadores em relação à geleia da casta **Marufo** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.

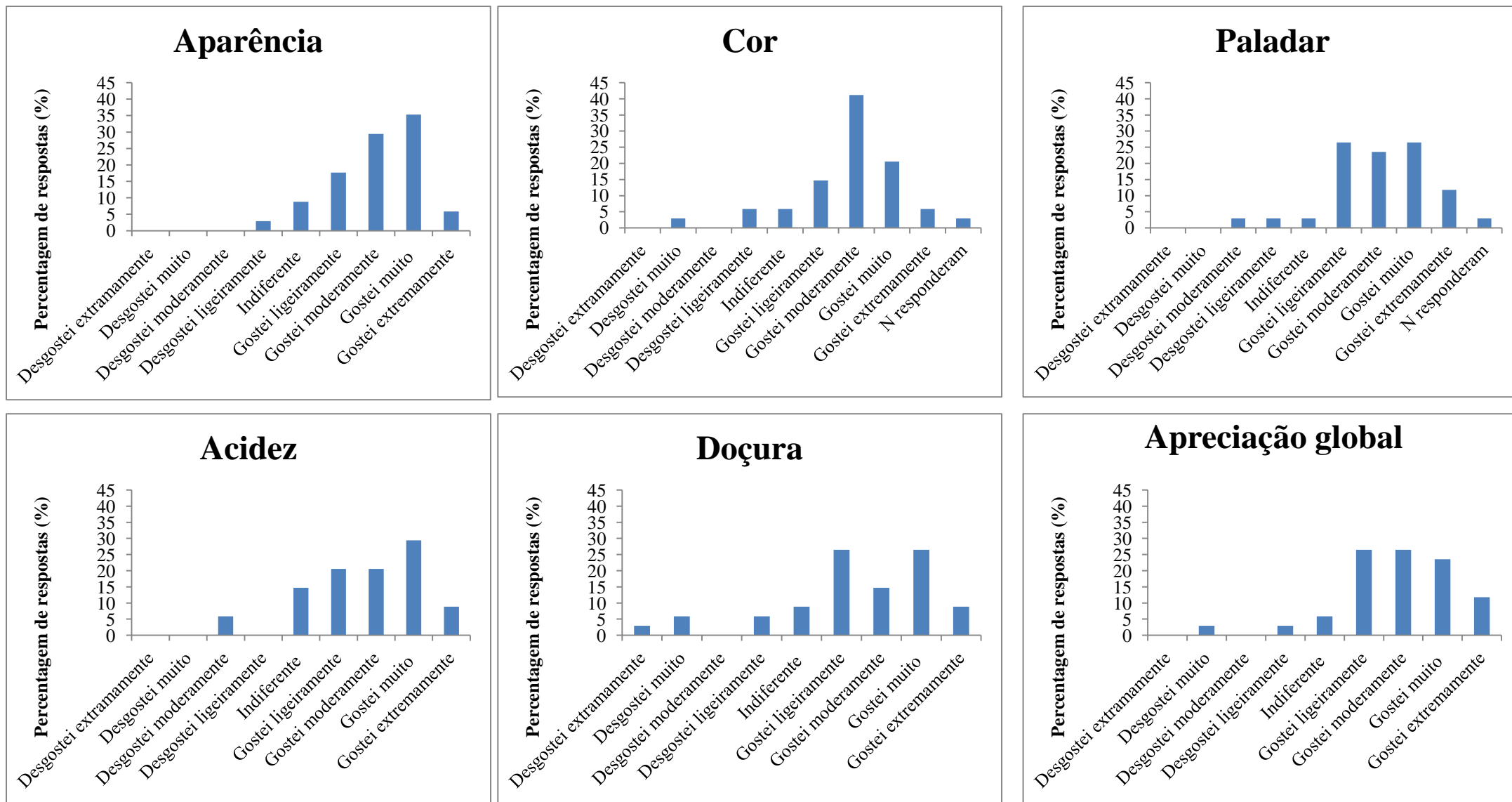


Figura 5 – Percentagem de respostas dadas pelos provadores em relação à geleia da casta **Periquita** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.

