

Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial



Tese

Alterações na composição, no potencial antioxidante e nas propriedades biológicas do suco produzido com uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C

ANGELITA MACHADO LEITÃO

PELOTAS, 2012

ANGELITA MACHADO LEITÃO
Bacharel em Química de Alimentos
M.Sc. em Ciência

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Comite de Orientação

Prof Dr. César Valmor Rombaldi (DCTA/FAEM)

Prof^a. Dr^a Rosane da Silva Rodrigues (CCQFA)

Prof. Dr. Valdecir Carlos Ferri (CCQFA)

Pelotas, 2012

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

L533a Leitão, Angelita Machado

Alterações na composição, no potencial antioxidante e nas propriedades biológicas do suco produzido com uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C / Angelita Machado Leitão. – 87f. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas, 2012. – Orientador Cesar Valmor Rombaldi; co-orientador Rosane da Silva Rodrigues e Valdecir Carlos Ferri.

1. Estresse oxidativo. 2.Compostos fenólicos. 3.Atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* 4.Fitoquímicos. 5.Enzimas. 5.*Saccharomyces cerevisiae*. 6.Dieta hiperlipídica. 7.Ensaio biológico. 8.Medidas antropométricas. 9.Ratos *Wistar*. 10.Colesterol. I.Rombaldi, Cesar Valmor. II.Rodrigues, Rosane da Silva. III.Ferri, Valdecir Carlos.

CDD: 663.63

Banca Examinadora:

Prof. Dr. César Valmor Rombaldi, PhD
Orientador (DCTA/UFPel)

Profª Drª Josiane Freitas Chim (CCQFA)

Profª Drª Mírian Ribeiro Galvão Machado (CCQFA)

Drª Roberta Mânica-Berto (PNPD-FS)

Drª Márcia Vizzotto, PhD (Embrapa)

Dedico

A minha mãe Gilca, que lutou e sonhou comigo desde os primeiros instantes de minha vida e por estar presente em tantas outras conquistas. Aos demais familiares e amigos pelo incessante incentivo ao alcance deste desafio.

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida.

Ao Prof. Dr. César Valmor Rombaldi, pela acolhida, orientação, compreensão, suporte técnico e financeiro.

Aos orientadores, Prof^a Rosane da Silva Rodrigues e Prof. Valdecir Carlos Ferri, pela orientação, constante apoio e dedicação.

Em especial a Rosane da Silva Rodrigues, pela amizade, carinho, apoio constante e por acreditar que essa tese seria possível.

Aos Membros da Banca de Qualificação e Tese que, com sua experiência científica e conceituada qualificação, enriqueceram as discussões desta Tese.

Ao Prof. José Cláudio Fonseca Moreira e ao doutorando Guilherme Antônio Behr do laboratório do Centro de Estudos em Estresse Oxidativo do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela atenção e colaboração na realização das análises bioquímicas.

A Prof^a Mirian Salvador do Departamento de Ciências Biomédicas do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS), pela ajuda na realização das análises antioxidantes com células de leveduras.

À amiga Roberta Berto-Manica, pela orientação e ajuda na realização da análise estatística.

A todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, que de algum modo contribuíram para meu aperfeiçoamento profissional.

Aos amigos e companheiros de jornada Dr^a Miriane Azevedo, Andréa Teixeira, Leandro Conceição, Dr. Lírio Haas, Ana Paula Antunes, Lúcia Rota Borges e Ciane Gonçalves, pela amizade e pelos importantes momentos de discussão intelectual.

Aos professores e funcionários do curso de Química de Alimentos, por serem atenciosos e prestativos, em especial à Prof^a Josiane Freitas Chim e à Prof^a Mirian Ribeiro Galvão Machado pela amizade, carinho, incentivo, colaboração e valiosas sugestões no desenvolvimento do trabalho.

Às minhas queridas estagiárias do Curso de Química de Alimentos Vanessa Zanol, Doralina Quintana e Bruna Del Sacramento Behling, pelo apoio, companheirismo, dedicação e preciosa ajuda na realização deste trabalho.

Aos funcionários do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas pelo apoio a este trabalho.

Ao médico veterinário Rafael Aldrighi Tavares, às colegas Valéria da Silva Santos, Lidiane Munis Moreira, Adriana Rodrigues Machado e aos alunos do Curso de Química de Alimentos e de Nutrição, pelo auxílio na eutanásia dos animais.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

À Fundação de Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Revolução da alma

Ninguém é dono da sua felicidade, por isso não entregue sua alegria, sua paz sua vida nas
mãos de ninguém, absolutamente ninguém.

Somos livres, não pertencemos a ninguém e não podemos querer ser donos dos desejos,
da vontade ou dos sonhos de quem quer que seja.

A razão da sua vida é você mesmo.

A tua paz interior é a tua meta de vida.

Quando sentires um vazio na alma, quando acreditares que ainda está faltando algo,
mesmo tendo tudo, remete teu pensamento para os teus desejos mais íntimos e busque a
divindade que existe em você.

Pare de colocar sua felicidade cada dia mais distante de você.

Não coloque o objetivo longe demais de suas mãos:
abraça os que estão ao seu alcance hoje.

Se andas desesperado por problemas financeiros, amorosos, ou de relacionamentos
familiares, busca em teu interior a resposta para acalmar-te, você é reflexo do que pensas
diariamente.

Pare de pensar mal de você mesmo (a), e seja seu melhor amigo (a) sempre.

Sorrir significa aprovar, aceitar, felicitar.

Então abra um sorriso para aprovar o mundo que te quer oferecer o melhor.

Com um sorriso no rosto as pessoas terão as melhores impressões de você, e você estará
afirmando para você mesmo que está "pronto" para ser feliz.

Trabalhe, trabalhe muito a seu favor.

Pare de esperar a felicidade sem esforços.

Pare de exigir das pessoas aquilo que nem você conquistou ainda. Critique menos, trabalhe
mais.

E não se esqueça nunca de agradecer.

Agradeça tudo que está em sua vida nesse momento (...)

Nossa compreensão do universo ainda é muito pequena para julgar o que quer que seja na
nossa vida.

A grandeza (da vida) não consiste em receber honras, mas em merecê-las
(Aristóteles 360a.c.)

Resumo

LEITÃO, Angelita Machado. **Alterações na composição, no potencial antioxidante e nas propriedades biológicas do suco produzido com uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C.** 2012. 87 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

É amplamente conhecido que a aplicação da radiação UV-C após a colheita de frutos contribui para a preservação de podridões, pela redução do inoculo e por induzir mecanismos de defesa, estimulando o metabolismo secundário. Assim, é esperado que a aplicação de doses moderadas de radiação UV-C possa agir como agente indutor da síntese e acúmulo de moléculas bioativas, alterando a composição dos vegetais, bem como as potenciais propriedades funcionais. Nesse contexto, buscou-se maximizar a concentração dessas substâncias nos sucos, tratando-se uvas *Vitis labrusca* cv. Bordô, cultivadas na região de Pelotas (Sul do RS). Após a colheita das uvas, 50% dos lotes foram mantidos sem tratamento (sem aplicação de radiação UV-C) e 50% foram tratados com radiação UV-C na dose hormic de 7,4 kJ.m^{-2} . A partir dos tratamentos e armazenamento em temperatura ambiente, no escuro, por 23h, preparou-se o suco, em extratora a vapor, o qual constituiu o material para análise. De acordo com os resultados, se pôde verificar que a radiação UV-C interfere nas características físico-químicas dos sucos. No que se refere aos compostos fenólicos, observa-se que a quercetina seguida do trans-resveratrol, do p-hidroxicinâmico, da malvidina e da delphinidina foram os compostos que aumentaram sua concentração, e catequina, epicatequina e caempferol tiveram suas quantidades reduzidas nos sucos tratados, não sendo detectada a presença de cianidina. Os sucos elaborados com uvas tratadas com radiação UV-C apresentaram valores médios de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* significativamente ($p \leq 0,05$) maiores do que o suco controle. O suco controle e o suco elaborado com uvas tratadas com radiação UV-C, garantiram em torno de 55% e 72%, respectivamente, de sobrevivência das células de leveduras frente aos danos gerados pelo agente estressor peróxido de hidrogênio. Existiu forte correlação entre a atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* e o teor de compostos fenólicos totais ($R=0,91$) e antocianinas totais ($R=0,96$). Os sucos de uvas, tanto o elaborado com uvas tratadas com radiação UV-C ou não, não promoveram um ganho de peso, não aumentaram os níveis glicêmicos e aumentaram o coeficiente de eficiência alimentar dos animais em estudo. O dano oxidativo causado aos animais pela dieta hiperlípica foram reduzidos, em função do aumento da atividade das enzimas antioxidantes, bem como pelo incremento da capacidade antioxidante total, proporcionada pelo suco de uva c.v Bordô, tratados com radiação UV-C. Conclui-se que a radiação UV-C promoveu alterações no metabolismo fenólico das uvas, o que resulta em sucos de uva *Vitis labrusca* cv. Bordô, da região de Pelotas, com elevado potencial antioxidante e com respostas biológicas benéficas.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Fitoquímicos. Atividade antioxidantes *in vivo* e *in vitro*. *Saccharomyces cerevisiae*. Ensaio biológico. Ratos *Wistar*

ABSTRACT

LEITÃO, Angelita Machado. **Alterações na composição, no potencial antioxidante e nas propriedades biológicas do suco produzido com uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C.** 2011. 87f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

It is widely known that the application of UV-C radiation at post-harvest contributes to reducing fruit rot, by the reduction of microorganisms and induce defense mechanisms, and stimulating secondary metabolism. Thus, it is expected that the application of moderate doses of UV-C can act as a promoter of the synthesis and accumulation of bioactive molecules, changing the vegetable composition as well as the functional potential properties. In this context, we have attempted to maximize the concentration of these bio-molecules in the juices, treating *Vitis labrusca* grapes, cv. cultivated in Pelotas region (South of RS). After the harvest of the grapes, 50% of the grapes batches were kept untreated (no application of UV-C) and 50% were treated with UV-C at a dose of 7.4 kJ.m⁻² h⁻¹ hormic. From the grapes with treatment and store in room temperature in dark for 23h, the juice was elaborated on a steam extractor, which was the material for analysis. According to the results, it was found that the UV-C interferes in the physicochemical characteristics of the juices. In relation to phenolic compounds, we found that quercetin followed by trans-resveratrol, p-hydroxycinnamic acid, malvidin and delphinidin were the compounds that increase their concentrations, and catechin, epicatechin and kaempferol have shown small quantities in the treated juice, without detection of cyanidin. The juices elaborated with treated grapes with UV-C showed mean values of total phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity in vitro and in vivo significantly ($p \leq 0.05$) higher than the control juice. The control juice and the juice elaborated with grapes treated with UV-C, guaranteed around 55% and 72%, respectively, for the survival of yeast cells against damage caused by the stressor agent, hydrogen peroxide. Existed significant correlation between the antioxidant activity in vivo and in vitro and the content of total phenol compounds ($R = 0.91$) and total anthocyanins ($R = 0.96$). The juices of grapes, either the elaborated with grapes treated with UV-C or not, did not promote weight gain, did not increase blood glucose levels, but have increased the coefficient of alimentary efficiency on the studied animals. The oxidative damage caused to animals by hyperlipidic diet were reduced with increasing of the antioxidant enzyme activities, as well as by the increased of the total antioxidant capacity provided by the grape juice of cv. Bordô treated with UV-C. Concludes that the UV-C treatment promote alterations in the phenolic metabolism of the grape, which results in grape juice from *Vitis labrusca* cv. Bordô, cultivated in the region of Pelotas, with high antioxidant potential and beneficial biologic responses.

Keywords: Oxidative stress. Phytochemicals. Antioxidant activity in vivo and in vitro. *Saccharomyces cerevisiae*. Biological assay. Wistar rats.

Lista de figuras

Figura 1. Estrutura química dos ácidos Hidroxibenzóicos (A) e hidroxicinâmicos (B).....	24
Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides.....	25
Figura 3. Estrutura química da antocianina e possíveis substituintes.....	26
Figura 4. Laboratório de experimentação animal – CCQFA.....	36
Figura 5. Suqueira (A) e Suco de uva (B).....	37
Figura 6. Rato recebendo a bebida experimental (A) e Ração (B).....	44

Lista de tabelas

Tabela 1.	Composição química de ração comercial (Biotec®) para roedores.....	42
Tabela 2.	Determinações físico-químicas dos sucos elaborados com uvas cv. Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas ou não tratadas com radiação UV-C.....	49
Tabela 3.	Compostos fenólicos e antocianinas individuais (mg do composto.100g ⁻¹ suco) dos sucos elaborados com uvas c.v. Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas e não tratadas com radiação UV-C.....	50
Tabela 4.	Sucos elaborados com uvas cv Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas e não tratadas com radiação UV-C e seu efeito sobre a sobrevivência de leveduras.....	51
Tabela 5.	Medidas antropométricas (peso da gordura corporal e medidas torácica) dos ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	52
Tabela 6.	Medidas antropométricas (peso do coração, medida abdominal e coeficiente de eficiência alimentar- CEA) dos ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	52
Tabela 7.	Medidas antropométricas (peso da gordura do fígado, peso do fígado, peso do coração, peso do rim e medida abdominal) dos ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	53
Tabela 8.	Valores médios para a lipoproteína de alta densidade total (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) no soro e glicemia no sangue de ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	54

Tabela 9.	Valores médios de colesterol total e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no soro de ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	54
Tabela 10.	Valores médios de colesterol total e triglicerídeos no soro de ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	55
Tabela 11.	Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS e SH total) do córtex frontal de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	56
Tabela 12.	Respostas dos níveis bioquímicos (catalase, SOD e TRAP) do córtex frontal de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	56
Tabela 13.	Respostas dos níveis bioquímicos (TRAP e SOD) do córtex frontal de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010	57
Tabela 14.	Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS, SH total, TRAP e GST) do fígado de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	57
Tabela 15.	Respostas dos níveis bioquímicos (catalase) do fígado de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	58
Tabela 16.	Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS, TRAP e SH total) do plasma de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	59
Tabela 17.	Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS) do sangue de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	59
Tabela 18.	Respostas dos níveis bioquímicos (Catalase e SOD) do sangue de ratos <i>Wistar</i> submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	60

Tabela 19. Análise físico-química nas fezes dos ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv.Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	60
Tabela 20. Análise físico-química nas fezes dos ratos <i>Wistar</i> , submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv.Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010.....	61

Lista de equações

Equação 1.	Etapas do processo de lipoperoxidação lipídica.....	29
Equação 2.	Cálculo para a % de inibição do radical DPPH.....	38
Equação 3.	Cálculo da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL).....	44
Equação 4.	Cálculo de LDL-colesterol.....	44

SUMÁRIO

1 Introdução geral.....	18
2 Revisão da literatura.....	21
2.1 Suco de uva.....	22
2.2 Compostos fenólicos.....	23
2.3 Estresse oxidativo.....	26
2.4 Antioxidantes.....	30
2.5 Radiação ultravioleta.....	34
3 Material e métodos.....	35
3.1 Material.....	35
3.1.1 Suco de uva.....	35
3.1.2 Reagentes químicos.....	37
3.2 Métodos.....	37
3.2.1 Avaliações físico-químicas.....	37
3.2.2 Avaliação antioxidante <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	38
3.2.3 Avaliações cromatográficas.....	39
3.2.4 Ensaio biológico.....	40
3.2.4.1 Dietas.....	41
3.2.4.2 Coeficiente de eficiência alimentar (CEA).....	43
3.2.4.3 Avaliações bioquímicas.....	43
3.2.4.4 Medidas antropométricas.....	45
3.2.4.5 Determinação dos pesos dos órgãos retirados.....	46
3.2.4.6 Determinações de lipídios no fígado.....	46

3.2.4.7 Avaliação da gordura corporal.....	46
3.2.4.8 Avaliações das fezes.....	46
3.2.5 Avaliação estatística.....	46
4 Resultados.....	48
4.1 Resultados das determinações físico-químicas.....	48
4.2 Resultados do ensaio biológico.....	50
5 Discussão dos resultados.....	62
5.1 Respostas das determinações físico-químicas.....	62
5.2 Respostas das determinações biológicas	65
6 Considerações finais.....	71
7 Referências bibliográficas.....	72
Apêndices.....	82
Anexos.....	85

1 Introdução

A demanda por alimentos com propriedades potencialmente funcionais que contribuam positivamente para a saúde do consumidor é cada vez mais crescente. Dentre os alimentos associados a estas propriedades estão as uvas, sucos e vinhos devido principalmente à presença de compostos fenólicos. Dentre os compostos fenólicos de maior importância destacam-se as antocianinas, flavanóis, flavonóis, ácidos fenólicos e estilbenos (ABE et al., 2007). Os compostos fenólicos são importantes do ponto de vista de alegação de funcionalidade, pois apresentam propriedades antioxidantes as quais têm sido associadas à redução do risco de ocorrência de algumas enfermidades crônico-degenerativas como alguns tipos de câncer e doenças cardiovasculares ligadas ao metabolismo de lipídios (ANGELO e JORGE, 2007). No entanto, aspectos como biodisponibilidade e toxicidade dos compostos fenólicos ainda não foram totalmente elucidados. A concentração e a composição dessas substâncias na fruta e nos produtos derivados variam com a diversidade de cultivares, época de maturação e outros fatores de pré e pós-colheita, tais como clima, solo, técnicas de colheita e de processamento (SAUTTER, 2005; PEREIRA, 2010).

Embora haja maior valorização das uvas, vinhos e sucos da variedade *Vitis vinifera*, atualmente os produtos elaborados com *Vitis labrusca* produzem sucos e vinhos com preços relativamente mais acessíveis e com aroma e sabor característicos e aceitos por um grupo expressivo de consumidores. As variedades da espécie *Vitis vinifera* são as mais reconhecidas pela qualidade que proporcionam aos vinhos finos, enquanto as das espécies *Vitis labrusca* têm se destacado pela qualidade dos sucos, polpas, vinagres e vinhos de mesa gerados a partir dessa espécie (ROMBALDI et al., 2004).

As uvas *Vitis labrusca* (cv. Ives ou Bordô, Concord e Isabel) se caracterizam por apresentar elevada produtividade e relativamente boa resistência às doenças que

normalmente atacam as *Vitis vinifera*. Além disso, produzem mostos tintórios, com intensa coloração, sabor e aroma foxados, alta acidez, teor de pectina mais elevado, menor potencial de produção de açúcares quando comparadas com as cultivares *Vitis vinifera*, nas mesmas condições de cultivos (MALGARIM et al., 2006).

Mesmo com essa limitação, é uma variedade bastante demandada no momento, tanto por produtores quanto pela indústria, por exigir baixo custo de produção, e gerar uvas com elevada concentração de pigmentos e compostos do aroma.

A área cultivada com *Vitis labrusca* tem aumentado nos últimos anos no Rio Grande do Sul devido ao aumento do consumo de sucos e vinhos tintos de mesa. Dentre as cultivares em maior crescimento destaca-se a Bordô por apresentar alta resistência às principais doenças (antracnose, míldio e podridões), fácil adaptação à variabilidade de condições edafo-climáticas, boa produtividade e relativa rusticidade (ROMBALDI et al., 2004; MALGARIM et al., 2006; MELO, 2010; TECCHIO et al., 2007). Porém, ainda se constitui em uma variedade com desuniformidade de produção entre plantas, mesmo se tratando de propagação vegetativa. As causas desse problema ainda não foram descritas.

Devido à importância dos compostos fenólicos para a saúde, vários métodos pós-colheita vêm sendo utilizados visando aumentar a quantidade desses compostos em frutas e hortaliças, dentre eles destaca-se a radiação ultravioleta de ondas curtas (UV-C), já bastante utilizada com o objetivo de diminuir a incidência de doenças nos frutos (ALOTHMAN, BHAT E KARIM, 2009). É possível que a radiação UV-C atue como estressor abiótico, ativando mecanismos de defesa dos tecidos vegetais, induzindo o metabolismo secundário, especialmente pela síntese de compostos fenólicos, envolvidos na proteção ao estresse oxidativo (HEMMATY et al., 2006; LIU et al., 2009; TIECHER, 2010). O uso da radiação UV-C é um método físico que não deixa resíduos, estando em consonância com as tendências modernas de se produzir alimentos com menores teores possíveis de aditivos.

Em virtude de haver um crescente consumo de sucos e vinhos elaborados com a espécie *Vitis labrusca* e por esta possuir aroma e sabor aceitos pelos consumidores, ter alta resistência a doenças e por não existir muitos estudos sobre a cultivar Bordô na literatura qualificada, a caracterização dos constituintes químicos dos sucos produzidos com esta uva se torna uma estratégia de interesse, principalmente quando se relaciona com compostos com possíveis propriedades funcionais (TECCHIO et al., 2007). Então se espera que a aplicação da radiação UV-C em uva

(cv. Bordô), após a colheita, possa aumentar o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro* no suco. E que o incremento desses compostos fitoquímicos no suco proveniente de uva tratada com UV-C possa resultar em maior atividade antioxidante *in vivo*.

No intuito de maximizar a concentração dos compostos fenólicos nos sucos, o presente estudo teve como objetivo tratar uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, na pós-colheita, com radiação UV-C e caracterizar os compostos fitoquímicos presentes nos sucos, verificando sua relação com a capacidade antioxidante e funcionalidade.

2. Revisão da literatura

2.1 Suco de uva

Segundo a legislação brasileira vigente, suco de uva é uma bebida extraída da fruta madura e sã, obtida através de processo tecnológico adequado, não fermentado, não alcoólico, de cor, aroma e sabor característicos, submetido a tratamento que assegure a sua conservação até o momento do consumo (BRASIL, 2009).

Quanto à composição química, o suco de uva apresenta, além da água, elevados teores de açúcares e ácidos orgânicos, que são os responsáveis por seu sabor característico. Além desses compostos, possui ainda minerais (potássio, cálcio, ferro, cobre entre outros) e compostos fenólicos, os quais estão relacionados a efeitos benéficos à saúde, além de serem responsáveis pela cor, adstringência e estrutura (RIZZON; LINK, 2006; SANTANA et al., 2008; NATIVIDADE et al., 2010).

Tecchio (2007) considera as relações sólidos solúveis/acidez total, frutose/glicose, bem como os teores combinados de taninos, ácidos totais, ésteres voláteis totais, antranilato de metila, potássio e cor a 520 nm como elementos de qualificação para a obtenção de um bom suco de uva. Por essas variáveis, a cultivar Bordô é considerada uma boa opção à elaboração de suco, principalmente em *blend* com Isabel e/ou Concord, geralmente com coloração e acidez pouco pronunciadas.

A Bordô é uma variedade de uva *Vitis labrusca*, originalmente chamada de Ives, Folha de Figo ou Tercei, cultivada em grande parte do Brasil, estendendo-se do Rio Grande do Sul até Minas Gerais, possui produção aproximada de 15 a 20 t ha⁻¹ em sistema latada (PIVA, 2011). Caracteriza-se por apresentar alta resistência às doenças que normalmente atacam as *Vitis vinifera*, produz mostos tintórios, com intensa coloração, sabor e aroma foxados, alta acidez, teor de pectina mais elevado,

menor potencial de produção de açúcares quando comparada com as cultivares *Vitis vinifera* (MALGARIM et al., 2006; RIZZON; LINK, 2006).

2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos resultam do metabolismo secundário dos vegetais, são essenciais para o crescimento e reprodução vegetal e se formam em condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (ANGELO; JORGE, 2007; MELO et al., 2008; MELO, 2010). Estes compostos desempenham funções importantes na natureza, atuando como mecanismo de defesa e como agentes antipatogênicos. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (PORTO, 2002; ANGELO; JORGE, 2007). Do ponto de vista medicinal, vários estudos mostraram que esses compostos possuem efeito anticarcinogênicos, antiinflamatórios, anti-hepatotóxico, antiviral, antialérgico, antitrombótico e antioxidante (PORTO, 2002; PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005; DIAS, 2009).

Quimicamente, os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxila (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005; ANGELO; JORGE, 2007; SILVA et al., 2010). Esses compostos são formados através de duas rotas metabólicas: pela via do ácido chiquímico a partir de carboidratos, através da ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), ou pela via do acetato-polimalato que inicia com acetil-coenzima A e malonil-coenzima A (OLIVEIRA et al., 2009; TIECHER, 2010). A fenilalanina amônia liase (PAL) tem sua atividade aumentada nos vegetais submetidos a situação de estresse, como déficit de água (estresse hídrico), incidência de raios solares e de fungos como o *Botrytis Cinérea*, influenciando diferentemente as diversas classes e teores (ROCHA; GUERRA, 2008).

Nas uvas, a síntese dos compostos fenólicos encontra-se relacionada aos diversos estádios de desenvolvimento da fruta. No período inicial, ocorre a acumulação dos ácidos hidroxicinâmicos, precursores dos fenóis voláteis, na casca e na polpa, e dos taninos, incluindo as catequinas monoméricas, nas cascas e sementes. Nesta etapa são também sintetizados aminoácidos e compostos de aroma. O amadurecimento, que ocorre no segundo período, caracteriza-se pelo

declínio dos taninos, tanto da casca como das sementes, e elevação dos teores de açúcares, como glicose e frutose (ROCHA; GUERRA, 2008).

Os compostos fenólicos encontrados em uvas e vinhos podem ser classificados em dois grupos em razão da similaridade de suas cadeias de átomos de carbono: não flavonóides (ácidos fenólicos e os estilbenos) e flavonóides (flavonóis, flavanóis e antocianinas) (GRANATO, 2011). Entretanto, a composição e concentração dos compostos fenólicos na uva variam conforme a variedade, a espécie, o clima e a safra (YANG; TIMOTHY; HAI LIU, 2009; DIAS, 2009).

Os ácidos fenólicos são constituídos por um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os alimentos e os organismos (SANTOS, 2002; ANGELO; JORGE, 2007; PERES JUNIOR, 2009). Sua atividade antioxidante está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo $-CO_2H$ em relação ao grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta (SILVA; ROZA, 2010). Estes compostos se encontram distribuídos na casca e na polpa da uva, e seus teores diminuem com o amadurecimento, podendo ser utilizados para discriminação de variedades (DIAS, 2011). São incolores em solução hidroalcoólica, mas podem tornar-se amarelos depois da oxidação (PERES JUNIOR, 2009).

Os ácidos fenólicos estão divididos em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzóico os quais possuem como estrutura comum (C_6-C_1), e os ácidos hidroxicinâmicos são compostos por aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral (C_6-C_3) (Figura 1) (ANGELO; JORGE, 2007; AZEVEDO, 2011). Segundo Granato (2011) nas uvas, os principais ácidos fenólicos são os ácidos hidroxicinâmicos que se encontram nos vacúolos da célula da película e da polpa, sob a forma de ésteres tartáricos.

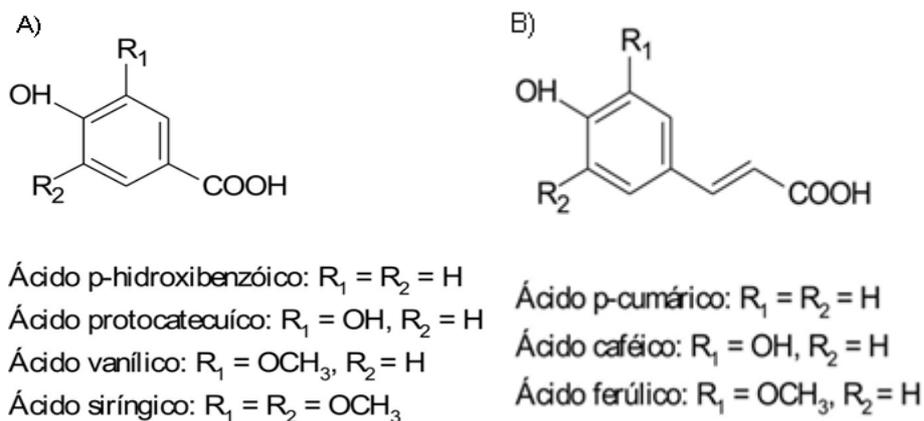


Figura 1. Estrutura química dos ácidos Hidroxibenzóicos (A) e hidroxicinâmicos (B).

Fonte: Angelo e Jorge, 2007.

O resveratrol é uma fitoalexina presente em uvas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*), cuja síntese se inicia principalmente na casca da fruta e é ausente ou em baixíssima concentração na polpa (BERTAGNOLLI et al., 2007). Este composto é sintetizado naturalmente na planta sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol (*trans*-3.5.4-trihidroxiestilbeno) e *cis*-resveratrol (*cis*-3.5.4-trihidroxiestilbeno). O *trans*-resveratrol é a forma mais comumente encontrada, mas também pode estar ligada a uma molécula de açúcar formando um glucosídeo ou polimerizado (SAUTTER, 2005; ROCHA; GUERRA, 2008; DIAS, 2009).

A biossíntese do *trans*-resveratrol parte de uma molécula de *p*-cumaril-CoA e três moléculas de malonil-CoA, formando uma molécula instável que pode formar chalcona ou resveratrol em presença das enzimas chalcona sintetase e estilbeno sintetase, respectivamente (SAUTTER, 2005). A enzima estilbeno sintetase é ativada através de uma resposta exógena, como injúria, radiação ultravioleta e sinais químicos de fungos patógenos. Os níveis de resveratrol atingem seu pico aproximadamente 24 horas após exposição ao estresse, e declinam após 42–72 horas como resultado da ativação da estilbeno oxidase. A quantidade de resveratrol presente nas uvas depende da variedade e da exposição ao estresse (SAUTTER, 2003, 2005; DIAS, 2009; VACCARI, 2009).

Os flavonóides são derivados tanto da rota metabólica via ácido chiquímico, quanto da via do ácido malônico. Para que haja a biossíntese de flavonóides, é necessária a atuação da chalcona sintase (CHS), que forma as chalconas. A partir desta estrutura básica, haverá a formação do anel flavonóide básico (C₆-C₃-C₆) que

irá conduzir a formação de importantes flavonóides. A estrutura básica dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C, possuindo hidroxilas e glicosídeos distribuídas ao redor (Figura 2) (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005; ANGELO; JORGE, 2007; TIECHER, 2010). Esta classe de compostos fenólicos pode ser dividida em grupos de acordo com o grau de oxidação do anel central: flavonas; flavonóis; flavanóis; antocianinas; proantocianidinas; flavononas e isoflavonas (ANGELO; JORGE, 2007).

Segundo Dias (2009) são encontrados nas uvas flavonóis (quercitina, caempferol e miricetina), flavanóis (catequina e epicatequina, procianidinas e os polímeros de taninos) e antocianinas (cianidina, peonidina, delphinidina, malvidina e petunidina). As diferenças individuais presentes em cada grupo são resultado da variação no número e no arranjo dos grupos hidroxilas, assim como a natureza e a quantidade de alquilações e/ou glicosilações destes grupos, sendo muitos destes grupos encontrados na forma glicosilada, na posição 3 e 7, este último menos frequente (Figura 2) (GONÇALVES, 2008).

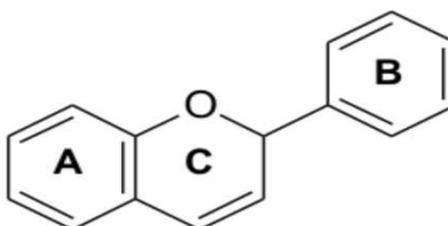


Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides. Fonte Angelo e Jorge, 2007.

As antocianinas encontram-se sob a forma de glicosídeos, esterificada com um ou mais açúcares sob a forma heterosídica. As antocianidinas possuem como estrutura básica o cátion 2 - fenilbenzopirilium, também denominado flavilum (Figura 3) (VACCARI et al., 2009). Essas moléculas são as principais responsáveis pela coloração da maioria dos vegetais, colorindo-os numa faixa que varia de vermelho a azul, de acordo com o pH em que esses pigmentos estão armazenados no vacúolo celular (MALACRIDA; MOTTA, 2005; SEVERO, 2009). Segundo Granato, (2011) os pigmentos antociânicos majoritários encontrados nas uvas são malvidina-3-glicosídeo, petunidina-3glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo.

As antocianinas diferem entre si através dos níveis de hidroxilação e metilação do composto, pela natureza, número e posição das “oses” unidas à molécula, e também pela natureza e número de ácidos, os quais esterificam seus açúcares (VACCARI et al., 2009; AZEVEDO, 2011; GRANATO, 2011). Os açúcares mais comumente ligados as agliconas são: glicose, arabinose, galactose, xilose, frutose e ramnose. Os dissacarídeos, trissacarídeos e os oligossacarídeos formados pela combinação destes seis monossacarídeos podem também glicosilar algumas antocianinas. Em alguns casos os açúcares podem ser acilados por ácidos fenólicos como p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (VACCARI et al. 2009; GOUVÊA, 2010).

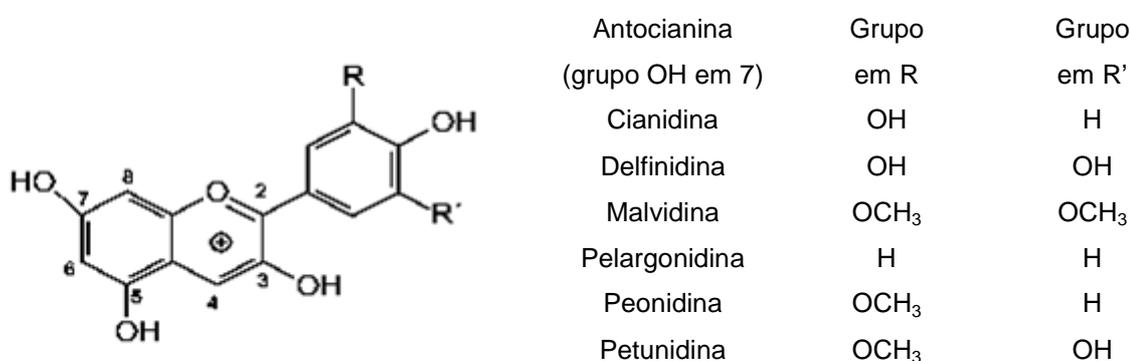


Figura 3. Estrutura química da antocianina e possíveis substituintes. Fonte: AZEVEDO, 2011.

2.3 Estresse oxidativo

O termo radical livre é definido como qualquer átomo ou molécula que apresente um ou mais elétrons não pareados em sua órbita externa, sendo que um elétron não pareado é aquele que ocupa um orbital atômico ou molecular isoladamente. Esta configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e quimicamente muito reativas (SOUZA, 2008; ARAÚJO, 2009).

Os radicais livres são formados durante os processos fisiológicos de oxidação, ou seja, durante o processo de oxidação do oxigênio, utilizado para converter os nutrientes dos alimentos absorvidos em energia, sendo esta reação produzida no citoplasma, nas mitocôndrias e nas membranas celulares (SOUZA,

2008; ARAÚJO, 2009). Os radicais livres também participam dos processos de fagocitose, de sinalização celular e também estão envolvidos na síntese de algumas proteínas (SOUZA, 2008). Mas por outro lado, podem provocar reações em cadeia causando danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, podendo levar a um grande número de patologias, incluindo o câncer e a aterosclerose (GONÇALVES, 2008).

Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o O_2 sofre redução tetravalente, através da aquisição de 4 elétrons, resultando na formação de H_2O . Durante esse processo também podem ser formados compostos intermediários altamente reativos, como os radicais superóxido (O_2^\bullet), hidroperoxila (HO_2^\bullet) e hidroxila (OH), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), denominados espécies reativas de oxigênio (EROS) (FERREIRA, MATSUBARA, 1997; SOARES, 2002; ARAÚJO, 2009; ZIMMERMANN, 2010).

Espécies reativas de oxigênio (EROS) é o termo coletivo frequentemente usado para incluir não apenas radicais livres de oxigênio, mas também alguns radicais derivados O_2 , capaz de gerar radicais livres, como exemplo alcóxila (RO^\bullet) e peróxila (ROO^\bullet), ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), radical dióxido de nitrogênio ($^\bullet NO_2$), ácido hipocloroso (HOCl), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2) e o ozônio (O_3), mas que também podem induzir reações radicalares no organismo, sendo por isso considerados como espécies reativas (SALVADOR e HENRIQUES, 2004; ARAÚJO, 2009). Algumas destas moléculas reagem rapidamente apenas com algumas substâncias, como é o caso do peróxido de hidrogênio, enquanto outras, como radical hidroxil, reagem rapidamente com inúmeras moléculas. Estas características geram diferentes níveis de efeitos biológicos, dependendo da sua taxa e local de formação, ambiente, compartimento celular e entre outros (TREVISAN, 2008).

As EROS podem ser geradas por fontes endógenas e exógenas. Endogenamente originam-se durante o funcionamento normal da célula, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, ciclooxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons (SOARES, 2002; ARAÚJO, 2009; ZIMMERMANN, 2010). Estas reações ocorrem principalmente nas mitocôndrias, nos peroxissomos, no citocromo P 450, na fagocitose e na xantina desidrogenase. As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem ozônio, radiações gama e

ultravioleta, medicamentos, dietas, tabaco, poluição do ar e pesticidas (SOARES, 2002; ZIMMERMANN, 2010).