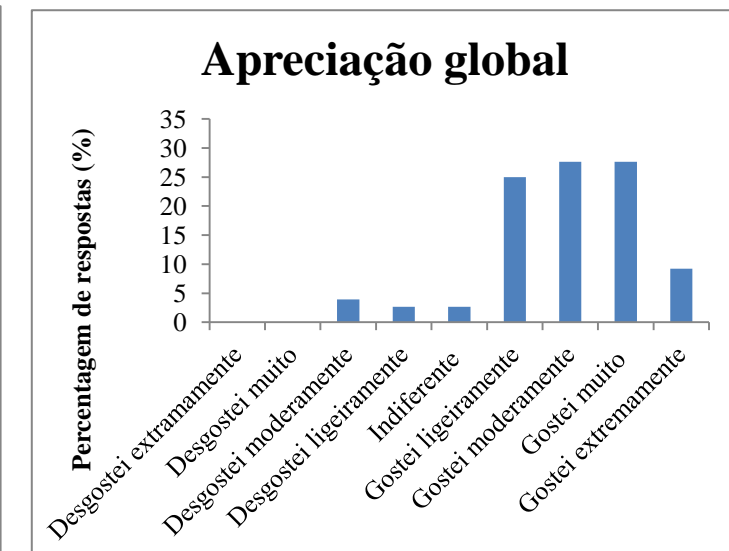
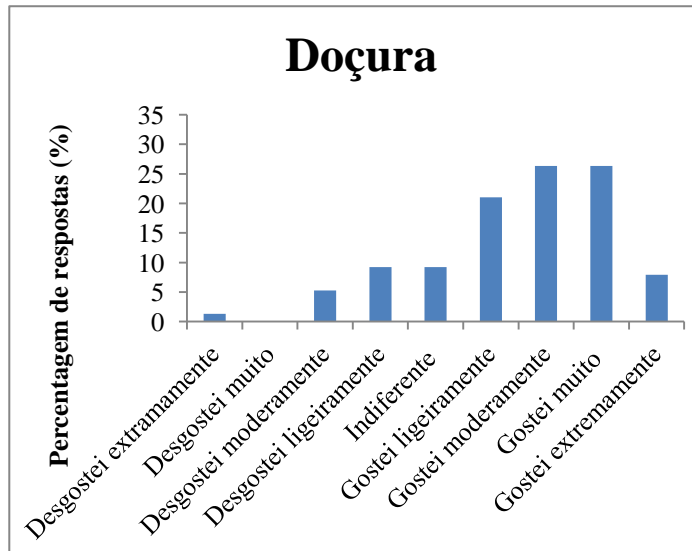
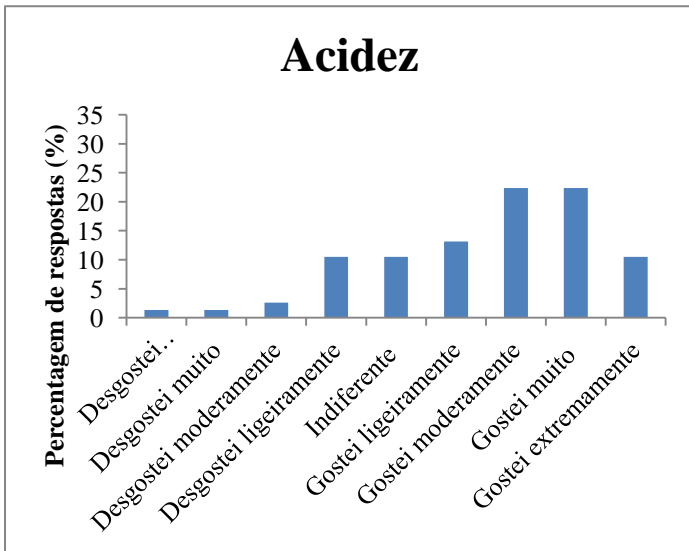
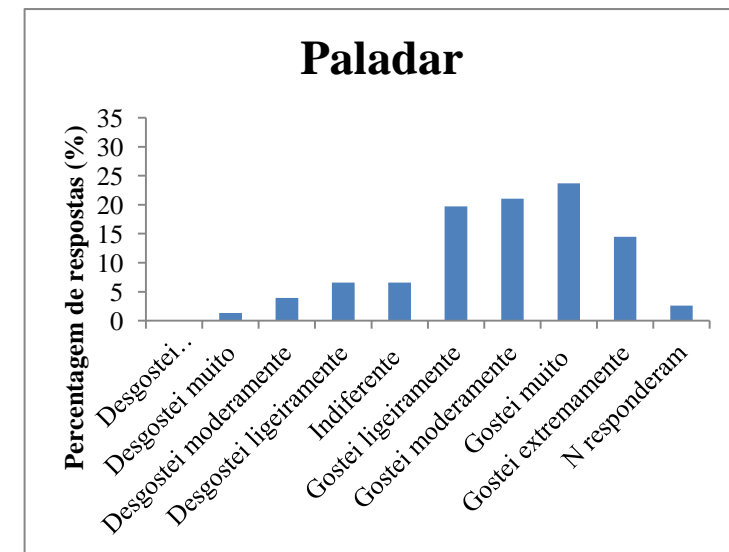
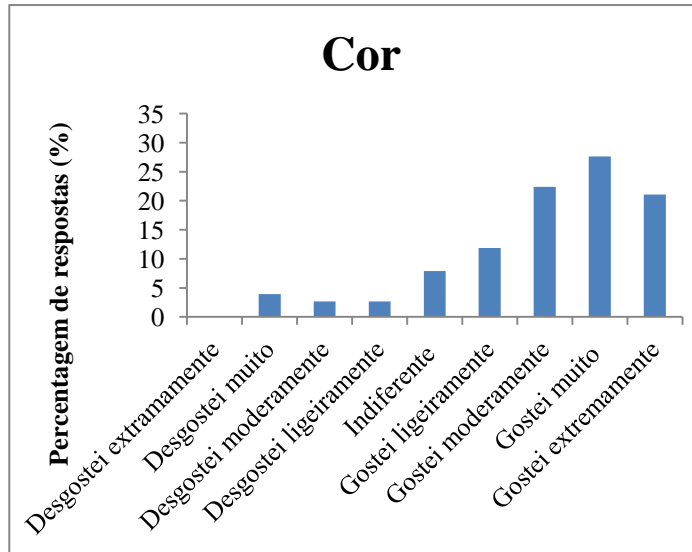