Em condições fisiológicas normais, os radicais livres são formados em proporções que podem ser controladas pelos mecanismos defensivos celulares. Entretanto, a falta de equilíbrio entre a produção de oxidantes e a concentração de defesas antioxidantes leva ao chamado estresse oxidativo (SALVADOR e HENRIQUES, 2004; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; SOUZA, 2008).

O estresse oxidativo resulta de situações onde há diminuição nos níveis das enzimas e/ou moléculas antioxidantes, aumento na produção de radicais livres, ou por ambos os processos simultaneamente (SALVADOR, HENRIQUES, 2004; SOUZA, 2008).

Quando as EROS apresentam-se em excesso nas células, podem promover alterações nas moléculas de DNA, proteínas e lipídios, podendo levar à apoptose ou a lesões dos tecidos, causando diversas patologias (SOARES, 2002; GONÇALVES, 2009; GRANATO, 2011).

Das diversas alterações causadas pelas EROS, em especial pelo radical hidroxila, o DNA mitocondrial é o primeiro alvo de ataques oxidativos, devido à sua proximidade com a fonte de produção das EROS (SOUZA, 2008). Uma vez rompida, a cadeia de DNA pode ser reconectada em diferentes posições, o que pode ocasionar mutações celulares devido ao emparelhamento desordenado das bases nitrogenadas. O acúmulo destas lesões no DNA está relacionado aos processos de mutagênese, carcinogênese e envelhecimento (SOUZA, 2008).

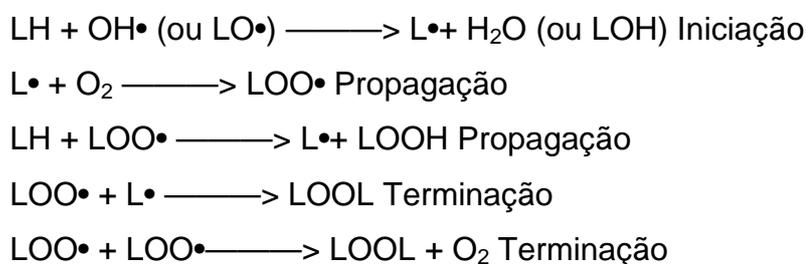
Os danos oxidativos às proteínas pode ocorrer pelo ataque direto das EROS à sua estrutura, ou através de moléculas originadas de processos de oxidação, como o malondialdeído (MDA) e 4-hidroxy nonenal (4-HNE) (TREVISAN, 2008). Os danos causados às estruturas das proteínas levam a fragmentação das cadeias polipeptídicas, a formação de ligações proteína-proteína e a modificações nos aminoácidos das cadeias laterais. Como consequências destas reações, podem ocorrer perdas na atividade enzimática, dificuldades no processo de transporte ativo, citólise e morte celular (SALVADOR, HENRIQUES, 2004; SOUZA, 2008).

O ataque das EROS aos ácidos graxos poliinsaturados presentes em membranas celulares e nas lipoproteínas inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação que pode ser avaliado e utilizado

como um indicador do estresse oxidativo celular (ARAÚJO, 2009; ZIMMERMANN, 2010).

A peroxidação lipídica pode ser definida como uma sequência de reações bioquímicas resultantes da ação dos radicais livres sobre os lipídios insaturados das membranas celulares, gerando principalmente radical alquila, alcóxila e peróxila (ARAÚJO, 2009).

A lipoperoxidação é uma reação em cadeia, representada pelas etapas de iniciação, propagação e terminação (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GRANATO, 2011). Estas etapas estão apresentadas nas seguintes reações, onde L representa o lipídio (Equação 1):



Equação 1. Etapas do processo de lipoperoxidação lipídica. Fonte: Ferreira; Matsubara, 1997.

O processo de lipoperoxidação lipídica se inicia com a remoção do hidrogênio do ácido graxo polinsaturado (LH) da membrana celular. Tal remoção pode ser realizada pelo OH• ou pelo LO• (radical alcóxila), com conseqüente formação do L• (radical lipídico). Na primeira equação de propagação, o L• reage rapidamente com o O₂, resultando em LOO• (radical peróxila), que, por sua vez, remove novo hidrogênio do ácido graxo polinsaturado, formando novamente o L• na segunda equação de propagação. O término da lipoperoxidação ocorre quando os radicais (L• e LOO•) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até destruírem-se a si próprios (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; ARAÚJO, 2009; TORRES, 2009). O LOOH pode sofrer outras reações, com conseqüente produção de alcanos, aldeídos de diferentes tamanhos, como por exemplo o malonaldeído (MAD), utilizado como marcador da peroxidação lipídica em sistemas biológicos (ARAÚJO, 2009; TORRES, 2009).

Como consequências do processo de lipoperoxidação ocorrem mudanças na permeabilidade seletiva das membranas, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações do DNA, oxidação do LDL-colesterol e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (SOARES, 2002; SOUZA, 2008; ARAÚJO, 2009; TORRES, 2009). Todas estas alterações nas estruturas celulares podem provocar o surgimento e a progressão de diversos processos patológicos, como por exemplo, câncer, doenças hepáticas, aterosclerose, diabetes, mal de Alzheimer (SOUZA, 2008; ARAÚJO, 2009).

2.4 Antioxidantes

Durante o metabolismo celular normal, diversas espécies reativas são produzidas, mas o organismo possui defesas antioxidantes para controlar e retirar essas espécies, a fim de manter-se em equilíbrio. Os mecanismos de defesa são baseados em enzimas e moléculas antioxidantes (TORRES, 2009; MELO, 2010).

Os antioxidantes são compostos, que mesmo em baixas concentrações, possuem capacidade de reagir com os radicais livres, retardando ou prevenindo sua oxidação, quelando os íons metálicos e prevenindo a oxidação lipídica e assim restringindo os efeitos maléficos ao organismo. Esses mecanismos protetores se classificam em duas categorias: os enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase e glutatona redutase, as quais apresentam capacidade para bloquear o início da oxidação; e não enzimáticos como os compostos fenólicos, ácido úrico, glutatona (GSH), ácido ascórbico e carotenóides, que interagem com as EROS e são consumidos durante a reação (TREVISAN, 2008; ARAÚJO, 2009; TORRES, 2009; ZIMMERMANN, 2010).

As enzimas são necessárias para a sobrevivência das células, mesmo em condições normais, elas atuam por mecanismos sinérgicos de modo a garantir a proteção celular. Contudo, esta proteção é assegurada apenas quando há manutenção de um equilíbrio na sua atividade que pode ser afetado na presença de EROS (MARTINS, 2010).

Os antioxidantes enzimáticos estão relacionados a seguir:

a) Superóxido dismutases (SOD): constitui a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de radicais livres, catalisando a dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio, protegendo em até 97% os alvos do ataque do anion superóxido (SOUZA, 2008; TREVISAN, 2008). Nos sistemas eucariontes existem duas formas de SOD. A forma CuZnSOD, presente principalmente no citosol e meio extracelular, e a MnSOD localizada na mitocôndria (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SOUZA, 2008).

b) Catalase: é uma heme proteína citoplasmática cuja principal função é converter o peróxido de hidrogênio formando em água e oxigênio molecular. Nesta reação, uma das moléculas de peróxido de hidrogênio é oxidada a oxigênio molecular e a segunda é reduzida à água. A catálise do peróxido de hidrogênio é de extrema importância para a célula, pois na presença de Fe^{+2} ocorre a formação do radical hidroxila (reação de Fenton), que é altamente reativo e danoso às biomoléculas. Esta enzima é encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado, sendo sua atividade dependente da NADPH (SANTOS, 2002; SOUZA, 2008 TORRES, 2009). A catalase pode usar outros doadores de elétrons (etanol, ascorbato e compostos fenólicos), além do NADPH, em condições de baixas concentrações (ZIMMERMANN, 2010).

c) Glutathione peroxidase: está presente tanto no citosol quanto na matriz mitocondrial; sua função é catalisar a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos para água e álcool, usando a glutathione (GSH) como doadora de elétrons (JARDIM, 2005; SOUZA, 2008; AITKEM; RAMOM, 2008; TORRES, 2009). Embora a GSH tenha ação fundamentalmente citosólica, *in vitro* ela é capaz de reduzir hidroperóxidos da membrana. Em modelo de hemocromatose experimental foi demonstrada redução de 36% na atividade da GSH em fígado de ratos (SOARES, 2002).

d) Glutathione peroxidase reduzida: é uma flavoproteína dependente da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e, portanto, também dependente da integridade da via das pentoses. Sob condições de diminuição do fornecimento de NADPH, como no jejum e na deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), há prejuízo da função da glutathione peroxidase reduzida. É a enzima responsável pela manutenção das concentrações intracelulares de GSH através da redução da glutathione oxidada (SOARES, 2002; SOUZA, 2008; TORRES, 2009).

e) Glutathione S-Transferase (GST): é o principal grupo de proteínas solúveis do fígado, envolvidas na detoxificação celular de compostos eletrofílicos, geradas intracelularmente ou encontradas na forma de xenobióticos. Essas proteínas são encontradas em diferentes formas, chamadas de isoenzimas. Sua ação detoxificante é importante na proteção contra estresse oxidativo, câncer e outras doenças degenerativas, incluindo aquelas associadas com o envelhecimento (TORRES, SOARES; PEREIRA, 2006).

A regulação do sistema de defesa antioxidante enzimático depende, principalmente, do substrato (EROS), da produção de co-substrato e da afinidade, seletividade e especificidade por esses substratos (SALVADOR; HENRIQUES, 2004).

Dentre os principais antioxidantes exógenos, ou seja, aqueles obtidos através da dieta, estão incluídos as micromoléculas lipofílicas e hidrofílicas, com capacidade de atuar em compartimentos biológicos, apolares e polares, respectivamente. As principais substâncias deste grupo são: glutathione (GSH), ácido úrico, tocoferol, o ascorbato, os carotenóides e os compostos fenólicos (JARDIM, 2005; SOUZA, 2008).

A glutathione (GSH) é um tripeptídeo (L- γ -glutamil-L-cisteinilglicina) que exerce funções essenciais na célula, destacando-se sua função como cofator da família de enzimas glutathione peroxidases (GPx), em que desempenha papel protetor contra o estresse oxidativo, com sua oxidação a dissulfeto da glutathione (GSSG). É um tampão redox sulfidrílico que mantém os resíduos de cisteinila da hemoglobina e de outras proteínas do eritrócito, no estado reduzido. O glutatião (SH total) é o principal tiol não protéico envolvido nas defesas antioxidantes e é o principal contribuinte para o estado redox das células (BRITO, 2007; VASCONCELOS et al., 2007). Um déficit nessa função resulta na formação de meta-hemoglobina e consequente incapacidade do eritrócito em transportar oxigênio, além de causar uma variação na forma do eritrócito, impedindo sua passagem para órgãos vitais (VASCONCELOS et al., 2007).

Os polifenóis, em particular o flavonóides atuam como sequestradores de radicais livres e quelantes de íons metálicos, causando modificações no estado *redox* da célula e desencadeando um conjunto de reações. Estes também podem interagir com receptores e/ou enzimas relacionadas com os sinais de transdução intracelulares (SOUZA, 2008; AZEVEDO, 2011). Estas substâncias polifenólicas

atuam na etapa de iniciação e propagação dos radicais livres ou supressão da formação dos mesmos (LIM; LIM; TEE, 2007).

A atividade antioxidante dos flavonóides depende da sua estrutura química e pode ser determinada através de 5 fatores: reatividade como agente doador de H e elétrons; estabilidade do radical flavonil formado; reatividade frente a outros antioxidantes; capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas. De um modo geral, quanto maior o número de hidroxilas, maior a atividade como agente doador de H e elétrons (ALVES et al., 2007).

Estudos têm mostrado que dietas constituídas de polifenóis, derivados de vegetais, são efetivos antioxidantes *in vitro*, pois possuem maior atividade antioxidante do que o tocoferol e o ácido ascórbico. Portanto, esses compostos podem contribuir significativamente para a proteção efetiva *in vivo*, atuando como antioxidantes endógenos (ZIMMERMANN, 2010).

Dietas a base de substâncias fenólicas apresentam uma baixa oxidação dos constituintes lipídicos, prevenindo o desenvolvimento de doenças, como aterosclerose, pois podem ser absorvidas e contribuírem para a inibição da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (GIEHL et al., 2007; ARAÚJO, 2009; ZIMMERMANN, 2010).

Alguns compostos fenólicos demonstraram ação hipocolesterolêmica, aumentando a excreção de ácidos biliares e inibindo a ação de enzimas de substâncias de respostas inflamatórias, reduzindo a absorção do colesterol no intestino, fígado, rins e cérebro. Desta forma, os compostos fenólicos contribuem para a prevenção de doenças neurológicas, cardiovasculares e cancerígenas (ARAÚJO, 2009; ZIMMERMANN, 2010).

Segundo Giehl et al., (2007) o suco de uva mostrou-se eficaz, diminuindo o desenvolvimento de placas lipídicas, porém em outros casos houve controvérsias, indicando a necessidade de mais pesquisas e resultados mais esclarecedores.

A retenção de polifenóis em tecidos corporais ocorre de maneira diferenciada ainda não claramente explicada pela literatura, porém já se sabe que a quantidade de metabólitos fenólicos tende a ser maior nos vários tecidos corporais do que no plasma sanguíneo (SOUZA, 2008).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos encontrados em uvas e derivados depende principalmente da suas propriedades redutoras e estrutura química nucleofílica, sendo que alguns mecanismos têm sido propostos: interrupção

da reação em cadeia da peroxidação lipídica, por meio de sua reação com algumas espécies radiculares; reações com metais pró-antioxidantes, tais como o ferro e o cobre, que são conhecidos por favorecer a formação dos radicais livres; supressão da peroxidação lipídica pela reciclagem de outros antioxidantes como os tocoferol e a preservação da atividade paraoxonase associada à lipoproteína de baixa densidade (HDL), a qual é capaz de proteger a lipoproteína de alta densidade (LDL) contra a oxidação (AZEVEDO, 2011; GRANATO, 2011).

O desempenho dos antioxidantes *in vivo* depende principalmente de fatores como: tipos de radicais livres formados, onde e como são gerados os mesmos e doses ideais para a proteção. Assim, é possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas não proteja ou mesmo aumente as lesões induzidas em outros sistemas ou tecidos (ARAÚJO, 2009).

2.5 Radiação ultravioleta

A radiação ultravioleta (UV) é uma radiação eletromagnética compreendida entre os comprimentos de onda da luz visível e dos raios X, mais precisamente entre 100 e 400 nanômetros (nm). Esta radiação foi dividida em intervalos de acordo com os efeitos biológicos produzidos: UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) e UV-C (100-280 nm) (SAUTTER, 2003; ALVES, 2006; LEITE, 2009; SEVERO, 2009).

Vários estudos vêm demonstrando que a radiação ultravioleta (UV-C), um tipo de radiação não-ionizante com comprimento de onda entre 100 e 280nm, constitui-se num método de conservação de alimentos (GONZÁLES-AGUILAR, *et al.*, 2007; SILVA, 2010). Além disso, a radiação ultravioleta age como um agente estressor abiótico nos tecidos dos vegetais, provocando uma situação de estresse o qual ativa os mecanismos de defesa da planta (BERTAGNOLLI *et al.*, 2007; SEVERO, 2009; COSTA, 2010). Estes mecanismos incluem a síntese e acúmulo de compostos antimicrobianos (fitoalexinas), modificações na parede celular, aumento na atividade de enzimas antioxidantes e indução do metabolismo dos compostos fenólicos, proporcionando proteção à deterioração, podendo inclusive melhorar o potencial funcional do alimento (ALOTHMAN *et al.*, 2009; COSTA, 2010; TIECHER, 2010).

Estudos comprovaram que a radiação UV-C aumentou significativamente o teor de compostos fenólicos totais em banana e goiaba, à medida que aumentou o tempo de exposição (10, 20 e 30min), em mangas, cv. "Haden", submetida à

radiação UV-C por 5 e 10 minutos e em maçãs (GONZÁLES-AGUIAR *et al.*, 2007; ALOTHMAN *et al.*, 2009; COSTA, 2010). Já em uvas irradiadas da variedade Isabel e Seibel 10.096, foi observado um considerável aumento na produção de antocianinas e resveratrol (SAUTTER, 2003). Em sucos, elaborados com uvas irradiadas e processadas laboratorialmente, o teor de resveratrol apresentou-se de 3,5 a 16 vezes mais concentrado do que o suco comercial integral, variação esta que depende da dose e do armazenamento empregado.

3 Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Frutas e Hortaliças e de Cromatografia de Alimentos – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), no Laboratório de Experimentação Animal do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) (Figura 4), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, no Departamento de Ciências Biomédicas do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul-RS, e no laboratório do Centro de Estudos em Estresse Oxidativo do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.



Figura 4. Laboratório de experimentação animal – CCQFA

Fonte: Autor, 2010.

3.1 Material

3.1.1 Suco de uva

As uvas *Vitis labrusca* cv. Ives, comumente denominada Bordô, utilizadas neste estudo, foram colhidas na região de Pelotas/RS (latitude de 31° 46'19" e longitude 52° 20'33"), na safra 2010; no vinhedo de 11 anos, conduzido em sistema de latada,

com plantas enxertadas em porta-enxerto Paulsen. A produtividade média desses vinhedos foi de 19 toneladas por hectare ($\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Imediatamente após a colheita, as uvas foram separadas em seis unidades experimentais de 25kg cada. Três unidades foram mantidas em temperatura ambiente ($23\text{-}25^{\circ}\text{C}$ e $75\text{-}85\%$ de UR), no escuro, por 24h (Suco Controle), e os demais foram tratados com radiação (UV-C) (lâmpadas fluorescentes (Phillips® 30w), $\lambda=254\text{nm}$, dose hormic de $7,4\text{Kj}/\text{m}^2$, à distância de aproximadamente 30cm da lâmpada) por 1h, seguido de armazenamento nas mesmas condições descritas para o tratamento controle por 23h. Após os tratamentos as uvas foram pesadas e obteve-se uma perda média de peso de 5,5% e 14% para uvas do tratamento controles e uvas tratadas com UV-C, respectivamente. Completado o período de armazenamento, cada unidade experimental, composta por aproximadamente 25kg de uva, foi submetida ao desengace, e os grãos foram utilizados para o preparo de suco, com o uso de suqueira com sistema de extração por vapor (PINHEIRO, 2009). No suco de uva, tratado com UV-C, acrescentou-se 9% de água, a fim de compensar a perda de água durante o processo de irradiação. O rendimento de suco processado foi de 63%, ou seja, 12L de suco para cada 19kg de bagas. Após, os sucos foram acondicionados em garrafas de polietileno tereftalato, à temperatura de 92°C , hermeticamente fechadas com tampas plásticas e destinadas às análises físico-químicas e biológicas.