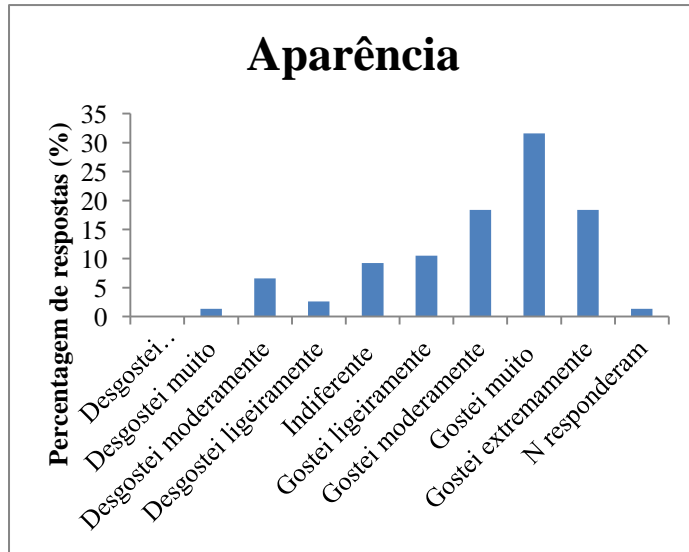


Figura 6 – Percentagem de respostas dadas pelos provedores em relação à geleia da casta **Tinta Barroca** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.