O desenho experimental foi completamente casualizado, constituído de uvas provenientes da região de Pelotas, sem (Suco Controle) e com tratamento UV-C (Suco UV-C), com três repetições biológicas.

(A)



(B)



Figura 5. Suqueira (A) e (B) Suco de uva. Fonte: Google imagens, 2011; Autor, 2010.

3.1.2 Reagentes químicos

Os padrões cromatográficos utilizados foram da Sigma (St. Louis, MO), Sigma Aldrich (Steinheim, Germany), Chromadex (Irvine, USA), Synth (Diadema, Brazil) e Fluka (Milwaukee, WI): resveratrol, ácido p-hidroxibenzoico; quercetina, miricetina, (+) catequina, (-) epicatequina, cloreto de malvidina, cloreto de peonidina e cloreto de Kuromanina (cianidina-3-glicosídeo) todos com 96 a 99% de pureza.

Os reagentes utilizados para a atividade antioxidante *in vivo* foram os meios de cultura, extratos e reagentes da marca Merck. Os demais reagentes utilizados para a realização das diversas análises foram de grau P.A. ou UV/HPCL espectroscópico.

Os produtos químicos utilizados no ensaio biológico, bem como das análises enzimáticas e não enzimáticas, foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, EUA), Merck e Labtest Diagnóstica S.A.[®] (Lagoa Santa -MG).

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliações físico-químicas gerais

Foram realizadas análises, em triplicata, nos sucos elaborados com uvas *Vitis Labrusca*, tratadas ou não com radiação UV-C, da região de Pelotas-RS. As determinações realizadas foram: acidez titulável (expressa em % de ácido tartárico); açúcares totais (resultados expressos em % de glicose), segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, (2008); pH determinado à temperatura de 20°C em potenciômetro Digimed – DM-20, devidamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0; sólidos solúveis totais determinados por leitura direta em refratômetro de Abbé, a 20°C modelo RM-M3, Atago Co. Ltd., Tokyo, Japão, expressos em °Brix; densidade relativa mensurada através da razão entre massa e volume do suco à temperatura de 20°C; cor determinada em colorímetro Minolta CR-300 Chroma Meter (Ramsey,USA); antocianinas totais determinadas segundo o método descrito por Less e Francis (1972) e o teor estimado como miligramas de cianidina-3-glicosídeo por 100mL de suco, medido em espectrofotômetro (Ultrospect[®] 2000 UV/Visível Pharmacia); compostos fenólicos totais determinados pelo método de Folin-Ciocalteu segundo Singleton e Rossi (1965) e o resultado expresso em miligramas por 100mL de GAE (Ácido Gálico Equivalente), medido em

espectrofotômetro (Ultrospect® 2000 UV/Visível Pharmacia). Para quantificação dos compostos fenólicos foi empregada uma curva padrão de ácido gálico, obtendo-se a equação da reta expressa por $Y = 0,0011x - 0,0421$, com $R^2 = 0,9998$.

3.2.2 Avaliação antioxidante *in vitro* e *in vivo*

Atividade antioxidante *in vitro* foi determinada nos sucos segundo Miliauskas; Venskutonis e Van Beek (2004), com modificações realizadas por Azevedo (2011). O método baseia-se na redução do radical estável 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH). A atividade antioxidante foi determinada através da diferença de absorbância da solução de DPPH + extrato aos 0 e 30 minutos. O tempo de incubação de 30 min foi estabelecido com base em testes prévios realizados na amostra, com leitura de absorbância em 1min, 30min, 3h, 6h e 24h, onde se verificou a estabilização da amostra a partir dos 30min. Para a quantificação empregou-se uma curva padrão de Trolox, com equação da reta $Y = 0,5085x$, com $R^2 = 0,9975$. O resultado foi expresso em percentual de inibição (%) (equação 2) e em μM TEAC (equivalente de Trolox) mililitro de suco.

$$\% \text{ inibição} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$$

A_B = absorção da amostra 0 minuto = branco (sem extrato)

A_A = absorção da amostra aos 30 minutos

Equação 2. Cálculo para a % de inibição do radical DPPH.

A atividade antioxidante *in vivo* foi determinada nos sucos segundo metodologia descrita por Soares, Andrezza e Salvador (2005), utilizando células eucarióticas de leveduras *Saccharomyces* XV 185-14C (MATa, ade 2-1, arg 4-17, his 1-7, lys 1-1, trp 5-48, hom 3-10). A cepa foi mantida em meio *Yeast Peptone Dextrose* (YPD) sólido contendo extrato de levedura (1% m/v), glicose (2% m/v), peptona (2% m/v) e ágar (2% m/v). As células foram transferidas para um meio líquido (mesma composição de meios sólidos sem ágar) e cultivadas em um agitador orbital a 28°C e 160rpm. As suspensões contendo $2 \times 10^7 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ foram tratadas com extratos (sucos) diluídos em água na proporção de 1:5 para todos os tratamentos e incubadas por uma hora a 28°C sob agitação no escuro. Estas diluições foram estabelecidas em função da maior concentração não citotóxica determinada em ensaios preliminares. As células

foram centrifugadas (2000.g, 28°C por 5min), lavadas com 0,9% (m/v) de solução de cloreto de sódio (duas vezes). Por fim, as células foram tratadas com solução de água oxigenada 50mM por uma hora a 28°C. As amostras foram diluídas em uma solução de cloreto de sódio (0,9% m/v), semeadas em meio YPD e incubadas a 28°C por 72 horas. Após o período de incubação, as colônias foram contadas e determinados os percentuais de sobrevivência celular utilizando como referência as placas teste, onde o número total de colônias observadas na placa controle (sem tratamento) foram consideradas como 100% de sobrevivência celular.

3.2.3 Avaliações cromatográficas

As determinações dos compostos fenólicos individuais foram realizadas de acordo com o método descrito por Häkkinen et al. (1998). Os compostos fenólicos foram separados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando equipamento da Shimadzu equipado com injetor automático, detector UV-VIS a 280 nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 µm, 4,6 mm x 150 mm, Shimadzu) e coluna de guarda CLC-GODS (5 µm, 2 cm x 4 mm, Supelco). A fase móvel se constitui num gradiente de eluição com solução de ácido acético em água (99:1) (solvente A) e metanol (solvente B), com fluxo de 0,9 mL min⁻¹, cuja proporção se iniciou com 100% de A, alterando-se gradativamente até 60% de A e 40% de B, em 25 minutos; manteve-se constante esta proporção por 2 minutos e, em seguida, foi sendo gradativamente alterada até 95% de A e 5% de B, aos 37 minutos, mantendo-se constante por mais 5 minutos e, após, retornou à fase inicial, com tempo total de corrida de 45 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). Os compostos fenólicos foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões e quantificados com base nas curvas de calibração dos padrões externos. Os resultados foram expressos em mg.100g⁻¹ de suco.

As determinações de antocianinas individuais foram determinadas pelo método adaptado de Zhang (2004), descrito em Azevedo (2011). O sistema cromatográfico utilizado consistiu no sistema CLAE-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 520nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5µm, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS com fase estacionária de superfície octadecil. A fase móvel consistiu em um gradiente de eluição com solução aquosa de ácido acético (98:2, %v/v) (A),

metanol (B) e acetonitrila (C), com fluxo de $0,8\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, cuja proporção se iniciou com 100% de A, zero de B e C, alterando-se para 90% de A, 10% de C e zero de B, gradativamente diminuiu-se A para 80%, 10% de B e 10% C, permanecendo nesta concentração durante 15 minutos; em seguida, baixou-se a concentração de A para 70%, B para zero e C para 30%, permanecendo nesta concentração por 10 minutos, e finalmente aos 40 minutos retorna-se à fase inicial (A 100% e B e C zero). Os picos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões e quantificados através de curvas de calibração de padrão externo e os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de suco.

3.2.4 Ensaio biológico

O ensaio biológico foi realizado atendendo a todas as necessidades bioclimatológicas de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, durante o período de 13 de setembro de 2010 a 25 de novembro de 2010, totalizando 66 dias. O protocolo para a condução do ensaio biológico (processo nº 23110.001998/2009-64), foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas e retificado em agosto de 2011 (processo nº 23110.006694/2011-16) (Apêndice).

Neste estudo se utilizou roedores devido a estes apresentarem características fisiológicas e genéticas semelhantes à dos humanos (CARVALHO et al., 2009). Foram utilizados 48 *Rattus norvegicus* cepas Wistar/UFPel, machos, recém desmamados (21 dias), oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), com peso inicial variando entre 64 e 112g, e peso médio de 87,033g. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas de arame galvanizado, com tela coletora de fezes, funil coletor de urina, comedouro externo tipo cesta em arame galvanizado, e bebedouro de polipropileno com capacidade para 300mL. Durante o experimento o laboratório permaneceu sob condições de claro/escuro (fotoperíodo de 12h) e temperatura ($22\pm 2^\circ\text{C}$) controladas, como também sob renovação de ar por sistema de exaustão. Além disso, em paralelo ao procedimento semanal de pesagem dos animais, mudou-se a disposição vertical e horizontal de cada gaiola a fim de melhor distribuição de luz e ruídos presentes no ambiente e, conseqüentemente, diminuir fatores ambientais causadores de estresse.

O ensaio foi conduzido durante 66 dias, dos quais os primeiros 5 dias foram para adaptação dos animais às condições do ambiente e à dieta controle para roedores em crescimento (ração comercial Biotec®). Ao final do período de adaptação os animais foram pesados e redistribuídos nos grupos experimentais, tendo-se o cuidado em manter o peso médio dos grupos, minimizando a diferença entre os mesmos.

3.2.4.1 Dietas

Os animais recebiam como dieta base a ração comercial própria para roedores, marca Biotec® (Biobase Alimentação Animal, Águas Frias - SC), com a seguinte composição química:

Tabela 1. Composição química de ração comercial (Biotec®) para roedores

Composição química	Valores médios (%)
Umidade	12,0 máx.
Proteína bruta	22,0 mín.
Extrato etéreo	4,0 mín.
Minerais	10,0 máx.
Matéria fibrosa	8,0 máx.
Cálcio	1,4 máx.
Fósforo	0,8 mín.

Fonte: dados fornecidos pelo fabricante (BIOBASE – Alimentação Animal)

Diariamente, os animais receberam ração, acrescida de 0,3% de bitartarato de colina, conforme quantidade definida com base no estudo citado por MOREIRA (2010). A quantidade de ração ofertada aos animais foi definida em função do seu peso, ou seja, 10% de seu peso vivo (MEZADRI; TOMÁZ; AMARAL, 2004; SOARES; MACHADO; RODRIGUES, 2009; FARIAS, 2010). A colina, na forma de bitartarato, foi incorporada à dieta dos animais objetivando facilitar o transporte e metabolismo dos lipídios, uma vez que a presença da mesma é necessária para a síntese da fosfatidilcolina, substância essencial para a secreção da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) promotora do transporte lipídico do fígado para os demais tecidos do organismo (ARAÚJO, 2009).

A dieta, acrescida de bitartarato de colina, foi preparada semanalmente através de dissolução do bitartarato de colina em pó em etanol a 46% (v/v) na temperatura de 50°C, com imediata adição à ração em *pellets* na proporção de 0,3%, seguido de evaporação em estufa com circulação de ar a 50°C.

A dieta enriquecida com colesterol (dieta hipercolesterolêmica) foi preparada semanalmente através de dissolução de colesterol em pó (Eskisa, São Paulo) em etanol a 96% (v/v) na temperatura de 50°C, com imediata adição à ração na proporção de 0,2%, seguido de evaporação em estufa com circulação de ar a 50°C (RODRIGUES, 2003; MACHADO, 2007; ARAÚJO, 2009).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos experimentais (n=6), de acordo com a dieta (Figura 6):

- Grupo 1 – Ração Controle: animais alimentados com ração comercial;
- Grupo 2 - Suco Controle + ração comercial: animais alimentados com ração comercial + 5mL de suco de uva da cv. Bordô da região de Pelotas;
- Grupo 3 e 4 - Suco Tratamento (UV-C) + ração comercial: animais alimentados com ração comercial + 5mL de suco elaborados com uvas, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C da região de Pelotas;
- Grupo 5 – Ração Controle Colesterol: animais alimentados com ração comercial acrescida de 0,2% de colesterol cristalino (m/m);
- Grupo 6 - Suco Controle + ração comercial com colesterol: animais alimentados com ração comercial acrescida de 0,2% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de suco elaborados com uvas, cv. Bordô, da região de Pelotas;
- Grupo 7 e 8 - Suco Tratamento (UV-C) + ração comercial com colesterol: animais alimentados com ração comercial acrescida de 0,2% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de suco elaborados com uvas, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C da região de Pelotas.

Diariamente foram administrados 5mL de suco, no período da manhã, em bebedouros plásticos. Previamente a administração do suco era retirada a água e a ração remanescente. Sendo este o procedimento adotado para os demais grupos, para que assim todos fossem submetidos ao mesmo grau de estresse. Após a ingestão do suco de uva, todos os animais recebiam ração diária e água *ad libitum*.

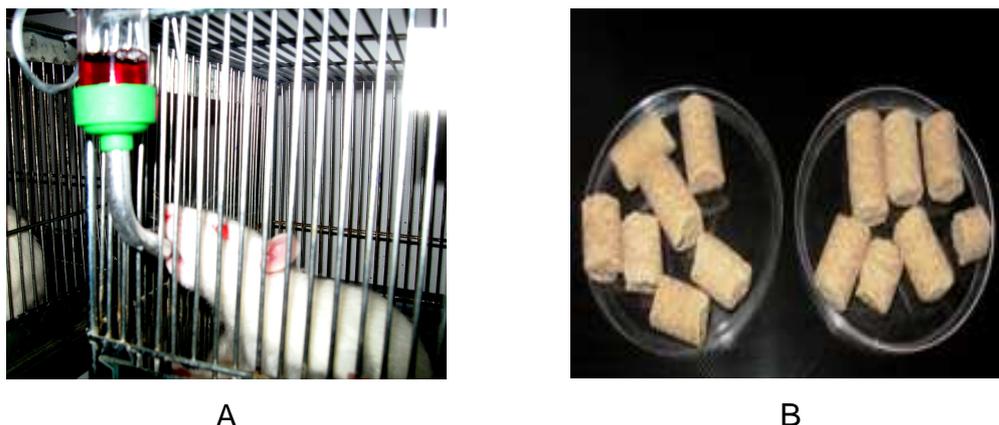


Figura 6: Rato recebendo a bebida experimental (A) e Ração (B). Fonte: Autor, 2010.

3.2.4.2 Coeficiente de eficiência alimentar (CEA)

Durante o experimento foi realizada pesagem dos animais (semanalmente) e da ração remanescente (diariamente). Estes dados foram utilizados para determinar o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), calculado pela razão entre o ganho de peso e a quantidade total de ração ingerida durante o experimento.

3.2.4.3 Avaliações bioquímicas

Ao final do experimento (66 dias), após os animais serem submetidos a um jejum de 12h, foi realizada a eutanásia por decapitação com o auxílio de uma guilhotina. Após o sacrifício, primeiramente, se coletou o sangue, depois as carcaças dos animais foram medidas e seus órgãos fígado, rim, coração e cérebro, bem como a gordura corporal (mesentérica, renal e inguinal), foram retirados, lavados com solução fisiológica de NaCl 0,9% gelada, enxutos em papel filtro, pesados e armazenados para posterior análises. Após a retirada do fígado e do cérebro (córtex frontal), estes foram imediatamente colocados em uma superfície com gelo para que fosse retirado do fígado o lóbulo direito e do cérebro o córtex frontal, sendo após armazenados e congelados em *ultra-freezer* até o momento da análise. As carcaças restantes foram armazenadas em saco branco leitoso (BRASIL, 2003) e congeladas para então serem recolhidas e incineradas por empresa especializada contratada pela UFPEL, bem como todos os materiais perfurocortantes.

Após a coleta do sangue, este foi dividido em 3 frações destinadas às análises de glicose, colesterol e frações e determinações enzimáticas. A determinação de

glicose sanguínea (mg.dL^{-1}) foi realizada imediatamente após a coleta do sangue em glicosímetro ACCUTREND GCT (Laboratórios Roche do Brasil®) o qual fornece a dosagem direta de glicose no sangue. As determinações de triacilglicerídeos (TG), colesterol total e lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) foram realizadas após o sangue de cada animal ser centrifugado a 1000g durante 15 minutos, a temperatura de 4°C, objetivando a obtenção do soro. Estas análises foram realizadas através de métodos enzimáticos Triglicérides Liquiform, Colesterol Liquiform e HDL LE (Labtest Diagnóstica S.A.®, Lagoa Santa - MG) respectivamente. A fração da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) é calculada conforme a equação 3 e a fração da lipoproteína de baixa densidade (LDL colesterol) é calculada utilizando-se a fórmula de Friedewald (equação 4) conforme Cordova et al. (2004).

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5$$

Equação 3 . Cálculo da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL)

$$\text{LDL colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL colesterol} - (\text{TG}/5)$$

Equação 4. Cálculo de LDL-colesterol

A determinação de espécie reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada segundo DRAPER e HADLEY (1990) e DAL-PIZZOL et al., (2000) e os resultados expressos em nmol MDA.mg^{-1} proteína;

O potencial antioxidante não enzimático (TRAP) mede a inibição da luminescência gerada pela reação induzida do radical peroxil com o luminol pela amostra biológica, realizado segundo LISSI et al., (1992) e os resultados transformados em porcentagem (DRESCH et al., 2009);

O Tiol total (SH) mede a reação do ácido 5,5'-ditio-bis-2 nitrobenzóico (DTNB) com os grupamentos SH total (tiol reduzido) de proteínas e outros compostos tiólicos como GSH. O desenvolvimento de cor se dá pela reação dos grupos tióis com DTNB, e conseqüentemente liberação de TNB, a qual pode ser medida fotometricamente em 412 nm ($\epsilon = 13.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Um segundo branco na presença de DTNB foi realizado para descontar sua absorvância basal. Os resultados expressos em $\mu\text{mol SH.mg}^{-1}$ proteína (ELLMAN,1959; WENDEL, 1981).

A atividade das enzimas antioxidantes foram realizadas em sangue, fígado e córtex frontal. A atividade enzimática foi normatizada pela quantidade de proteína total. A quantificação de proteínas totais foi determinada pelo método Lowry et al., (1951) usando-se albumina de soro bovino como padrão.

a) Superóxido dismutase (SOD): a atividade foi avaliada por meio da inibição da autooxidação da adrenalina pela SOD. Os resultados são expressos em unidades SOD.mg⁻¹ de proteína (MISRA e FRIDOVICH, 1972).

b) Catalase: se baseia na quantificação da velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela enzima, mediante o decréscimo da densidade ótica a 230nm. O consumo de H₂O₂ pode ser utilizado como medida da atividade da catalase, uma vez que a taxa de decomposição do H₂O₂ é diretamente proporcional a atividade da enzima. A quantificação da catalase é expressa em unidades catalase mg⁻¹ de proteína (AEBI, 1984).

c) Glutathione S-Transferase (GST): A conjugação de GSH com o substrato clorodinitrobenzeno (CDNB) catalisada pela GST produz um composto que pode ser detectado em 340nm ($\epsilon = 9.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A atividade enzimática é proporcional à velocidade de produção do composto conjugado (HABIG et al., 1974). Desta atividade é descontada a reação basal obtida pela leitura da reação entre a GSH do ensaio e o CDNB, sem a presença da amostra. O ensaio enzimático de 5 minutos foi realizado em tampão fosfato de potássio (KPi) 100 mM, EDTA 1 mM, pH 7,0 contendo 1 mM GSH. Como substrato iniciador foi utilizado 1 mM de CDNB. A absorbância basal foi descontada a partir da leitura da reação do ensaio na ausência da amostra (TREVISAN, 2008). Os resultados foram expressos em unidades de GST. mg⁻¹ de proteína.

3.2.4.4 Medidas antropométricas

Após a eutanásia e antes da abertura da cavidade torácica dos animais, foi realizada a medida de comprimento entre os membros torácicos e a medida da circunferência do abdômen de cada animal, com o auxílio de fita métrica. As medidas foram expressas em centímetros.

3.2.4.5 Determinação dos pesos dos órgãos retirados

Após a retirada do coração, rim e fígado, estes foram lavados em soro fisiológico, enxutos em papel filtro e pesados.

3.2.4.6 Determinação de lipídios no fígado

As determinações de lipídeos totais nos fígados foram realizadas, em triplicata, de acordo com Bligh e Dyer (1959) com modificações descritas por Araújo (2009) e os resultados expressos em porcentagem.

3.2.4.7 Avaliação da gordura corporal

A gordura corporal (mesentérica, renal e inguinal) foi pesada em balança analítica, capacidade de 200g e precisão de 0,01g, a fim de se estimar o conteúdo de gordura corporal presente nos animais. Os resultados foram expressos em gramas (MOREIRA, 2010).

3.2.4.8 Avaliação das fezes

Durante os últimos 20 dias do experimento, foram coletadas diariamente de cada gaiola, as fezes dos animais. Estas foram homogeneizadas a fim de se obter uma amostra única e determinou-se, em triplicata, volume, umidade, lipídios e proteínas segundo Araujo (2009), Silva (2009) e Moreira (2010). O fator de conversão protéico utilizado para todas as amostras foi de 6,25.

3.2.5 Avaliação estatística

Os dados, das análises físico-químicas e biológicas do experimento, foram analisados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilks e homocedasticidade pelo teste de Hartley e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Os dados dos efeitos tratamentos (Suco controle e Suco UV-C) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste t ($p \leq 0,05$), para comparação de médias. A comparação com o controle na variável sobrevivência de

leveduras foi realizada pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Os efeitos de ração (Ração Controle e Ração Colesterol) foram avaliados pelo teste t ($p \leq 0,05$), e os efeitos de bebida por comparação de médias pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (Sas Institute, 2002).

4 Resultados

4.1 Resultados das determinações físico-químicas

Os valores médios das determinações físico-químicas obtidas para os sucos de uva Bordô, da região de Pelotas-RS, produzidos com uvas tratadas com radiação UV-C, safra 2010, estão relacionados na Tabela 2.

Tabela 2. Determinações físico-químicas dos sucos elaborados com uvas cv. Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas e não tratadas com radiação UV-C

Variáveis	Tratamentos	
	Suco Controle	Suco UV-C
Acidez total (mg.100ml ⁻¹ ác.tartárico)	0,77 a ^{1/}	0,65 a
Açúcares totais (% de glicose)	11,39 b	11,95 a
Sólidos solúveis (°Brix a 20°C)	13,10 b	13,35 a
pH	3,05 a	3,14 a
Densidade	1,03 a	0,92 b
Extrato seco (%)	13,50 b	14,56 a
Umidade (%)	86,51a	85,40 b
Cor (ângulo H ⁰)	115,51a	103,31 b
Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico.100ml ⁻¹ suco)	410,00 b	436,61 a
Antocianinas totais (mg cianidina 3-glicosideo.100mL ⁻¹ suco)	247,50 b	263,16 a
Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> (μM TEAC.mL ⁻¹ suco)	27,60 b	29,74 a
DPPH (%)	79,99 b	87,48 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os tratamentos.

As variáveis acidez total e pH não apresentaram diferença significativa (p≤0,05) entre os sucos de uvas controle e tratamento UV-C (Tabela 2).

As variáveis densidade, umidade e cor apresentaram diferença significativa (p≤0,05) entre os tratamentos, sendo que o tratamento controle obtendo valores mais altos do que o tratamento UV-C (Tabela 2).

As demais variáveis (açúcares totais, sólidos solúveis, extrato seco, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante) apresentaram maiores valores nos sucos de uvas tratadas com radiação UV-C. (Tabela 2).

A composição dos compostos fenólicos individuais, bem como as concentrações destes nos sucos de uvas controle e tratamento UV-C, estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Compostos fenólicos e antocianinas individuais (mg do composto.100g⁻¹ suco) dos sucos elaborados com uvas Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas e não tratadas com radiação UV-C

Variáveis	Tratamento	
	Suco Controle	Suco UV-C
Compostos fenólicos individuais (mg do composto.100g ⁻¹ suco)		
Catequina	36,21 a ^{1/}	33,90 b
Epicatequina	42,31 a	39,35 b
p- Hidroxicinâmico	14,54 a	17,52 a
Caempferol	0,23 a	0,21 a
Quercetina	2,31 b	11,23 a
Trans-resveratrol	0,00 b	0,36 a
Peonidina	35,68 a	35,19 a
Malvidina	110,23 a	114,98 a
Delfinidina	98,56 b	112,42 a
Cianidina	Nd	nd

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os tratamentos. nd não identificado.

Dos compostos fenólicos analisados nos sucos de uvas se pode observar que não houve diferença significativa (p≤0,05) entre o suco de uvas controle e suco UV-C, em relação ao teor de p-hidroxicinâmico, caempferol, peonidina e malvidina (Tabela 3). Porém para os teores de catequina e epicatequina obteve-se diferença significativa entre o suco controle e suco UV-C, mas com redução nos valores, encontrados para essas variáveis, no suco de uva elaborado com uvas tratadas com UV-C.

Em relação ao teor de quercetina, trans-resveratrol e delfinidina ente os sucos de uvas controle e tratamento UV-C, houve diferença significativa (p≤0,05), com incremento nos sucos de uva tratamento UV-C. Não foi encontrada cianidina em nenhum dos sucos (Tabela 3).

A capacidade antioxidante *in vivo* dos sucos foi mensurada através da sobrevivência de células de leveduras *S. cerevisiae* e está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Sucos elaborados com uvas cv. Bordô, da região de Pelotas-RS, safra 2010, tratadas e não tratadas com radiação UV-C e seu efeito sobre a sobrevivência de leveduras

Tratamentos	Sobrevivência de leveduras (%)
Controle positivo (água)	99,00
Controle negativo (H ₂ O ₂ 50mM)	42,67
Suco Controle + H ₂ O ₂ 50mM	54,67 b*
Suco UV-C + H ₂ O ₂ 50mM	72,33 a ^{1/} *

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) em função do tratamento suco controle e suco UV-C. * significativo pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$) em função do controle negativo.

A atividade antioxidante *in vivo* pode-se observar que ambos os sucos apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao controle positivo e negativo. Os sucos diferiram estatisticamente entre si, sendo que o suco UV-C obteve uma maior atividade antioxidante frente às células de leveduras.

Verificou-se correlação positiva entre as determinações de atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* (atividade medida através da reação de sequestro do radical DPPH), teor de compostos fenólicos totais e antocianinas totais. Houve correlação positiva entre a atividade antioxidante *in vivo* e delphinidina, quercitina, resveratrol, sólidos solúveis, acidez total e extrato seco e correlação negativa com a catequina, epicatequina, cor, densidade e umidade, sendo que com as demais determinações não houve correlação (Apêndice).

4.2 Resultados do ensaio biológico

Em relação as medidas antropométricas verificou-se a interação entre os tratamentos “bebida” e “ração” sobre as variáveis peso da gordura corporal, medidas torácicas e efeito individual para o tratamento bebida para as variáveis, peso do coração, medida abdominal e coeficiente de eficiência alimentar. Também se observou efeito individual da ração sobre a gordura do fígado, peso do fígado, peso do coração, peso do rim e medida abdominal (Tabela 5, 6 e 7).

Tabela 5. Medidas antropométricas (peso da gordura mesentérica e medidas torácica) dos ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas, cv.Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração			
	Peso gordura corporal (g)		Medida torácica (cm)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	12,00 b*	14,76 a	13,00 b*	13,75 a
Suco controle	16,98 a ^{ns}	16,56 a	14,42 a ^{ns}	13,92 a
Suco UV-C	17,67 a*	15,80 a	13,37 b*	14,33 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração

Não se verificou efeito dos tratamentos avaliados neste estudo para as variáveis peso inicial (após 7 dias de adaptação) e final dos animais, ganho de peso e ração consumida durante todo o experimento, sendo suas médias 134,02g; 340,17g; 206,14g e 1022,05g, respectivamente (Apêndice).

Os animais que bebiam suco apresentaram maior índice de gordura corporal do que os animais que recebiam água, independente da ração ingerida. Porém os animais aos quais se administrava dieta (ração com colesterol e suco UV-C) apresentaram redução de gordura corporal quando comparados com os animais que ingeriam ração controle e o mesmo suco.

Observou-se que os animais que recebiam dietas controle (suco controle e ração controle) apresentaram menor medidas torácicas dos que recebiam água e suco UV-C, não encontrando diferença estatística nos animais que recebiam dieta com colesterol e as bebidas administradas. Mas comparando os tratamentos suco UV-C e controle (água), no tratamento ração controle, com os animais que recebiam ração com colesterol, com as mesmas bebidas, pode-se verificar que o tratamento ração colesterol obteve maior medida torácica (Tabela 5).

Tabela 6. Medidas antropométricas (peso do coração, medida abdominal e coeficiente de eficiência alimentar (CEA)) dos ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas, cv.Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Peso coração (g)	Medida abdominal (cm)	CEA
Controle (água)	1,00 b ^{1/}	18,70 b	0,191 b ^{1/}
Suco controle	1,04 ab	19,00 ab	0,203 a
Suco UV-C	1,10 a	19,56 a	0,206 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Analisando a tabela 6, observa-se que os animais que receberam sucos UV-C, apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos animais que beberam água, quando se determinou o peso do coração, medida abdominal e coeficiente de eficiência alimentar. Não sendo detectado efeito do tratamento ração sobre as variáveis peso do coração, medida abdominal e coeficiente de eficiência alimentar (CEA).

Tabela 7. Medidas antropométricas (peso da gordura do fígado, peso do fígado, peso do coração, peso do rim e medida abdominal) dos ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Ração	Gordura fígado (%)	Peso fígado (g)	Peso coração (g)	Peso rim (g)	Medida abdominal (cm)
Controle	4,72 *	11,07 *	1,10 *	2,41 *	18,83 *
Colesterol	5,21	11,87	1,02	2,51	19,53

* significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Pode-se observar que os animais que receberam ração controle apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando comparados com os animais que ingeriram a ração com colesterol, independente da bebida consumida (Tabela 7). Com relação às variáveis gordura do fígado, peso do fígado, peso do rim e medida abdominal, não se encontrou efeito do tratamento bebida sob essas variáveis.

Nas Tabelas 8, 9 e 10 observa-se a concentração média da lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), glicemia colesterol total, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e triacilglicerídeos no soro de ratos *Wistar*, após 66 dias de experimento.

Através da análise estatística verificou-se que ocorreu interação entre os tratamentos bebida e ração sobre as variáveis lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e glicemia, efeito individual de bebida para a variável colesterol total e VLDL e efeito individual da ração para a variável colesterol total e triglicerídeos.

Tabela 8. Valores médios para a lipoproteína de alta densidade total (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) no soro e glicemia no sangue de ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração					
	HDL (mg.dL ⁻¹)		LDL (mg.dL ⁻¹)		Glicemia (mg.dL ⁻¹)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	23,89 a ^{ns}	23,89 a ^{1/}	20,25 a*	38,25 a	108,75 a ^{ns}	111,50 a
Suco controle	27,40 a ^{ns}	25,26 a	14,84 b*	17,66 b	92,25 a ^{ns}	103,75 a
Suco UV-C	27,02 a ^{ns}	25,19 a	14,91 b ^{ns}	14,61 b	100,12 a ^{ns}	104,75 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração. HDL (Lipoproteína de alta densidade); LDL (Lipoproteína de baixa densidade).

Analisando os resultados das determinações de HDL pode-se notar que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos bebidas e ração. Mas na determinação de LDL ocorreu diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos bebidas, e entre o tratamento ração (Tabela 8).

Com relação ao índice de glicose no sangue dos animais, verificou-se que estes apresentaram valores médios próximos a 100mg.dL⁻¹. Os animais tratados com sucos de uva apresentaram níveis de glicose semelhantes, ou seja, não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) dos animais controle, independente da ração consumida por estes animais.

Tabela 9. Valores médios de colesterol total e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no soro de ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	VLDL (mg.dL ⁻¹)
Controle (água)	64,08 b ^{1/}	35,83 a
Suco controle	70,20 b	26,22 b
Suco UV-C	87,24 a	37,89 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade).

Analisando a Tabela 9 pode-se verificar que os grupos de animais que recebiam o suco de uva UV-C apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$) na determinação de colesterol total, mas em relação à lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) esse grupo apresentou diferença estatística dos animais do grupo suco controle e não se mostrou diferente do grupo controle (água).

Os animais do grupo suco UV-C obtiveram níveis de colesterol total mais elevado do que os do grupo controle (água).

Tabela 10. Valores médios de colesterol total e triglicerídeos no soro de ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Ração	Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	Triglicerídeos (mg.dL ⁻¹)
Controle	71,41*	173,33 *
Colesterol	82,98	216,11

* e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, na mesma coluna, pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Os valores médios de colesterol total e triglicerídeos apresentados na Tabela 10 indicam que os animais tratados com ração colesterol apresentaram níveis de colesterol total e de triglicerídeos mais elevados quando comparados com os animais que se alimentaram com a ração controle.

Os valores médios das determinações bioquímicas do córtex frontal de ratos *Wistar* submetidos a dietas hipercolesterolêmica estão dispostos nas tabelas 11, 12 e 13). Observou-se através da análise estatística que ocorreu interação entre o efeito tratamento bebida e tratamento ração para as variáveis reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e Tiol reduzido (SH), e efeito individual de bebida para as determinações de catalase, potencial antioxidante não enzimático (TRAP) e superóxido dismutase (SOD), e efeito individual de ração para as determinações de potencial antioxidante não enzimático (TRAP) e superóxido dismutase (SOD). Para a determinação de glutatona S-transferase (GST) não ocorreu efeito significativo para nenhum dos tratamentos (Apêndice).

Tabela 11. Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS e SH total) do córtex frontal de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração			
	TBARS (nmol DMA.mg ⁻¹ proteína)		SH total (μmol SH.mg ⁻¹ proteína)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	0,53 a ^{ns}	0,61 a ^{1/}	90,73 a*	79,12 a
Suco controle	0,43 a ^{ns}	0,56 a	88,87 a*	79,15 a
Suco UV-C	0,48 a ^{ns}	0,58 a	88,68 a*	68,94 b

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração. TBARS (Espécie Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico); SH total (Tiol reduzido).

Analisando a tabela 11 observa-se que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos bebida e ração para as determinações de TBARS e SH total, com exceção da determinação de SH total no tratamento ração colesterol.

O grupo hipercolesterolêmico apresentou atividade não enzimática (SH total) significativamente ($p \leq 0,05$) inferior ao grupo controle (Tabela 11).

Tabela 12. Respostas dos níveis bioquímicos (TRAP, catalase e SOD) do córtex frontal de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	TRAP (%)	Catalase (unidades catalase.mg ⁻¹ de proteína)		SOD (unidades SOD.mg ⁻¹ de proteína)	
Controle (água)	37,89 b	0,52 b ^{1/}	49,34 b		
Suco controle	41,00 ab	0,56 ab	61,23 a		
Suco UV-C	45,94 a	0,66 a	65,75 a		

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. TRAP (Potencial Antioxidante não Enzimático); SOD (Superóxido Dismutase)

Com relação à capacidade antioxidante total (TRAP) e atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, medida no córtex frontal de ratos *Wistar*, observa-se que o tratamento suco UV-C apresentou valor significativamente ($p \leq 0,05$) superior ao tratamento controle (água), mas não diferiu do grupo suco controle (Tabela 12).

Tabela 13. Respostas dos níveis bioquímicos (TRAP e SOD) do córtex frontal de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Ração	TRAP (%)	SOD (unidades SOD.mg ⁻¹ de proteína)
Controle	37,75 *	57,73 ^{ns}
Colesterol	45,40	63,31

* e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração. TRAP (Potencial Antioxidante não Enzimático); SOD (Superóxido Dismutase)

Neste estudo, o grupo de animais que recebia dieta (ração colesterol) apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) do grupo de animais que recebia ração controle, quando se determinou o potencial antioxidante não enzimático (TRAP). Fato este que concorda com a teoria do estresse oxidativo, ou seja, aumenta a atividade antioxidante do organismo quando este ingere dietas ricas em hipercolesterolêmica (Tabela 13).

Em relação à atividade enzimática da superóxido dismutase não se observou diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando se comparou as rações administradas aos animais (Tabela 13).

Através da análise estatística observou-se, no fígado dos animais, interação do efeito bebida entre ração para as variáveis TBARS, SH total, TRAP e GST. Mas ocorreu efeito individual de bebida para a atividade enzimática da catalase e para a atividade da superóxido dismutase não se observou diferença significativa a $p \leq 0,05$. Para a atividade da SOD não ocorreu efeito significativo para nenhum dos tratamentos (Tabela 14 e 15) (Apêndice).