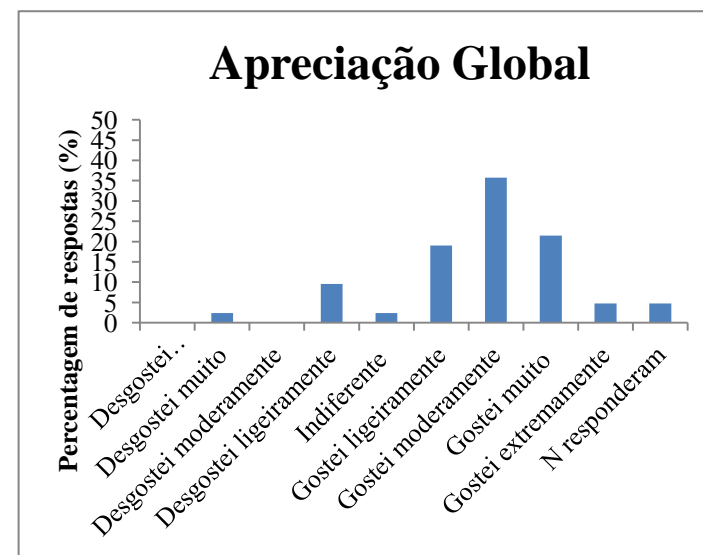
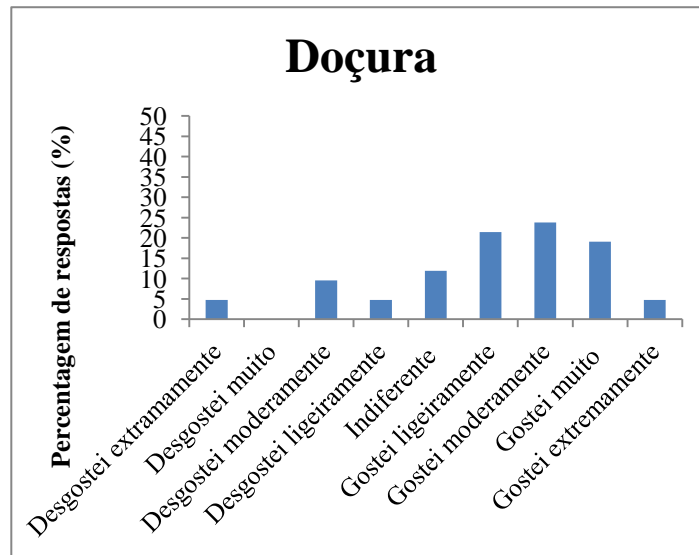
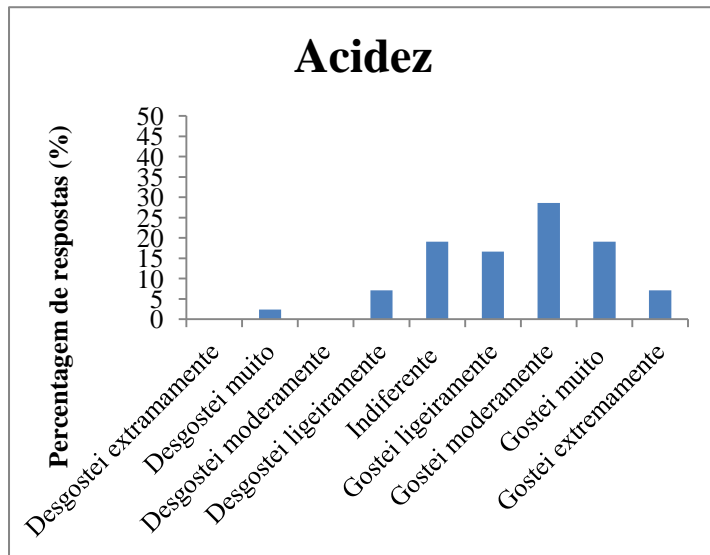
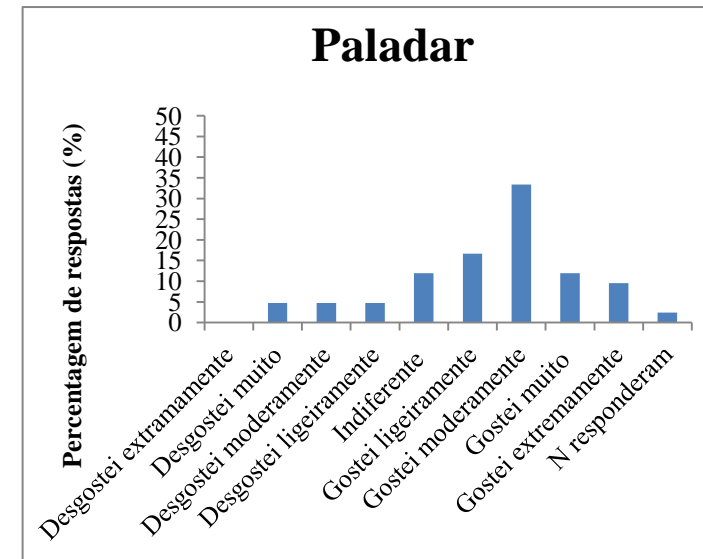
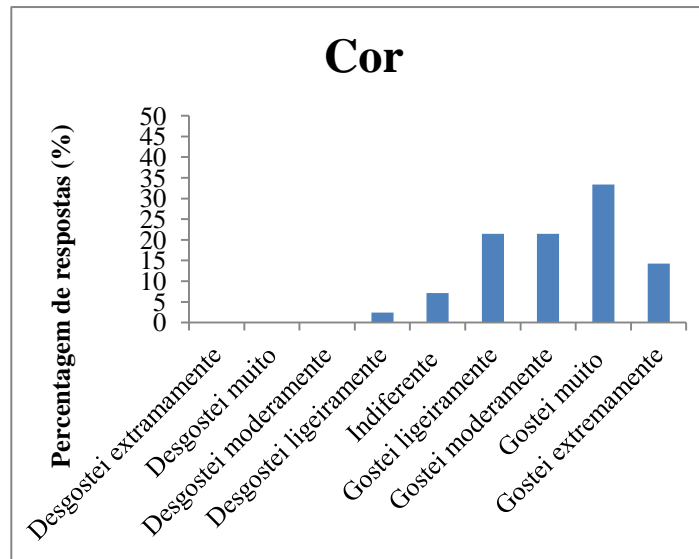