Tabela 14. Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS, SH total, TRAP e GST) do fígado de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	TBARS (nmol DMA.mg ⁻¹ proteína)		SH total (µmol SH.mg ⁻¹ proteína)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	0,17 a*	0,13 c ^{1/}	182,13 a ^{ns}	186,65 a
Suco controle	0,14 a*	0,21 a	145,98 a ^{ns}	141,51 b
Suco UV-C	0,17 a ^{ns}	0,16 b	111,63 b*	133,73 c
Bebida	TRAP (%)		GST (unidades de GST.mg ⁻¹ proteína)	
	controle	colesterol	controle	colesterol
Controle (água)	67,26 b ^{ns}	64,92 b	247,39 a ^{ns}	268,95 a
Suco controle	68,90 ab ^{ns}	75,00 a	205,75 b ^{ns}	217,29 b
Suco UV-C	73,49 a ^{ns}	70,68 ab	202,05 b ^{ns}	202,74 b

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t

($p \leq 0,05$), em função de ração. TBARS (Espécie Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico); TRAP (Potencial Antioxidante não Enzimático); SH total (Tiol reduzido); GST (Glutathione S-transferase)

Não se observou diferença significativa entre os tratamentos bebidas na ração controle quando se determinou TBARS, sendo o contrário para o tratamento ração colesterol, sendo que os animais alimentados com ração com colesterol demonstraram um aumento nos níveis de TBARS, principalmente quando estes ingeriam sucos (Tabela 14).

Analisando a tabela 14 observou-se, no tratamento bebida, que houve diferença significativa no tratamento ração colesterol, para a determinação do potencial antioxidante total (TRAP) (Tabela 14).

Com relação às determinações de SH total e GST, verificou-se uma redução significativa nos níveis dessas determinações nos fígados dos animais quando estes ingeriram os sucos de uvas. Mas entre os sucos só houve diferença significativa quando se determinou SH total nos fígados dos ratos que recebiam ração com colesterol (Tabela 14).

Tabela 15. Respostas dos níveis bioquímicos (catalase) do fígado de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Catalase (unidades catalase.mg ⁻¹ proteína)
Controle (água)	95,22 b ^{1/}
Suco controle	107,91 a
Suco UV-C	107,77 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas.

Verificou-se que nos fígados dos animais que bebiam sucos ocorreu um aumento nos níveis da atividade da catalase, quando comparados com o controle (água) (Tabela 15). Mas entre os grupos suco controle e suco UV-C não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Dentre as respostas bioquímicas realizadas no plasma dos animais analisados neste estudo, verificou-se o efeito da interação entre o tratamento bebida e o tratamento ração para as variáveis TBARS, TRAP e SH total. Para a atividade enzimática da catalase, SOD e GST não ocorreu efeito significativo para nenhum dos tratamentos (Tabela 16) (Apêndice).

Tabela 16. Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS, TRAP e SH total) do plasma de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração					
	TBARS (nmol DMA.mg ⁻¹ proteína)		TRAP (%)		SH total (μmol SH.mg ⁻¹ proteína)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	0,006 a ^{ns}	0,006 a ^{1/}	36,84 a ^{ns}	33,87 a	4,57 a ^{ns}	5,08 a
Suco controle	0,005 a ^{ns}	0,007 a	40,42 a ^{ns}	34,18 a	4,08 a ^{ns}	3,44 c
Suco UV-C	0,007 a ^{ns}	0,007 a	40,97 a ^{ns}	37,86 a	4,41 a ^{ns}	4,20 b

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração. TBARS (Espécie Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico); TRAP (Potencial Antioxidante não Enzimático); SH total (Tiol reduzido).

Dentre as respostas bioquímicas encontradas na tabela 16, pode-se verificar que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas determinações de TBARS, TRAP e SH total no plasma dos animais, tratados com sucos e dietas (ração controle e ração colesterol), quando comparados com o controle (água), com exceção da determinação de SH total para o grupo ração colesterol (Tabela 16).

No sangue dos animais deste estudo observou-se a interação do efeito do tratamento bebida com o tratamento ração para as variáveis TBARS e efeito individual para a atividade da catalase e SOD, sendo que para as demais determinações TRAP, SH total e GST não houve efeito para nenhum tratamento (Tabela 17 e 18) (Apêndice).

Tabela 17. Respostas dos níveis bioquímicos (TBARS) do sangue de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração	
	TBARS (nmol DMA.mg ⁻¹ proteína)	
	Controle	Colesterol
Controle (água)	0,023 a ^{ns}	0,021 b ^{1/}
Suco controle	0,019 a*	0,039 ab
Suco UV-C	0,046 a ^{ns}	0,048 a

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração. TBARS (Espécie Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico).

Observou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos bebida no tratamento ração controle para a determinação de TBARS. No tratamento colesterol ocorreu diferença entre o suco UV-C e o controle (água), mas não houve diferenças entre os sucos para a mesma determinação (Tabela 17).

Tabela 18. Respostas dos níveis bioquímicos (Catalase e SOD) do sangue de ratos *Wistar* submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebidas	Catalase	SOD
	(unidades catalase.mg ⁻¹ proteína)	(unidades SOD.mg ⁻¹ proteína)
Controle (água)	22,20 b ^{1/}	15,32a
Suco controle	26,83 a	14,91b
Suco UV-C	27,24 a	17,75b

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. SOD (Superóxido Dismutase)

Já em relação à atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase verificou-se que suas atividades aumentaram quando se administrou suco UV-C aos animais (Tabela 18).

Analisando as fezes dos animais, as quais foram coletadas durante os últimos 20 dias do experimento, quanto ao conteúdo de proteína, volume, peso, umidade e gordura, pode-se verificar através da análise estatística que houve interação entre os tratamentos bebidas e ração somente para as variáveis peso e umidade e efeito individual para a variável gordura, sendo que para o volume e proteína não se verificou efeito em nenhum dos tratamentos (Tabela 19 e 20).

Tabela 19. Análise físico-química nas fezes dos ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv. Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Ração			
	Peso das fezes (g)		Umidade das fezes (%)	
	Controle	Colesterol	Controle	Colesterol
Controle (água)	34,35 a ^{ns}	35,01 b ^{1/}	20,80 a ^{ns}	20,20 a
Suco controle	39,17 a ^{ns}	39,63 ab	16,35 b ^{ns}	16,25 b
Suco UV-C	40,22 a ^{ns}	41,00 a	14,20 b ^{ns}	13,00 c

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas. * e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$), em função de ração.

Na tabela 19 não se observa diferença significativa entre os tratamentos bebidas e ração controle, porém o contrário foi verificado para o tratamento ração colesterol para a variável peso das fezes dos animais (Tabela 19).

Com relação à umidade das fezes, pode-se constatar que houve diferença entre os tratamentos bebidas independente da ração administrada (19).

Porém não se verificou diferença entre os tratamentos ração, para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 19)

Tabela 20. Análise físico-química nas fezes dos ratos *Wistar*, submetidos à dieta hipercolesterolêmica, tratados com sucos elaborados com uvas cv.Bordô, irradiadas e não irradiadas, safra 2010

Bebida	Gordura das fezes (% lipídeos totais)
Controle (água)	4,84 a ^{1/}
Suco controle	4,66 ab
Suco UV-C	4,44 b

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as bebidas.

Com relação ao teor de lipídios totais das fezes pode observar-se que o grupo suco UV-C diferiu do grupo controle (água), mas não diferiu do grupo suco controle e este por sua vez não diferiu do grupo controle (água) (Tabela 20). Observando a Tabela 20 verifica-se que o grupo suco UV-C apresentou menor quantidade de gordura no fígado do que os demais grupos.

5 Discussão dos resultados

5.1 Respostas das determinações físico-químicos

O aumento na concentração de sólidos solúveis e açúcares totais no suco de uva elaborado com uvas tratadas com radiação UV-C, indica que o tratamento UV-C acelerou o metabolismo celular do vegetal. Pode-se inferir que possivelmente a aplicação da radiação UV-C estimule a hidrólise de pectinas, com consequente aumento de derivados de galactose. Sautter (2003) em sua pesquisa com uvas dos cultivares Isabel e Seibel 10.096, tratadas com baixa e alta radiação, observou que o teor de sólidos solúveis encontrado nos sucos tratados foi menor do que o suco controle, esse fato pode ter ocorrido devido ao consumo de açúcares para a biossíntese de outros compostos, tais como o resveratrol. Segundo o mesmo autor esta hipótese foi reforçada pelo pouco teor de açúcares totais encontrado nos sucos com baixa radiação, mas contraposta pelos elevados valores nos sucos com alta radiação.

Os sucos elaborados com uvas tratadas com radiação UV-C apresentaram valores médios de compostos fenólicos totais, teor de antocianinas totais e atividade antioxidante *in vitro* (DPPH) maiores dos que os sucos controle. Ao contrário desse estudo, Erkan et al. (2008) citam que a radiação UV-C teve pouco efeito sobre as antocianinas em morangos, mas em cereja, maçã e uva à radiação UV-C promoveu a síntese das antocianinas. Rocha e Guerra (2008) citam que a luz UV estimula a biossíntese de flavonóis e também possui efeito sobre na formação de flavonóides, inclusive de antocianinas.

Alothman, Bhat e Karim (2009), explicam que a radiação UV-C pode induzir o acúmulo de compostos fenólicos em plantas como mecanismo de defesa contra o excesso de luminosidade. Este acúmulo de polifenóis produz um estresse abiótico nos tecidos da planta e afeta o metabolismo fenólico em diferentes vias, tanto na

síntese de resveratrol como na síntese de chalcona e seus derivados, sendo eles flavonóides, antocianinas e compostos aromáticos (BERTAGNOLLI et al., 2007; GUERRERO et al., 2010). O aumento de compostos fenólicos pela radiação de vegetais também pode ser atribuído à atividade da fenilalanina amônia-liase, que é uma das enzimas-chave na síntese de compostos fenólicos em tecidos vegetais, e também à despolimerização e dissolução dos polissacarídeos da parede celular, o que facilita a maior extração dos polifenóis (ALOTHMAN, BHAT e KARIM, 2009).

Os compostos fenólicos presentes nas uvas são os flavanóis (catequina, epicatequina e epigalocatequina), flavonóis (caempferol, quercitina e mirecitina) e antocianinas (cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina), ácidos fenólicos, hidroxicinâmicos e o estilbenos (resveratrol) (Abe et al., 2007). Neste estudo detectou-se catequina, epicatequina, quercitina, malvidina, peonidina, ácido hidroxicinâmico e resveratrol, mas não foi detectada a presença de cianidina.

No que se refere aos flavonóides encontrados, a malvidina ($110\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e delphinidina ($98\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) seguidos por epicatequina ($42\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e catequina ($36\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) foram os compostos que se apresentaram em maior quantidade nas amostras de sucos de uva Bordô. Abe et al. (2007) em seus estudos com diferentes cultivares de uvas encontraram para porta-enxertos da cultivar Bordô catequina, epicatequina, quercitina, ácidos hidroxicinâmicos e resveratrol também não foi detectado e não foi comentada a presença ou não de miricetina.

Gold et al. (1986 apud Malacrida e Motta 2006) verificaram a presença de 31 antocianinas diferentes em uvas da espécie *Vitis labrusca* (cultivar Concord). Em sucos coreanos foram encontradas 16 antocianinas, sendo mais preponderantes peonidina, malvidina, delphinidina e cianidina, em proporções muito diferentes (OH et al., 2008). Em outro estudo com sucos de uva Bordô, elaborados com uvas orgânicas e uvas produzidas no modelo convencional, em escala comercial e piloto, foram encontrados cianidina, delphinidina; peonidina e malvidina, sem referência à presença ou não das demais antocianinas (DANI et al., 2007). Esses dados revelam a diversidade da composição químicas para a mesma cultivar, podendo em locais distintos possuir síntese de produção diferenciada. Porém na média geral para a cultivar Bordô, há a proporção de 5:4:1 para malvidina: delphinidina: peonidina, não sendo detectado a cianidina (ABE et al., 2007).

Diferenças nos perfis do compostos fenólicos presentes nas uvas e sucos pode ocorrer, pois estes dependem de fatores genéticos, grau de maturação da uva,

condições climáticas, características físico-químicas do solo e manejo pós colheita (CANTOS et al., 2007). Estes compostos não dependem necessariamente da espécie, sendo mais variável de acordo com a cultivar, visto que alguns casos os compostos como o resveratrol e outros podem ou não estar presentes, tanto em cultivares de *Vitis vinifera* quanto de *Vitis labrusca* (ABE et al., 2007).

Os sucos elaborados com uvas tratadas com radiação UV-C mostraram ser eficazes na proteção aos danos gerados pelo agente estressor peróxido de hidrogênio, tendo em vista que aumentaram os valores de sobrevivências das células de leveduras tratadas com o agente estressor. A utilização de células de leveduras para avaliar a capacidade antioxidante de extratos (de resíduos da vinificação, amora e araçá) frente ao agente estressor peróxido de hidrogênio foi testada por Scola et al., (2010); Azevedo (2011) e Medina (2011), os quais obtiveram resultados que demonstraram a capacidade destes extratos em proteger as células de leveduras.

Os sucos elaborados com uvas tratadas com radiação UV-C possuem potencial antioxidante, o qual foi demonstrado através dos testes *in vivo* e *in vitro*, ou seja, através do aumento da sobrevivência das células de leveduras *Saccharomyces* e pelo aumento na concentração do sequestro dos radicais livres (DPPH). Outro fato que também corrobora com esta afirmativa é a correlação positiva existente entre a sobrevivência das leveduras com a capacidade antioxidante (DPPH), compostos fenólicos totais e antocianinas (Apêndice). A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos traduzida na habilidade desses compostos em sequestrar superóxidos está diretamente relacionada à sua estrutura, sendo atribuída ao grupo hidroxil da posição 4 do anel B dos flavonóides (WILMSEN, 2005; MEDINA, 2009). Geralmente os flavonóides são capazes de doar hidrogênio para os radicais livres, estabilizando e impedindo o estresse oxidativo, o qual é capaz de gerar danos tissulares ou morte celular, além de complexarem-se com metais como o Fe^{3+} e Cu^{2+} , evitando ou diminuindo a geração de radicais hidroxilas (SOARES et al., 2005; MEDINA, 2009). Pode-se inferir que a maior capacidade antioxidante dos sucos está relacionada com a presença de compostos fenólicos, tais como quercitina, delphinidina e resveratrol.

5.2 Respostas das determinações biológicas

Segundo Assis (2009) dietas hiperlipídicas promovem um desequilíbrio no metabolismo basal dos animais, e com conseqüente aumento no ganho de peso corporal e maior acúmulo de tecido adiposo, bem como resistência à insulina, entre outros sintomas. Porém Silva (2009), constatou que quanto maior o valor energético da dieta, ou seja, mais calórica ela for, menor será a ingestão de ração por parte dos animais. Este autor concluiu que a quantidade de energia, proveniente da ração, é o principal regulador do apetite. Neste estudo com suco de uva produzido com uvas radiadas com UV-C observou-se que os animais que ingeriram essa dieta não apresentaram maior ganho de peso, consumiram praticamente a mesma quantidade de ração que os demais grupos, porém com maior acúmulo de gordura corporal e maior incremento das medidas torácicas (Tabela 5). Pode-se inferir que as dietas administradas (bebidas e ração) ou o período de realização do experimento não foram suficientes para promover uma dieta hipercalórica, embora tenha ocorrido aumento de gordura corporal no tratamento ração controle. Segundo Assis (2009), o que irá predizer um caso de obesidade ou de riscos de desenvolver algum tipo de desequilíbrio no metabolismo basal (patologia) é a quantidade de gordura intra-abdominal ou visceral.

Neste estudo, através da análise estatística, não se verificou efeito da bebida sobre as variáveis gordura e peso do fígado, peso do coração, peso do rim e medida abdominal. Mas encontrou-se efeito do tratamento ração sobre essas variáveis, sendo o tratamento ração colesterol o que obteve maiores médias, o que demonstra que o período de experimentação pode ter sido insuficiente para aumentar o ganho de peso, mas constatou-se que ocorreram algumas modificações no metabolismo basal dos animais. Machado (2007) salientou que o aumento de peso do fígado nos animais hipercolesterolêmicos dá-se em função da deposição de colesterol que ocorre no órgão. Araújo (2009) também observou que os animais que recebiam dietas hipercolesterolêmicas, independente das demais características, apresentaram médias de peso do fígado superiores aos grupos que não receberam ração acrescida de colesterol.

Com relação ao coeficiente de eficiência alimentar (CEA), resultado da razão entre o ganho de peso total e o consumo total de ração durante todo experimento (66 dias), foi maior para o grupo que ingeriu suco de uva UV-C, indicando melhor

conversão do alimento ingerido, fato que também complementa a hipótese de modificações no metabolismo basal (Tabela 6).

A hiperlipidemia caracteriza-se por uma série de distúrbios ocasionados pelo excesso de moléculas lipofílicas, dentre estas o colesterol, triacilglicerídeos e lipoproteínas do plasma sanguíneo, como HDL (lipoproteína de alta densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa), sendo um importante fator de risco no desenvolvimento de doenças cardíacas e de aterosclerose (MOREIRA, 2010).

Neste estudo, observou-se que o nível de HDL encontrado no soro dos ratos apresentou-se semelhante independente dos tratamentos. Porém para o grupo suco UV-C observou-se uma redução nos níveis de LDL e aumento nos níveis de colesterol total (Tabela 8 e 9). Bertola et al., (2012) concluíram em suas pesquisas que o consumo elevado de carboidratos simples (frutose, glicose, sacarose entre outros) pode alterar o perfil lipídico de ratos *Wistar* submetidos à dieta hiperlipídica, ou seja, pode elevar os níveis de colesterol. Fato este que pode ter contribuído para o aumento nos níveis de colesterol dos animais que receberam o tratamento suco UV-C, visto que este foi o suco que apresentou maiores concentrações de sólidos solúveis e açúcares totais.

Observou-se que os níveis de colesterol total e triglicerídeo, no soro dos animais que ingeriam a ração hiperlipídica, foram maiores do que dos animais que ingeriam a ração comum, demonstrando um efeito hiperlipemiante, sendo, portanto, considerada uma dieta adequada para ser utilizada no experimento. Resultados semelhantes foram encontrados por Ishimoto (2008), o qual utilizou em seu experimento dieta hiperlipídica com 11% de gordura de coco e 0,1% de colesterol, enquanto que Araújo (2009) utilizou uma dieta com 0,2% de colesterol. Portanto, pode-se inferir que a concentração de colesterol (0,2%) utilizada produziu um efeito hiperlipemiante nos grupos de animais que ingeriram ração colesterol, mas a dose diária de suco UV-C ingerida pelos animais, aliada ao período de experimentação, não foi suficiente para aumentar os níveis de HDL e reduzir os níveis de colesterol total e VLDL dos mesmos. Mas em outro estudo com suco de uva administrado em idosos foi verificado que a ingestão, do mesmo, não reduziu os níveis de colesterol sanguíneo, HDL, LDL e triglicerídeos (DAL BOSCO, 2006). Ishimoto (2008) observou em sua pesquisa, com subprodutos de uvas administrados em hamsters, redução dos

níveis de colesterol plasmático, aumento de HDL, redução de LDL e acentuada redução dos níveis de triglicerídeos.

Segundo Giehl et al. (2007), o suco de uva mostrou eficácia em alguns estudos, diminuindo o desenvolvimento da placa lipídica, porém em outros estudos houve controvérsias. Chan et. al. (1999, apud Ishimoto (2008), investigaram o efeito das epicatequinas no perfil lipídico de hamsters e concluíram que estas substâncias reduziram os níveis de triglicerídeos plasmáticos.

Souza et al., (2012) analisaram os níveis de colesterol e triglicerídeos em ratas *Wistar* após a ingesta de ração acrescida de polpa de jambolão (*Eugenia jambolona*), rico em compostos fenólicos, e constataram que o acréscimo de polpa (10% e 15%) e semente de jambolão (10%) na ração não interferiu no nível de colesterol plasmático, entretanto os resultados encontrados para triglicerídeos sugerem possível efeito redutor, pois todos os tratamentos tiveram seus valores diminuídos quando comparados com padrão.

A presença de compostos fenólicos vêm sendo relacionada com a redução dos níveis de colesterol, colesterol frações e triglicerídeos (GIEHL, et al., 2007). Araújo (2009) relata que os flavonóides possuem a capacidade de estimular a atividade da lipase, promovendo uma redução nos níveis de triacilglicerídeos.

Segundo Martins (2010) os compostos fenólicos são capazes de interagir com os transportadores de colesterol presentes na borda em escova do intestino, impedindo que uma parte dos lipídios da dieta seja absorvida, o que reduziria a quantidade de colesterol nos quilomicrons remanescentes. A redução do substrato disponível poderia assim diminuir a produção e secreção da apolipoproteína responsável pelo transporte de colesterol até o fígado, pois em condições onde não há substrato disponível para a produção de quilomicrons ela é degradada.

Martins (2010) sugeriu que os compostos fenólicos também podem agir no fígado inibindo a secreção da apolipoproteína, além de reduzir a atividade das enzimas relacionadas à biossíntese dos ácidos graxos, triglicerídeos e colesterol, ou seja, inibindo a expressão gênica dessas enzimas.

De acordo com Jaekel (2009) fatores como concentração de substâncias bioativas no produto, quantidade de bebida administrada aos animais e duração do experimento podem explicar as diferenças observadas entre um estudo e outro.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo aumento da produção de substâncias oxidantes e/ou uma diminuição dos níveis de defesa antioxidante do

organismo. Este é um processo que vem sendo relacionado à patogênese de algumas condições que afetam não só o sistema nervoso central (SNC) como vários órgãos do animal (Halliwell & Gutteridge, 2007, SILVA, et al., 2012).

As análises realizadas neste estudo demonstraram que o nível de estresse oxidativo, causados pela indução à hipercolesterolêmica, não foi suficiente para causar danos oxidativos no córtex cerebral e no plasma. Sendo o contrário observado no fígado e no sangue dos animais do grupo hipercolesterolêmico, pois, se verificou um aumento da peroxidação lipídica, medida através de TBARS.

As avaliações realizadas no fígado e no sangue dos animais hipercolesterolêmicos mostraram que aqueles animais que consumiram sucos foram os menos afetados pelos processos peroxidativos, observado pela redução da medida do TBARS, fato que vem a comprovar o potencial antioxidante do produto em sistemas *in vivo*.

Dos órgãos analisados, o córtex cerebral foi o que apresentou maior redução da peroxidação lipídica, pois este é altamente sensível ao estresse oxidativo, pelo alto consumo de oxigênio; do alto conteúdo lipídico, principalmente de ácidos graxos polinsaturados, dos altos níveis de ferro e da baixa defesa antioxidante (Halliwell & Gutteridge, 2007, SILVA, et al., 2012).

A redução da peroxidação lipídica, através da medida de TBARS, tem sido bastante utilizada para medir o potencial antioxidante dos compostos fenólicos. Em outras pesquisas com uva, extratos de resíduos da vinificação, suco de amora e chalconas (1,3-diaril-2-propen-1-onas), também foram observados uma redução na incidência da peroxidação, ou seja, uma redução nas medidas de TBARS, indicando que esses produtos possuem capacidade antioxidante (RHO e KIM, 2006; ARAÚJO, 2009; SCOLA, et al., 2010; SILVA, et. al., 2011). Araújo (2009) inferiu que a capacidade antioxidante da uva e do suco de amora se deve à composição química desses produtos, a qual é rica em compostos fenólicos e conseqüentemente ricos em antioxidantes.

A capacidade antioxidante total (TRAP) também foi constatada para o suco UV-C, visto que este aumentou o potencial antioxidante em relação ao controle em todos os órgãos analisados, com exceção do sangue. Com base nesses resultados pode-se inferir que os componentes antioxidantes do suco UV-C foram absorvidos pelo organismo dos animais e reduziram os danos ocasionados pela ingestão hiperlipídica. Segundo Moura (2009), os compostos fenólicos presentes no vinho e

no suco de uva demonstram ação como antioxidante *in vivo*, pois reduzem a peroxidação lipídica e restauram a capacidade antioxidante em ratos adultos.

Através dos resultados pode-se perceber que o suco UV-C diminui os níveis de tióis reduzidos evitando lesões nas proteínas, causadas pelas espécies reativas de oxigênio. Sendo que sua atividade foi maior no fígado, córtex cerebral e no plasma dos animais, respectivamente, não sendo identificada no sangue.

Em sistemas aeróbicos, é importante o equilíbrio entre agentes óxido-redutores e o sistema de defesa antioxidante. Esses agentes são gerados endogenamente como consequência direta do metabolismo basal e também em situações não fisiológicas. Então, para se proteger, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar de duas formas. Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão; esta linha é constituída por glutathione reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathione-peroxidase (GSH-x). O outro modo de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pela glutathione-redutase (GSH-r), pela GSH-x, entre outros. (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; ISHIMOTO, 2008).

As defesas antioxidantes enzimáticas foram avaliadas em córtex cerebral, fígado, plasma e sangue de ratos *Wistar*. Neste estudo verificou-se que os grupos “controles” apresentaram atividade enzimática inferior aos demais grupos, nas enzimas analisadas. Estes dados dão suporte à hipótese de que dietas ricas em colesterol e pobres em antioxidantes contribuem para um aumento da lipoperoxidação, exarcebando as espécies reativas de oxigênio, consequentemente inibindo a atividade das enzimas antioxidantes (ISHIMOTO, 2008).

Verificou-se que o consumo de suco resulta em aumento da atividade das enzimas catalase, superóxido dismutase e glutathione S-transferase em córtex cerebral, no fígado, sangue e, sendo sua maior atividade demonstrada no fígado. Através dos resultados pode-se inferir que a administração do suco UV-C aos animais contribuiu para reduzir os possíveis danos causados pelo estresse oxidativo, provocado pela indução da hipercolesterolemia. Segundo Moura (2009), esses efeitos podem ser descritos, em parte, pelas propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos presentes nos sucos de uva. Ishimoto (2008), em sua pesquisa com extratos de resíduos de vinhos, observou que não houve grandes diferenças na atividade das enzimas catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase, porém uma tendência ao aumento na atividade das mesmas. Este fato o levou o

autor a inferir que a concentração dos compostos fenólicos antioxidantes presentes nos extratos fossem os responsáveis por este aumento, tendo em vista que os extratos com maior concentração em compostos fenólicos foram os que se diferenciaram. Outros pesquisadores comprovaram o aumento da atividade enzimática em modelo animal (roedores), utilizando compostos antioxidantes da uva ou de outros vegetais (MARTINELLO et al., 2006; ISHIMOTO, 2008).

Os grupos aos quais se administrou suco UV-C apresentaram maior peso, menor umidade e menor teor de gordura em suas fezes quando comparadas ao grupo controle. Esse comportamento mostrado pelo grupo suco UV-C já era esperado, porque esse grupo apresentou maior peso e maior quantidade de gordura em seus fígados. Silva (2009) sugere que este comportamento ocorre em função de estar havendo maior conversão de colesterol à ácidos biliares no fígado, possivelmente por aumento da atividade da colesterol-7- α -hidroxilase, o que reduziria o pool de gordura hepática e acarretaria em eliminação de uma menor quantidade de gordura fecal (MACHADO, 2007).

7 Considerações finais

Com base nos resultados obtidos e nas condições que foi realizado o experimento, foi verificado que o tratamento UV-C nas uvas, *Vitis labrusca* cv. Bordô, provoca um estresse abiótico nas frutas, afetando o metabolismo fenólico com conseqüente aumento da concentração total desses compostos. A aplicação da radiação UV-C na uva resulta em maiores teores de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e de resveratrol no suco. Como conseqüência há maior potencial antioxidante protegendo as células de *Saccharomyces cerevisiae* frente a um forte agente oxidante, o peróxido de hidrogênio. Tal comportamento também ocorre nos testes de oxi-redução usando o DPPH.

Ao se estudar as potenciais respostas biológicas frente ao consumo de suco de uva, elaborados com uvas tratadas com radiação UV-C, constatou-se que o consumo de suco pelos animais resultou em maior potencial antioxidante e maior atividade enzimática.

Entretanto os maiores teores de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e de resveratrol, resultado do tratamento com uvas UV-C, não refletiram em respostas biológicas diferenciadas. Isso indica que o suco de uva, cv, Bordô, do tratamento controle já continha, em sua composição moléculas antioxidantes capazes de ativar o sistema enzimático antioxidante dos animais.

7. Referências Bibliográficas

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F.; GENOVESE, M.I.. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

AEBI, H.; LESTER, P.. Catalise in vitro. **Methods in Enzymology**- Academic Press, v. 105, p. 121-126, 1984.

AITKEN, R. J.; ROMAN, S.. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 1, p. 15-24, 2008.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A.. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 10, p. 512-516, 2009.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H.N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S.. Avaliação da capacidade antioxidante de flavonóides. *Dialogo & Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC*. Ano V, n. 12, 2007.

ANGELO, P. M. JORGE, N.. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 232-240, 2007.

ARAÚJO, P. F.. **Antioxidante de néctar de amora-preta (*Rubus spp.*) e sua influência sobre os lipídios séricos, glicose sanguínea e peroxidação lipídica em hamsters (*mesocricetus auratus*) hipercolesterolêmicos**. 2009. p. 122. Dissertação (Mestrado em Ciência Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

ASSIS, A. M. **Efeitos da dieta hiperlipídica aquecida e dieta hiperlipídica normal na formação de produtos finais de glicação avançada e de espécies reativas de oxigênio em ratos wistar**. 2009. 94f. Dissertação (Mestre em Bioquímica)- Instituto de Ciências básicas da saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.

AZEVEDO, M. L.. **Perfil fitoquímico, atividades antioxidante e antimicrobiana de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy em diferentes estádios de maturação cultivada em clima temperado**. 2011. p. 75. Tese (Doutorado em Ciência Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

BERTAGNOLLI, S. M. M.; ROSSATO, S. B.; SILVA, V. L.; CERVO, T.; SAUTTER, C. K.; HECKTHEUER, L. H. ;PENNA, N. G.. Influência da maceração carbônica e da irradiação ultravioleta nos níveis de *trans*-resveratrol em vinhos de uva *cabernet sauvignon*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 1, jan./mar., 2007.

BERTOLA, M. R.; HAYASHI, V. D.; PORTARI, G. V.; JORDÃO, A.. Influências de uma dieta hiperglicídica no colesterol hepático de ratos Wistar. Disponível em: <<https://sistemas.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=2449&numeroEdicao=17>> Acesso em: jan. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 33**, de 25 de fevereiro de 2003. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Decreto nº 6871** , de 04 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L8918.htm>. Acesso em: jan. 2012.

BRITO, P. M.. **Papel do resveratrol no contexto da prevenção da aterosclerose: mecanismos moleculares envolvidos na apoptose e proliferação celular**. 2007. p.176. Doutorado (Doutorado em Farmácia) Universidade de Coimbra. 2007.

CANTOS, E. E.; GUERREIRO, R. F.; PUERTAS, B.; JIMÉNEZ, M. J.; JURADO, M. S.. Tratamento postcosecha de uva de vinificación com radiación UVC para obtención de vinos enriquecidos en resveratrol. **Rev. Iber. Tecnología Postcosecha**. v. 8, n. 2, 2007.

CARVALHO, G. D.; MASSENO, A. P. B.; ZANINI, M. S.; ZANINI, S. F.; PORFÍRIO, L. C.; MACHADO, J.P.; MAUAD, H.. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológico. **Revista Ceres**.v. 56, n. 1, p. 051-057, 2009.

CORDOVA, C.M.M. de; SCHNEIDER, C.R.; JUTTEL, I.D.; CORDOVA, M.M. de. Avaliação da dosagem direta do colesterol-LDL em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.83, n.6, p.476-481, 2004.

COSTA, A. C.. **Estudo de conservação de pêssego [Prunus persica (L.) Bastch] minimamente processado**. 2010. 75f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

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

DAL PIZZIOL, F.; KLAMT, F.; VIANA, M. M.; SCHRODER, N.; QUEVEDO, J.; BENTAFO, M. S.; MOREIRA, J. C.; WALZ, R.. Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epilepticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. **Neuroscience Letters**. v 291, n 3, p179-82, 2000.

DANI, C.; OLIBONI, L.S.; VANDERLINDE, R.; BONATO, D.; SALVADOR, M. HENRIQUES, J.A.P.. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juice manufactured with organically - or conventionally- produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2574-2580, 2007.

DIAS, J. F.. **Determinação dos conteúdos de resveratrol em vinhos tintos de duas regiões brasileiras**. 2009. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro- RJ.

DRAPER, H.H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol**. v. 186, p. 421– 431, 1990.

DRESCH, M.T.; ROSSATO, S.B., KAPPEL, V.D.. Optimization and validation of an alternative method to evaluate total reactive antioxidant potential. **Anal. Biochem**. v. 385, p. 107–114, 2009.

ELLMAN, G.L. Tissue sulphhydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys**, n. 82, p. 70-77. 1959.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 163-171, 2008.

FARIA, H. G. de. Considerações sobre dietas experimentais para animais de laboratório: formulações, aplicações, fornecimento e efeitos experimentais. Disponível em: <<http://www.cpqam.fiocruz.br>>. Acesso em: jan. 2010.

FERREIRA, A. L. A., MATSUBARA, L. S.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

GIEHL, M. R.; DAL BOSCO, S.M.; LAFLOR, C.M.; WEBER, B.. Eficácia dos flavonóides da uva, vinho tinto e suco de uva tinto na prevenção e no tratamento secundário da aterosclerose. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 17, n. 3, p. 145-155, jul./set. 2007.

GONÇALVES, A. E. S. S.. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas nativas e determinação dos teores de compostos flavonóides e vitamina C**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

GONZALEZ-AGUILAR, G. A.; ZAVALETA-GATICA, R.; TIZNADO-HERNÁNDEZ, M. E.. Improving postharvest quality of mango „Haden” by UV-C treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 108–116, 2007.

GOUVÊA, A. C. M. S. **Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ.

GRANATO, D. **Associação entre atividade antioxidante in vitro e características químicas, sensoriais, chromatocs e comerciais de vinhos tintos Sul Americanos**. 2011. 128f. Tese (Doutorado em Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

GUERRERO, R. F.; PUERTAS, B.; FERNÁNDEZ, M. I.; PALMA, M.; CANTOS VILLAR, E.. Induction of stilbenes in grapes by UV-C: Comparison of different subspecies of Vitis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 11, 2010.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B.. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic in mercapturic acid formation. **The J. of Biol. Chemistry**, v.249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; HEINONEN, M.; MYKKÄNEN, H. M.; TÖRRÖNEN, A. R. HPLC Method for Screening of Flavonoids and Phenolic Acids in Berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 543 - 551, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.. **Free radicals in biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HEMMATY, S.; MOALLEMI, N.; NASERI, L.. Shelf-life and quality of apple fruits in response to postharvest application of UV-C radiation. **Journal of Applied Horticulture**, v. 8, n. 2, p. 114-116, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. IV Edição. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

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

JAEKEL, L.Z. **Bebida funcional com extratos de soja e de arroz e sua influência no colesterol e glicemia**. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

JARDIM, F. M. A. **Efeito da ingestão crônica de cafeína na atividade de enzimas antioxidantes, peroxidação de lipídeos e na produção de radicais livres em diferentes regiões do sistema nervoso central de ratos adultos**. 2005. p.41. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas- Bioquímica) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre- RS.

LEITE, T. T. **Tratamento pós-colheita em uvas e seus efeitos em vinhos das variedades Chardonnay e Cabernet Sauvignon**. 2009. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Rurais, Universidade de Santa Maria, Santa Maria – RS.

LESS, D. H.; FRANCIS, F. J.. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortiscience**, v.7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LIM, Y.Y.; LIM, T.T.; TEE, J.J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, p.1003-1008, 2007.

LISSI, E.; PASCUAL, C.; Del CASTILLO, M.D. Luminol luminescence induced by 2,2 Azo-bis (2-amidinopropane) thermolysis. **Free Radic. Res. Commun.** v. 17, p. 299-311, 1992.

LIU, L. H.; ZABARAS, D.; BENNETT, L. E.; AGUAS, P.; WOONTON, B. W. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. **Food Chemistry**, v. 115, p. 495-500, 2009.

LOWRY, O.H.; ROSEBOUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol Chem**, v.193, p. 265–275, 1951.

MACHADO, M.R.G. **Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional**.2007. 101f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 659-664, 2005.

MALGARIM, M.B.; TIBOLA, C.S.; FERRI, V.C.; ZAICOVSK, C. B.; MANFROI, V. Características de qualidade do vinho Bordô elaborado com diferentes processos de vinificação e períodos de maceração. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 28, n. 2, 2006.

MARTINELLO, F. **Avaliação da atividade biológica do extrato hidroalcoólico de *Tamarindus indica* L. sobre o metabolismo lipídico e na carcinogênese coloretal em hamster**. 2006. 148f. Tese (Doutorado em Biociência aplicada a Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP.