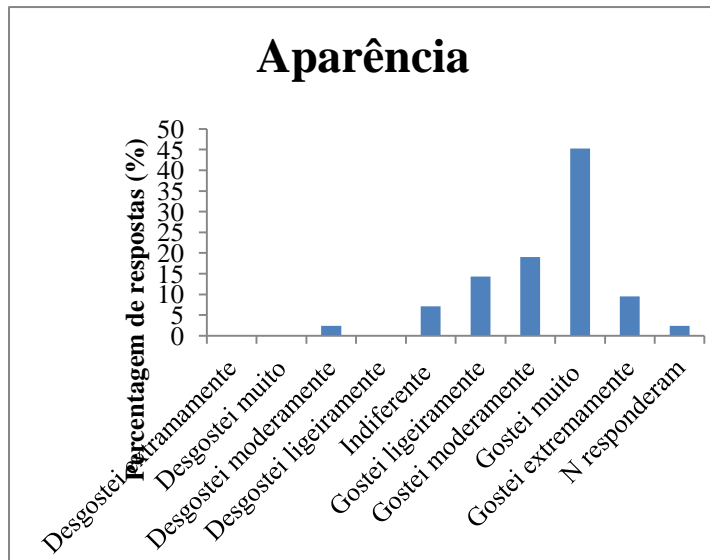


Figura 7 – Percentagem de respostas dadas pelos provadores em relação à geleia da casta **Cornifesto** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.

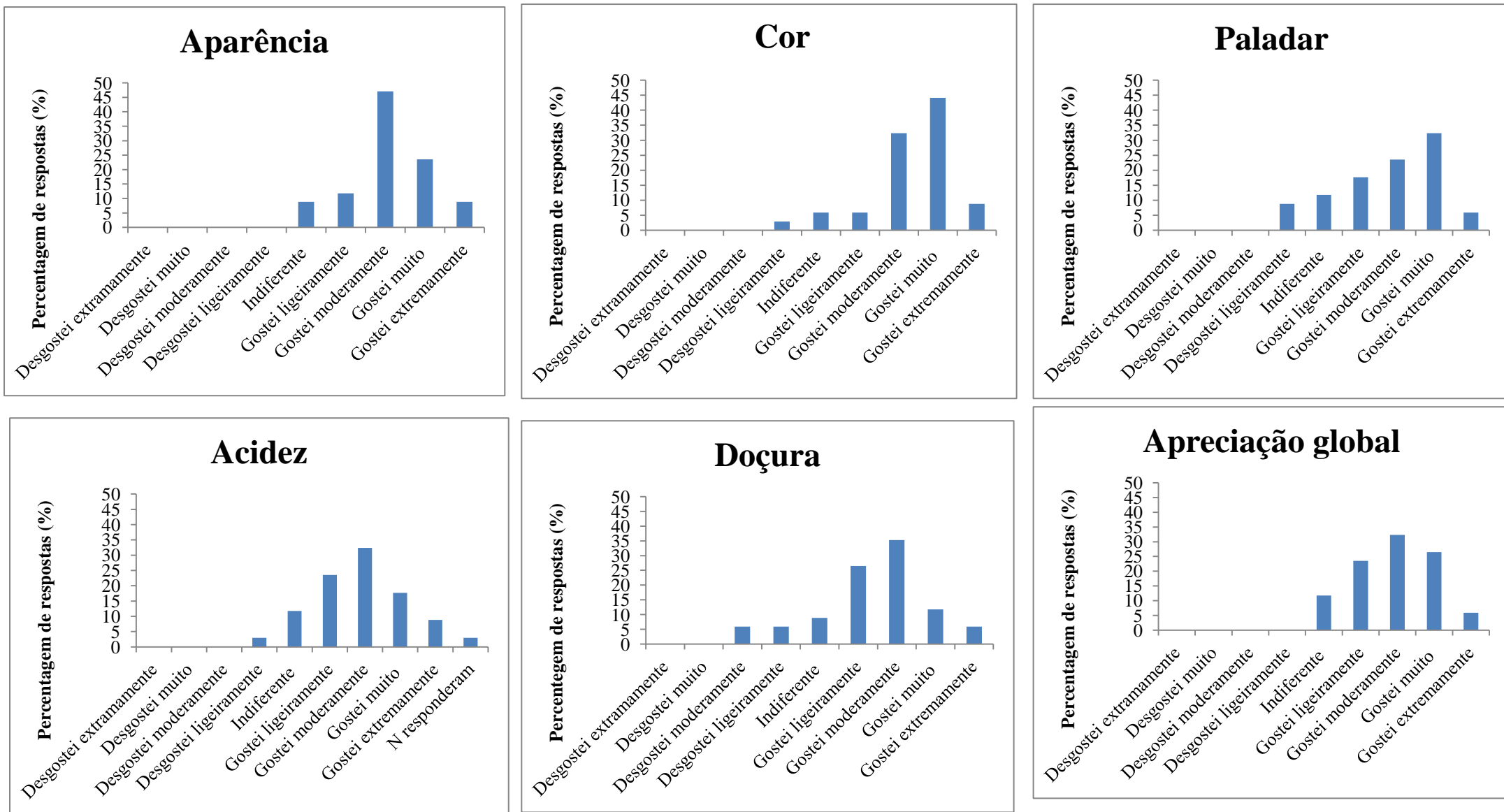


Figura 8 – Percentagem de respostas dadas pelos produtores em relação a geleia da casta da **Touriga Nacional** para cada um dos parâmetros avaliado, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.

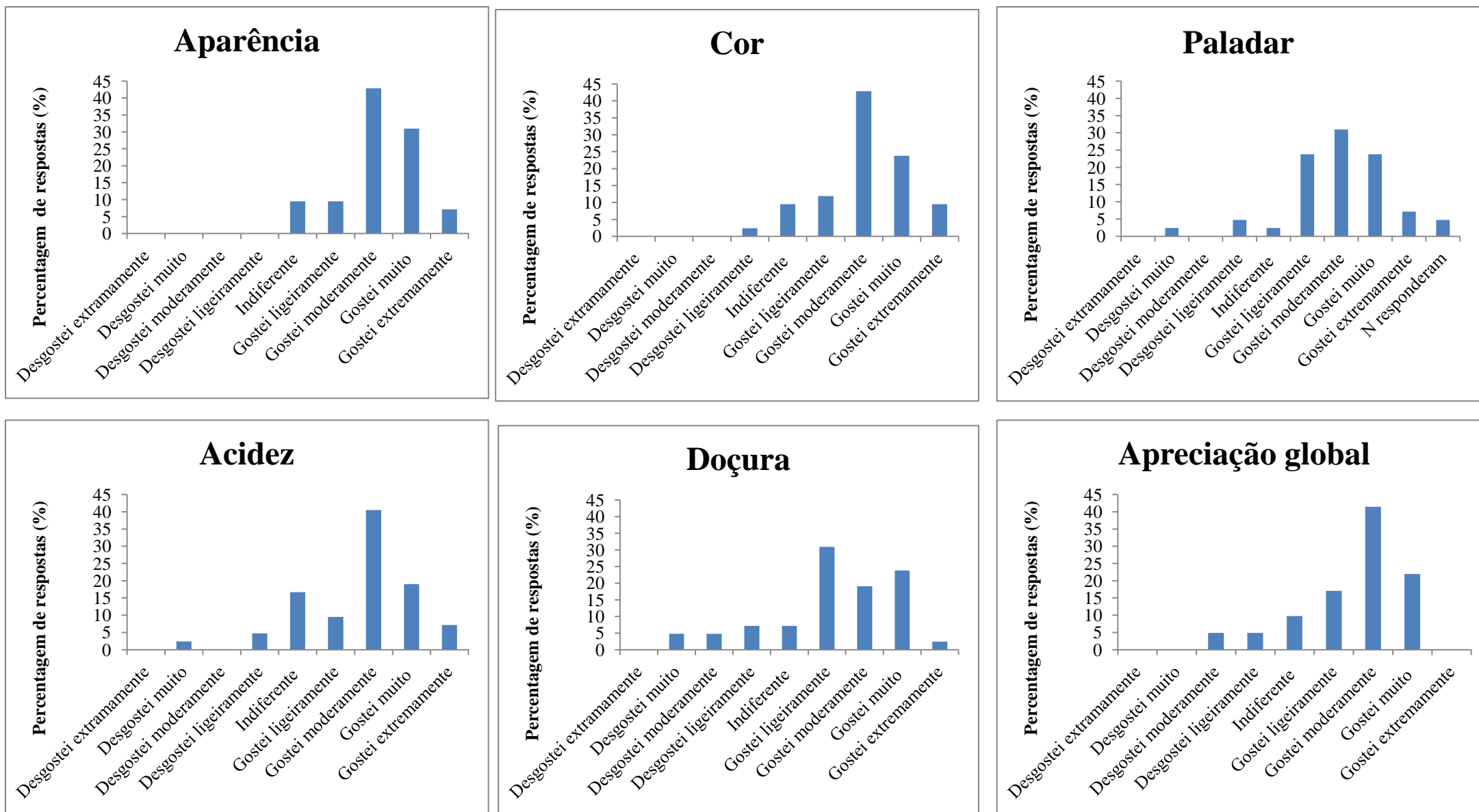


Figura 9 – Percentagem de respostas dadas pelos provadores em relação à geleia da casta **Trincadeira Preta** para cada um dos parâmetros avaliados, nomeadamente, aparência, cor, paladar, acidez, doçura e apreciação global.