MARTINS, C. A. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó**. 2010. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – São Paulo.

MEDINA, A. L.. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)** 2009. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

MEDINA, A. L.; HASS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; SILVA, W. P. da; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, 2011.

MELO, S. S.; NUNES, N. S. I.; BAUMGARTEN, C.; TRESSOLDI, C.; FACCIN, G.; ZANUZO, K.; MICHELS, M. K.; SPECHTS.; SILVA, M. W.. Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis* a.st. hil.) sobre o perfil metabólico em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas. **Alim. Nutr.** v.18, n.4, p. 439-447, out./dez. 2007

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J.. Capacidade antioxidante de fruta. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, abr./jun., 2008.

MELO, P. S.. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.

MEZADRI, T. J.; TOMÁZ, V. A.; AMARAL, V. L. L. **Animais de laboratório: cuidados na iniciação experimental**. Editora UFSC, Florianópolis, 2004.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A.. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**. v. 875, p. 231-237, 2004.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I.. The role of superoxide anion in the oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J. Biol. Chem.** v. 147, p. 3170-3175, 1972.

MOREIRA, L. M.. **Efeito de diferentes concentrações de *Spirulina* nos perfis bioquímico, hematológico e nutricional de ratos *Wistar* nutridos e desnutridos** 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) -Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande-RS.

MOURA, G. B.. **Vinho tinto, suco de uva e etanol em ratos adultos submetidos a dietas hiperlipidêmica**. 2009. 56f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciência Rural, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS

NATIVIDADE, M. M. P.; FANTE, C. A.; ALVES, R. da S.; LIMA, L. C. de O.. Avaliação das características físico-químicas de suco de uva integral para comparação com especificações legais. XIX Congresso de pós-graduação da UFLA. 2010. Lavras. Anais **XIX Congresso de pós-graduação da UFLA**: Lavras, 2010.

OH, Y.S.; LEE, J. H.; YOON, S. H.; OH, C.H.; CHOI, D.S.; JUNG, M.Y.. Characterization and Quantification of Anthocyanins in Grape Juices Obtained from the Grapes Cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. **Journal of Food Science**. v. 73, n. 5, 2008.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTI, J. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S.. Vegetal as natural sources of antioxidants. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PEREIRA, C. A. M.. Efeito do processamento e estocagem na concentração de substâncias bioativas em alimentos. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 149-158, jan./jun. 2010.

PERES-JUNIOR, A. **A estabilidade de cor como fator determinante na comercialização de vinhos tintos de mesa**. 2009. 34f. Monografia (Graduação em Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS, Bento Gonçalves-RS.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Ed. Varela, 95 p, 2005.

PINHEIRO, E. S.; COSTA, J. M. C. da; CLEMENTE, E.; MACHADO, P.H.S.; MAIA, G. A.. Estabilidade físico-química e mineral do suco de uva obtido por extração a vapor. **Rev. Cienc. Agron.**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 373-380, jul-set, 2009.

PIVA, R.. **Adubação de videiras cultivares Isabel e Bordô (Vitis labrusca L.) para sistema orgânico de produção**. 2011. 50f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, Unicentro-PR.

PORTO, A. L. da S.. **Estudo da Actividade Antioxidante de Catequinas e Procianidinas Oligoméricas**. 2002. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal.

RHO, K.A.; KIM, M.K.. Effects of different grape formulations on antioxidative capacity, lipid peroxidation and oxidative DNA damage in aged rats. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, v.52, p.33-46, 2006.

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

ROCHA, A.; GUERRA, H.; BARBOSA, N.. Polifenóis em vinhos tintos: fatores envolvidos, propriedades funcionais e biodisponibilidade. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 9, n. 2, p. 93-105, 2008.

RODRIGUES, R. da S. **Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando a formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de soja e polpa de pêssego**. 2003. 177f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROMBALDI, C. V.; FERRI, V. C.; BERGAMASQUI, M.; LUCHETTA, L.; ZANUZZO, M. R. Produtividade e qualidade de uva, Cv. Bordô (Ives), sob dois sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 4, p. 519-521, out-dez, 2004.

SALVADOR, M. HENRIQUES, J. A. P.. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Ed. Ulbra, 204p. 2004.

SANTANA, M.T.A.; SIQUEIRA, H.H.; REIS, C. dos; LIMA, L. C. O.; SILVA, R. J. L.. Caracterização de diferentes marca de sucos de uva comercializados em duas regiões do Brasil. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 882-886, maio/jun., 2008.

SANTOS, A. A. A., et al. Influence of norbixin on plasma cholesterol-associated lipoproteins, plasma arylesterase/paraoxonase activity and hepatic lipid peroxidation of Swiss mice on a high fat diet. **Food Chemistry**, Oxford, v. 77, n. 4, p. 393-399, junho, 2002.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, version 9.1. Cary: **SAS Institute**, 2002.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. 2003. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Rurais, Universidade de Santa Maria, Santa Maria - RS.

SAUTTER, C.; DENARDIN, S.; ALVES, A. O.; MALLMANN, C.A..Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25 (3), p. 437-442, jul-set. 2005.

SCOLA, G.; CONTE, D.; SPADA, P. W. D.; DANI, C.; VANDERLINDE, R.; FUNCHAL, C.; SALVADOR, M. Flavan-3-ol Compounds from Wine Wastes with *in Vitro* and *in Vivo* Antioxidant Activity. **Nutrients**, v. 2, p. 1048-1059, 2010.

SEVERO, J. **Maturação e UV-C na expressão transcricional de genes envolvidos nas rotas metabólicas da parede celular, compostos fenólicos e aromas em morangos**. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal e Pelotas, Pelotas-RS.

SILVA, A. L. F. da; ROZA, C. R. da. Uso da irradiação em alimentos: Revisão, **B.CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 49-56, jan./jun. 2010.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A.dos S.; KOBILIZ, M. G. B.. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SILVA, N. V. P.; OLIVEIRA, P. S.; VASCONCELOS, A. STEFANELLO, F. M.; BARSCHAK, A. G.. Derivados sintéticos das chalconas com atividade antioxidante. XX Congresso de Iniciação Científica. 2010, Pelotas. Anais **XX Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas: UFPel, 2010.

SILVA, P.V. **Leite caprino: Caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e avaliação biológica (Ratos fêmeas Wistar)**. 2009. 156 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

SILVA, L. S. **Avaliação de parâmetros bioquímicos, nutricionais e de estresse oxidativo em ratos tratados com extrato oleoso de bixina (P. A. Lipo 8%)**. 2009. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Universidade de Ouro Preto, Ouro Preto.

SINGLETON, V. L. ; ROSSI, J. A. JR.. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol.Vitic.** v. 16, p.144-158, 1965.

SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR, M.. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 95-100, 2005.

SOARES, S. E.. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas,v. 15(1), p. 71-81, jan./abr., 2002.

SOARES, L. A. S.; MACHADO, M. R. G.; RODRIGUES, R. S.. **Experimentação com animais de laboratório: manual básico**. Editora Universitária, Pelotas, 2009.

SOUZA, J. C. **Atividade Antioxidante *in vitro* e *in vivo* de suco de uva e da Norbixina**. 2008. 80f. Dissertação (Mestrado em Nutrição)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

SOUZA, L. O.; DOURADO, M. T.; DOURADO, A. S.; ROCHA, A. S. R.; NASCIMENTO, S. L. S. Níveis de colesterol e triglicerídeos em ratos wistar após a ingestão de ração acrescida de polpa de jambolão (*eugenia jambolona*). XIX Congresso de Iniciação Científica. Disponível em: <<http://WWW.ufpel.edu>> Acesso em jan. 2012.

TECCHIO, F. M.. **Características físico-químicas e sensoriais do vinho Bordô de Flores da Cunha**. 2007. 80f. Monografia (Graduação em Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia) – Centro Federal de Educação em Viticultura e Enologia, Bento Gonçalves-RS.

TECCHIO, F. M.; MIELE, A.; RIZZON, L. A.. Composição físico-química do vinho Bordô de Flores da Cunha, RS, elaborado com uvas maturadas em condições de baixa precipitação, **Ciência Rural**, v.37, n.5, set-out, 2007.

TIECHER, A.. **Efeito da Radiação UV-C na expressão gênica e nas respostas bioquímico-fisiológicas em frutos de tomate (*Solanum Lycopersicum* Mill.)**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

TORRES, L. H. L..**Efeitos da inalação da fumaça de cigarro no estresse oxidativo no sistema nervosa central de camundongos jovens**. 2009. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmaceuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

TORRES, M. C. L.; SOARES, N. F. F.; PEREIRA, J. A. M.. Extração, purificação e avaliação da atividade da glutathione s-transferase de fígado bovino. **Ciênc. agrotec**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 302-307, mar./abr., 2006.

TREVISAN, R.. **Marcadores de estresse oxidativo e outros parâmetros biológicos em peixes e bivalves como ferramentas de monitoramento ambiental: análise de dois ecossistemas catarinenses**. 2008. 54f. Monografia (Graduação em Farmácia)- Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

VACCARI, N. F. de S.; SOCCOL, M. C. H.; IDE, G. M.. Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de doenças. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.8, n.1, p. 71-83, 2009.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**. v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**. v. 77, p. 325–333, 1981.

WILMSEN, P.K.; SPADA, D.S.; SALVADOR, M.. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 4757-4761, 2005.

YANG, J.; TIMOTHY, E.; HAI LIU, R. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. **Food Chemistry**. v. 116, p. 332- 339, 2009.

ZAMBIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. Foods and Nutritional Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada. 1997. 304 p.

ZHANG, Z.; KOU, X. L.; FUGAL, K.; MCLAUGHLIN, J.. Comparison do HPLC methods for determination of anthocyanins and anthocyanidins in bilberry extract. **Journal Agriculture Food Chemistry**. v. 52, n. 4, p. 688-691, 2004.

ZIMMERMANN, A. L.. **Potencial antioxidante de extratos de cevada em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica**. 2010. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade de Santa Maria, Santa Maria-RS.

Apêndice

Dados sem interação

Variáveis dependentes	Média geral	CV (%)	<i>p</i> *
GST Córtex	56,22	8,3	
Efeito bebida			0,2119
Efeito ração			0,1101
Interação			0,6984
SOD Fígado	80,28	13,3	
Efeito bebida			0,5631
Efeito ração			0,2698
Interação			0,1765
GST Sangue	7,56	13	
Efeito bebida			0,5447
Efeito ração			0,6216
Interação			0,8822
Efeito ração			0,6369
Interação			0,8981
Peso Inicial	134,02	9,9	
Efeito bebida			0,9989
Efeito ração			0,8598
Interação			0,9832
Peso Final	340,17	8,7	
Efeito bebida			0,3026
Efeito ração			0,3779
Interação			0,4926
Ganho de Peso	206,14	13,4	
Efeito bebida			0,2521
Efeito ração			0,3926
Interação			0,4023
Ração Consumida	1022,05	11,1	
Efeito bebida			0,9244
Efeito ração			0,8417
Interação			0,9000
Volume Fezes	43,75	8,1	
Efeito bebida			0,1774
Efeito ração			0,4346
Interação			0,3841
Proteína Fezes	22,29	6,0	
Efeito bebida			0,3871
Efeito ração			0,7032
Interação			0,6268

Correlação dos dados das determinações físico-químicas

Correlations (Spreadsheet1)																						
Marked correlations are significant at $p < ,05000$																						
N=6 (Casewise deletion of missing data)																						
Variable	Ativ.in vivo	Cap. anti.DPPH	Cap. anti.trolox	Fenóis totais	Antoc. totais	Malvi	Delfi	Peoni	Cateq	Epicateq	Querci	Caempfero	Resveratro	Ác. H.cinamico	Sol.sol.	Açuc. totais	Ácidez total	pH	Cor	Dens.	Ext.seco	Umidade
Ativ.in vivo	1,00	0,99	0,98	0,91	0,96	0,45	0,85	-0,05	-0,98	-0,98	1,0	-0,18	0,82	0,72	0,99	0,98	-0,67	0,65	-1,0	-1,00	0,95	-0,95
Cap. anti.DPPH	0,99	1,00	0,98	0,89	0,98	0,45	0,82	-0,05	-0,96	-0,97	1,0	-0,14	0,82	0,69	0,97	0,95	-0,74	0,62	-1,0	-0,99	0,95	-0,95
Cap. anti. trolox	0,98	0,98	1,00	0,92	0,95	0,51	0,83	0,03	-0,96	-0,97	1,0	-0,21	0,75	0,74	0,94	0,91	-0,67	0,69	-1,0	-0,97	0,93	-0,94
Fenóis totais	0,91	0,89	0,92	1,00	0,82	0,77	0,76	0,38	-0,91	-0,96	0,9	-0,25	0,54	0,79	0,90	0,81	-0,39	0,82	-0,9	-0,89	0,80	-0,81
Antoc. totais	0,96	0,98	0,95	0,82	1,00	0,38	0,72	-0,15	-0,90	-0,91	1,0	0,03	0,90	0,54	0,94	0,92	-0,84	0,46	-1,0	-0,96	0,91	-0,90
Malvidina	0,45	0,45	0,51	0,77	0,38	1,00	0,23	0,85	-0,43	-0,55	0,4	0,00	0,05	0,43	0,45	0,28	0,04	0,61	-0,4	-0,42	0,23	-0,26
Delfinidina	0,85	0,82	0,83	0,76	0,72	0,23	1,00	-0,11	-0,94	-0,88	0,9	-0,66	0,53	0,93	0,83	0,88	-0,41	0,83	-0,9	-0,85	0,93	-0,95
Peonidina	-0,05	-0,05	0,03	0,38	-0,15	0,85	-0,11	1,00	0,02	-0,10	-0,1	-0,10	-0,48	0,22	-0,05	-0,22	0,51	0,45	0,1	0,08	-0,23	0,18
Catequina	-0,98	-0,96	-0,96	-0,91	-0,90	-0,43	-0,94	0,02	1,00	0,99	-1,0	0,38	-0,71	-0,84	-0,97	-0,96	0,57	-0,77	1,0	0,98	-0,97	0,98
Epicatequina	-0,98	-0,97	-0,97	-0,96	-0,91	-0,55	-0,88	-0,10	0,99	1,00	-1,0	0,30	-0,70	-0,82	-0,97	-0,94	0,55	-0,78	1,0	0,98	-0,93	0,94
Quercitina	1,00	0,99	0,97	0,90	0,95	0,43	0,87	-0,07	-0,98	-0,98	1,0	-0,21	0,81	0,74	0,99	0,98	-0,67	0,66	-1,0	-1,00	0,96	-0,96
Caempferol	-0,18	-0,14	-0,21	-0,25	0,03	0,00	-0,66	-0,10	0,38	0,30	-0,2	1,00	0,26	-0,79	-0,15	-0,23	-0,29	-0,74	0,2	0,17	-0,36	0,40
Resveratrol	0,82	0,82	0,75	0,54	0,90	0,05	0,53	-0,48	-0,71	-0,70	0,8	0,26	1,00	0,24	0,82	0,84	-0,89	0,10	-0,8	-0,84	0,78	-0,74
Ác. Hidroxicinamico	0,72	0,69	0,74	0,79	0,54	0,43	0,93	0,22	-0,84	-0,82	0,7	-0,79	0,24	1,00	0,70	0,70	-0,12	0,97	-0,7	-0,70	0,78	-0,81
Sol.sol.	0,99	0,97	0,94	0,90	0,94	0,45	0,83	-0,05	-0,97	-0,97	1,0	-0,15	0,82	0,70	1,00	0,98	-0,64	0,62	-1,0	-0,99	0,93	-0,93
Açuc. totais	0,98	0,95	0,91	0,81	0,92	0,28	0,88	-0,22	-0,96	-0,94	1,0	-0,23	0,84	0,70	0,98	1,00	-0,67	0,59	-1,0	-0,98	0,97	-0,96
Ácidez total	-0,67	-0,74	-0,67	-0,39	-0,84	0,04	-0,41	0,51	0,57	0,55	-0,7	-0,29	-0,89	-0,12	-0,64	-0,67	1,00	0,00	0,7	0,69	-0,69	0,66
pH	0,65	0,62	0,69	0,82	0,46	0,61	0,83	0,45	-0,77	-0,78	0,7	-0,74	0,10	0,97	0,62	0,59	0,00	1,00	-0,6	-0,63	0,66	-0,70
Cor	-1,00	-0,99	-0,97	-0,89	-0,96	-0,42	-0,86	0,09	0,98	0,98	-1,0	0,20	-0,82	-0,72	-0,99	-0,98	0,68	-0,64	1,0	1,00	-0,96	0,96
Densidade	-1,00	-0,99	-0,97	-0,89	-0,96	-0,42	-0,85	0,08	0,98	0,98	-1,0	0,17	-0,84	-0,70	-0,99	-0,98	0,69	-0,63	1,0	1,00	-0,96	0,95
Ext.seco	0,95	0,95	0,93	0,80	0,91	0,23	0,93	-0,23	-0,97	-0,93	1,0	-0,36	0,78	0,78	0,93	0,97	-0,69	0,66	-1,0	-0,96	1,00	-1,00
Umidade	-0,95	-0,95	-0,94	-0,81	-0,90	-0,26	-0,95	0,18	0,98	0,94	-1,0	0,40	-0,74	-0,81	-0,93	-0,96	0,66	-0,70	1,0	0,95	-1,00	1,00

Anexo



Pelotas, 07 de maio de 2009.

De: Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Pres. da Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEE A)

Para: Profa. Dra. Rosane da Silva Rodrigues
Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Senhora Professora:

A CEEA analisou o projeto de pesquisa intitulado “**Compostos fenólicos correlacionados ao efeito funcional fisiológico em vinho de mesa ‘bordo’ produzido na região de Pelotas – RS**, processo nº 23110.001998/2009-64 sendo de parecer FAVORÁVEL a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos que após tomar conhecimento do parecer reenviar o processo à CEEA.

OBS: OBS: Informamos que duas cópias deste parecer estão anexadas ao processo. Uma cópia destinada ao coordenador do projeto e a outra deverá permanecer junto ao mesmo.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Presidente da CEEA



Pelotas, 25 de agosto de 2011

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Professor (a) Rosane da Silva Rodrigues

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Senhor(a) Professor(a):

A CEEA analisou o projeto intitulado: **"Compostos fenólicos correlacionados ao efeito funcional fisiológico em sucos e vinhos de mesa produzidos na região de Pelotas – RS a partir de uvas irradiadas e não irradiadas"**, processo nº23110.006694/2011-16, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa e Iniciação Científica para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 6694).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA

Ciente em: ____/____/2011

Assinatura do(a) Professor(a) Responsável: