UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos
Área de Bromatologia

Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (*Vitis vinífera* L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos

Fernanda Branco Shinagawa

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Tit. Jorge Mancini-Filho

São Paulo
2015

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos
Área de Bromatologia

Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (*Vitis vinífera* L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos

Versão original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP

Fernanda Branco Shinagawa

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Tit. Jorge Mancini-Filho

São Paulo
2015

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S556a	<p>Shinagawa, Fernanda Branco</p> <p>Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i> L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos / Fernanda Branco Shinagawa. -- São Paulo, 2015.</p> <p>165p.</p> <p>Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental</p> <p>Orientador : Mancini-Filho, Jorge</p> <p>1. Análise de alimentos 2. Nutrição experimental : Ciência dos alimentos I. T. II. Mancini-Filho, Jorge, orientador.</p> <p>641 CDD</p>
-------	--

Fernanda Branco Shinagawa

Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (*Vitis vinífera* L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Jorge Mancini-Filho
Orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, _____ de _____

Agradecimentos

Começo por agradecer a Deus e a Ele, toda honra e toda glória.

Aos meus pais, Rose Marie e Makoto Shinagawa por todo esforço para minha formação e por sempre me apoiarem em tudo.

Meu marido, Pedro Almeida Santos, pelo apoio, pois não foi fácil esta distância, porém sempre me apoiou para alcançar meus objetivos.

Meu irmão, Leonardo Shinagawa, toda minha admiração e Mariana Lanaro pela ajuda.

E também não poderia deixar de agradecer a todas as pessoas e instituições, que ajudaram, ensinando e apoiando: Ao professor Jorge Mancini-Filho, meu orientador, meu muito obrigada pela confiança e paciência. Aos colegas de laboratório, pelos momentos agradáveis de convivência. Aos funcionários da pós-graduação, pela atenção e carinho. A todos os técnicos do departamento, em especial meus amigos Elias Araújo, Alexandre Pimentel e Rosângela Pavan, que ensinaram e estiveram disponíveis a ajudar.

Ao professor Eduardo Purgatto, pela força e apoio nos momentos difíceis, e por toda disposição em ajudar. Aos amigos do laboratório de Nutrição e Minerais, Nutrição e Esporte, Análise de Alimentos e Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos, todos muito especiais. Quero destacar aqui, minhas colegas de trabalho e amigas, Fernanda Santana e Lucillia Oliveira, fundamentais e presentes em todos os momentos vividos nestes quatro anos, meu muito obrigada por tudo.

Ao professor Rui Curi e pós-doutoranda Laureane Masi do ICB, que foram parte fundamental para finalização deste trabalho, sou muito feliz pela colaboração. Ao técnico Adilson pela ajuda e ensinamento.

Aos amigos do estado do Piauí, que não foram poucos, mas em especial, Raquel Figuerêdo e Athayde Neto, que fizeram da casa, um local para chamar de lar em São Paulo, e prof. Leonardo Torres-Leal por compartilhar seus conhecimentos e a amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

O aprendizado é uma atividade criativa. Somos levados a aprender pela promessa do prazer que é atingido quando aprendemos algo. Com prazer, a vida é uma aventura criativa; sem ele, é uma aventura pela sobrevivência.

Alexander Lowen

Resumo

SHINAGAWA, F. B. **Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (*Vitis vinífera* L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos**. 2015. 165 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O óleo de semente de uva (OSU) caracteriza-se como um importante subproduto do processamento agroindustrial (vinicultura) que vem recebendo destaque como fonte alternativa de óleos vegetais. Os componentes químicos presentes nos óleos vegetais sofrem influência de fatores relacionados ao cultivo e ao processamento industrial. Esses componentes são capazes de modular importantes funções fisiológicas no organismo. Este trabalho objetivou avaliar a composição química de OSU brasileiros e sua influência em parâmetros bioquímicos, de estresse oxidativo e inflamatório sérico e tecidual em ratos. Inicialmente, sete diferentes marcas de OSU disponíveis no mercado brasileiro foram avaliadas e comparadas em relação a dois processos de extração, refino e prensagem a frio. As amostras prensadas a frio apresentaram concentrações significativamente maiores de compostos fenólicos, teores do isômero γ -tocotrienol da vitamina E, de fitosteróis, tendo como principal constituinte o β -sitosterol, e diversos compostos voláteis característicos. Para a investigação biológica, ratos saudáveis da linhagem *Wistar* foram suplementados com OSU – amostra comercial que possuía maior teor do isômero γ -tocotrienol e compostos fenólicos; e com o óleo de soja (ODS) – óleo mais consumido no país, utilizado para efeito comparativo. Os dois óleos foram suplementados por intubação orogástrica nas concentrações de 3,0 e 6,0 mL/Kg de peso corpóreo, por 65 dias. Observou-se que os resultados da intervenção não foram dose-dependente para os dois óleos e, apesar do elevado teor de lipídios oferecido aos animais, estes não modificaram o padrão de ganho de peso. Porém, foram observados elevados teores de peroxidação lipídica sérica nos animais tratados com OSU, quando comparados aos tratados com ODS na menor dose administrada. Nos animais do grupo suplementado com OSU na maior dose, verificou-se aumento do peso do tecido adiposo retroperitoneal, caracterizado pela hipertrofia dos adipócitos. Em relação ao tecido hepático, houve maior incorporação do ácido linoleico, principal ácido graxo presente nos OSU e ODS e precursor do ácido araquidônico na cadeia dos eicosanoides, interferindo no aumento da razão das citocinas inflamatórias TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-4, para todos os grupos suplementados com os dois óleos nas maiores concentrações. Quanto aos marcadores de estresse oxidativo no tecido cardíaco, pode-se verificar que os grupos administrados com OSU foram relacionados com a maior atividade das enzimas antioxidantes, acompanhado de maior peroxidação lipídica. Os resultados permitem concluir que os compostos bioativos presentes no OSU não ocasionaram a redução do estresse oxidativo causado pela alta presença do ácido linoleico, porém, os marcadores inflamatórios pouco se alteraram com o tratamento.

Palavras-chave: óleo de semente de uva, ácido linoleico, estresse oxidativo, inflamação.

Abstract

SHINAGAWA, F. B. **Brazilian grapeseed oils (*Vitis vinífera* L) evaluation and its effect of biochemical and inflammatory parameters in rats**. 2015. 165 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Grapeseed oil (GSO) is characterized as an important by-product of the agro-industry (winemaking) which has received attention as an alternative source of vegetable oils. Chemical compounds are influenced by cultivation and industrial processing, and these components modulate some important physiological functions in the body. This study aimed to evaluate the chemical composition of Brazilian GSO and its influence on biochemical parameters and inflammation in rats' serum and tissue. Firstly, seven different GSO samples were obtained from Brazilian market and were evaluated and compared for two type of extraction processes, refining and cold pressing. Cold pressed samples showed high significant phenolic concentrations, γ -tocotrienol isomer content and phytosterols concentrations, and presence of several characteristic of volatiles compounds. For biological research, healthy Wistar rats were supplemented with GSO - commercial sample had higher levels of γ -tocotrienol isomer and phenolic compounds; and soybean oil (SBO) - the most consumed oil in the country, used for comparative purposes. Both oils were supplemented daily by orogastric intubation in concentrations of 3.0 and 6.0 mL/kg body weight for 65 days. After intervention was observed no dose dependency behavior for both oils, and despite high level of lipids provided to the animals, they did not change the pattern of the animals weight gain. However, high levels of lipid peroxidation were observed in the animal's serum within GSO treatment when compared to SBO. GSO6 group was an increase of final weight of retroperitoneal adipose tissue, characterized by hypertrophy of adipocytes. Regarding the hepatic tissue, it was observed that there was a greater uptake of linoleic acid, mainly fatty acids present in GSO and SBO and it is a precursor of arachidonic acid in eicosanoids chain, interfering with the ratio increase of the inflammatory cytokines TNF- α /IL-4 and IL-6/IL-4 for all groups supplemented with both oils at higher concentrations. For the parameters of oxidative stress in the cardiac tissue, it can be seen that GSO groups were related to increased activity of the antioxidant enzymes, followed by an increase in TBARS content. The results suggest that the bioactive compounds present in the GSO caused the reduction of the oxidative stress caused by the high presence of linoleic acid, though, inflammatory markers present few changes within treatment.

Keys-word: grapeseed oil, minor compounds, oxidative stress, inflammation.

Lista de Quadros

Capítulo 1

Quadro 4.1	Compostos voláteis presentes em óleos de semente de uva brasileiros.....	61
-------------------	--	----

Capítulo 2

Quadro 5.1	Sequência de <i>primers</i> e a temperatura de amplificação para cada expressão gênica estudada (PCR-RT <i>Syber green</i> [®]).....	82
-------------------	--	----

Quadro 5.2	Resumo das relações entre dietas suplementadas com óleos de semente de uva e de soja em ratos <i>Wistar</i> durante 65 dias.....	100
-------------------	--	-----

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 3.1.	Principais regiões brasileiras produtoras de uva. FONTE: Camargo, Maia e Ritchel (2010).....	7
Figura 3.2.	Esquema sobre uso da uva para diversos fins.....	9
Figura 3.3.	Principais compostos minoritários presentes no óleo de uva.....	12
Figura 3.4.	Estrutura química do isômero γ -tocotrienol.....	14
Figura 3.5.	Representação do ácido linoleico (AL).....	16
Figura 3.6.	Transporte endógeno de lipídios. FONTE: Melo, Silva e Mancini-Filho (2013).....	17
Figura 3.7.	Esquema do processo metabólico dos ácidos graxos essenciais linoleico (n-6) e linolênico (n-3).....	20
Figura 3.8.	Esquema da regulação fisiológica modulada pelo sistema redox intracelular. FONTE: Cerqueira, Medeiros e Augusto (2007).....	23
Figura 3.9.	Esquema ilustrando o papel das enzimas antioxidantes GPx e SDO na dismutação do ânions superóxido à água e oxigênio. FONTE: adaptado de Valko et al. (2007).....	24
Figura 3.10.	Esquema ilustrando o processo de peroxidação lipídica. FONTE: adaptado de Valko et al. (2007).....	25
Figura 3.11.	Mediadores lipídicos com ação pró-inflamatória (rosa), resolvinas (azul) e de função variável (verde). FONTE: Adaptado de Raphael e Sordillo (2013).....	27

Capítulo 2

Figura 4.1	Óleos de semente de uva prensadas a frio (1: UVB, 2: URS, 3 OOV e 6: CAM) e refinados (4: CAC, 5: MDO, 7: BER) adquiridos no mercado brasileiro.....	48
Figura 4.2	Esquema das análises de caracterização dos óleos de semente de uva realizados no presente estudo.....	49
Figura 4.3	Análise de Componente Principal (PCA) baseado nos resultados de composição de diferentes marcas de óleos de semente de uva adquiridos no mercado brasileiro. 1: hexano; 2: etanol; 3: isopentanal; 4: pentanal; 5: clorofórmio; 6: 4-careno; 7: tolueno; 8: hexanal; 9: <i>banana oil</i> ; 10: N-	

pentilamina-N-nitrosopentilamina; 11: Limoneno; 12: 2,4-metil-2-hexanona, 13: álcool isoamílico; 14: tert-butildimetilsilanol; 15: etil-hexanoato; 16: n-pentanol; 17: estireno; 18: acetoina; 19: heptenal; 20: lactamida; 21: 1,3,6-dimetil-tetra-hidropiran-2-ona; 22: hexanol; 23: etil octanoato; 24: octen-3-ol; 25: furfural; 26: ácido acético; 27: 2-nonenal; 28: acetato de amônia; 29: butanediol; 30: ácido isovalérico; 31: ácido hexanóico; 32: fenil etil álcool; 33: 1,2,4,6 triterbutil-4-metil-2,5-ciclo-hexadien1-ona; 34: compostos fenólicos totais; 35: ácido oleico; 36: ácido linoleico; 37: carotenoides totais; 38: índice de peróxidos; 39: índice de p-anisidina; 40: atividade de vitamina E; 41: conteúdo de α -tocoferol; 42: γ -tocoferol; 43: γ -tocotrienol; 44: índice de estabilidade oxidativa; 45: campesterol; 46: estigmasterol; 47: β -sitosterol; 49: atividade antioxidante pelo método TEAC; 50: atividade antioxidante pelo método ORAC lipofílico; 51: atividade antioxidante pelo método ORAC hidrofílico; 52: ácido palmítico; 53: ácido esteárico; 54: soma de ácidos graxos saturados; 55: soma de ácidos graxos monoinsaturados; 56: soma dos ácidos graxos poli-insaturados; 57: ácido linolênico; 58: conteúdo de clorofilas totais; 59: índice de acidez; 60: componente L*; 61: componente a* e 62: componente b* 71

Capítulo 3

Figura 5.1	Visão geral das etapas do experimento biológico.....	74
Figura 5.2	Diâmetro (a) e perímetro (b) médios dos adipócitos após tratamento por 65 dias. Imagem representativa dos adipócitos (resolução 100x) (c, d, e, f) do tecido adiposo retroperitoneal. Resultados expressos em média $\pm$ DP (n = 4/grupo). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal.....	98
Figura 5.3	Expressão de genes ligados a parâmetros inflamatórios (a) TNF- α , (b) F4/80, (c) IL-6, (d) IL-1 β , (e) adiponectina e (f) leptina no tecido adiposo retroperitoneal de ratos tratados por 65 dias. Resultados expressos em média $\pm$ EPM (n = 8/grupo). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal. TNF- α : fatores de necrose tumoral alfa; F4/80: homólogo em rato para o fator de crescimento epidérmico 1 em humanos, IL-6: interleucina	

6; IL-1 β : interleucina 1 beta.....	99
--	----

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 3.1	Evolução da produção de uvas no Brasil, em toneladas.....	7
-------------------	---	---

Capítulo 2

Tabela 4.1	Parâmetros de qualidade de óleo de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro.....	57
Tabela 4.2	Perfil de ácidos graxos (g/100 g) presentes nos óleos de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro.....	58
Tabela 4.3	Valores médios de coordenadas Cielab de óleos de semente de uva comerciais brasileiros.....	59
Tabela 4.4	Compostos minoritários totais dos óleos de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro.....	63
Tabela 4.5	Quantificação dos principais isômeros da vitamina E e fitosteróis presentes em óleos de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro.....	65
Tabela 4.6	Valores médios do índice de estabilidade oxidativa (120 °C, 20 h/L) de óleos de semente de uva brasileiros.....	66
Tabela 4.7	Atividade antioxidante dos óleos de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro.....	68
Tabela 4.8	Coeficiente de correlação (r) e p-valor do teste de Pearson para as principais variáveis estudadas.....	69

Capítulo 3

Tabela 5.1	Composição centesimal da ração comercial utilizada no experimento.....	73
Tabela 5.2	Composição de ácidos graxos, vitamina E e fitosteróis dos óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS).....	84
Tabela 5.3	Efeito da dieta nos parâmetros de crescimento de ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.....	86
Tabela 5.4	Perfil de ácidos graxos (g/100g) no tecido adiposo retroperitoneal de ratos tratados com óleo de semente de uva (OSU) e óleo de soja (ODS) durante 65 dias.....	88
Tabela 5.5	Perfil de ácidos graxos (g/100g) no tecido hepático de ratos tratados com óleo de semente de uva (OSU) e óleo de soja	

	(ODS) durante 65 dias.....	90
Tabela 5.6	Efeito da dieta nos parâmetros bioquímicos, inflamatórios e peroxidação lipídica séricos em ratos tratados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.....	93
Tabela 5.7	Efeito da dieta na atividade antioxidante e na atividade de enzimas antioxidantes do tecido cardíaco em ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.....	94
Tabela 5.8	Efeito da dieta na atividade antioxidante e na atividade de enzimas antioxidantes do tecido hepático e marcadores inflamatórios em ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.....	96

Lista de Abreviaturas e Siglas

AA	Ácido araquidônico
Abs	Absorbância
ABTS	2,2' azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AG	Ácido graxo
AGM	Ácido graxo monoinsaturado
AGS	Ácido graxo saturado
AGP	Ácido graxo poli-insaturado
ALT	Alanina amino transferase
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOCS	Método oficial e práticas recomendadas da Sociedade Química Americana
AST	Aspartato amino transferase
AUC	Curva de decaimento da fluorescência
BF ₃	Trifluoreto de boro
BHT	Butil-hidroxitolueno
CAT	Catalase
CEA	Coeficiente de Eficácia Alimentar
CEUA	Comissão de Ética em Uso Animais
CG	Cromatografia gasosa
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COx	Enzima ciclo-oxigenase
CT	Colesterol total
DHA	Ácido docosaexaenoico
dL	Decilitro
DP	Desvio-padrão
DPPH	Radical 2,2-difenil 1-picril-hidrazil
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPA	Ácido eicosapentanoico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas
g	Gramas
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
h	Hora
ha	Hectares
HAT	Transferência de átomo de hidrogênio
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade – colesterol
HPLC	Cromatografia Líquida de alta eficiência
IA	Índice de acidez
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária

IKB- α	Complexo proteico do NF-kB
IL	Interleucina
IP	Índice de peróxido
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilograma
KI	Iodeto de potássio
L	Litro
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade – colesterol
LOx	Enzima lipo-oxigenase
LPL	Lipase lipoproteica
m	Metros
M	Molar
MDA	Malonaldeído
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
n	Número de repetições
N	Normalidade
N ₂	Gás nitrogênio
N ₂ S ₂ O ₃	Tiossulfato de sódio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaOH	Hidróxido de sódio
NF-kB	Factor nuclear <i>kappa</i> B
nMol	Nanomolar
NOS	Óxido nítrico sintase
NOx	NADPH oxidase
O ₂	Gás oxigênio
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
ORAC	Capacidade de absorbância do radical oxigênio
ODS	Óleo de soja
OSU	Óleo de semente de uva
P	Fósforo
p	Valor de probabilidade (p-valor)
PI	Período de indução
qsp	Quantidade suficiente para
RL	Radical livre
ROO [•]	Radical peróxido
rpm	Rotações por minuto
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SET	Transferência de um elétron
SOD	Superóxido dismutase
T	Tocoferol
T3	Tocotrienol
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substância reativa ao ácido tiobarbitúrico
TEAC	Capacidade antioxidante equivalente de Trolox [®]
TEP	1,1', 3, 3'- tetraetoxipropano
TAG	Triacilglicerol
TNF- α	Fator de necrose tumoral <i>alfa</i>

TOTG	Teste de tolerância à glicose
U	Unidade
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade
XO	Xantina oxidase
µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrômetros
µM	Micromolar

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Descrição dos capítulos.....	2
3 Capítulo 1	
3.1. Óleo de semente de uva: um potencial alimento funcional?.....	4
Resumo.....	4
3.1.1 <i>Cultivo e industrialização da uva no Brasil.....</i>	5
3.1.2 <i>A uva.....</i>	7
3.1.3 <i>A semente de uva – Um resíduo agroindustrial.....</i>	7
3.1.4 <i>Óleos de semente de uva (OSU).....</i>	9
3.1.5 <i>Principal constituinte minoritário do OSU: γ-Tocotrienol.....</i>	13
3.1.6 <i>Consumo de óleos vegetais no Brasil.....</i>	14
3.1.7 <i>Uma breve abordagem sobre ácidos graxos (AG).....</i>	14
3.1.8 <i>Metabolismo dos lipídios.....</i>	15
3.1.9 <i>Aspectos fisiológicos dos lipídios.....</i>	18
3.1.10 <i>Relação entre o consumo de AG e parâmetros oxidativos.....</i>	21
3.1.11 <i>Efeito do consumo de AGPI nos marcadores inflamatórios.....</i>	24
3.1.12 <i>Efeito do consumo de óleos vegetais em ratos.....</i>	28
3.1.13 <i>Efeito do consumo de óleo de semente de uva.....</i>	28
3.2 Conclusão.....	30
3.3. Referências.....	31
Capítulo 2	
4. Avaliação da composição química de óleos de semente de uva comercializados no mercado brasileiro.....	43
Resumo.....	43
4.1 Introdução.....	44
4.2 Objetivos.....	47
4.2.1 <i>Objetivo geral.....</i>	47
4.2.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	47
4.3 Material e Métodos.....	48
4.3.1 <i>Material.....</i>	48
4.3.2 <i>Métodos analíticos.....</i>	50

4.3.2.1	Parâmetros de qualidade.....	50
4.3.2.2	Perfil de ácidos graxos.....	50
4.3.2.3	Composição de fitosteróis.....	51
4.3.2.4	Quantificação dos isômeros de tocoferóis e do γ -tocotrieno.....	51
4.3.2.5	Determinação dos carotenoides totais.....	52
4.3.2.6	Quantificação de clorofilas totais.....	52
4.3.2.7	Análise de compostos voláteis.....	53
4.3.2.8	Análise instrumental de cor.....	53
4.3.2.9	Índice de estabilidade oxidativa.....	54
4.3.2.10	Quantificação de fenólicos totais.....	54
4.3.2.11	Atividade antioxidante por TEAC.....	54
4.3.2.12	Atividade antioxidante por ORAC.....	55
4.3.2.13	Análise dos dados.....	55
4.4	Resultados.....	57
4.4.1	<i>Parâmetros de qualidade.....</i>	<i>57</i>
4.4.2	<i>Perfil de ácidos graxos.....</i>	<i>58</i>
4.4.3	<i>Análise de cor.....</i>	<i>59</i>
4.4.4	<i>Compostos voláteis.....</i>	<i>60</i>
4.4.5	<i>Compostos fenólicos, carotenoides e clorofilas totais.....</i>	<i>60</i>
4.4.6	<i>Isômeros do Tocoferol (T) e Tocotrienol (T3).....</i>	<i>64</i>
4.4.7	<i>Fitosteróis.....</i>	<i>64</i>
4.4.8	<i>Índice de estabilidade oxidativa (IEO).....</i>	<i>66</i>
4.4.9	<i>Atividade Antioxidante.....</i>	<i>66</i>
4.4.10	<i>Correlação entre as variáveis do estudo.....</i>	<i>69</i>
4.5	Discussão.....	72
4.6	Conclusão.....	79
4.7	Referências.....	80

Capítulo 3

5. Efeito do óleo de semente de uva prensado a frio sobre marcadores bioquímicos e perfil inflamatório em ratos.....	87
Resumo.....	87
5.1 Introdução.....	88
5.2 Objetivos.....	90
5.2.1 <i>Objetivo geral.....</i>	90
5.2.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	90
5.3 Materiais e Métodos.....	91
5.3.1 <i>Materiais.....</i>	91
5.3.2 <i>Protocolo experimental.....</i>	91
5.3.2.1 <i>Animais.....</i>	91
5.3.2.2 <i>Composição centesimal da ração.....</i>	94
5.3.2.3 <i>Composição química dos óleos</i>	94
5.3.2.4 <i>Teste Oral de Tolerância à Glicose.....</i>	95
5.3.2.5 <i>Coleta do soro e dos tecidos.....</i>	95
5.3.2.6 <i>Parâmetros bioquímicos séricos</i>	96
5.3.2.7 <i>Percentual de gordura e perfil de ácidos graxos teciduais.....</i>	96
5.3.2.8 <i>Preparo do homogenato dos tecidos e quantificação de proteína.....</i>	97
5.3.2.9 <i>Peroxidação lipídica sérica e tecidual.....</i>	97
5.3.2.10 <i>Capacidade antioxidante total do tecido hepático.....</i>	97
5.3.2.11 <i>Atividade das enzimas antioxidantes.....</i>	98
5.3.2.12 <i>Citocinas inflamatórias nos tecidos hepático e adiposo retroperitoneal.....</i>	100
5.3.2.13 <i>Expressão gênica da inflamação no tecido adiposo retroperitoneal.....</i>	100
5.3.2.14 <i>Histologia e análise morfométrica do tecido adiposo.....</i>	101
5.3.2.15 <i>Análise estatística dos dados.....</i>	102
5.4 Resultados.....	102
5.4.1 <i>Composição química dos óleos.....</i>	102
5.4.2 <i>Avaliações alimentar, ponderal total e tecidual.....</i>	104
5.4.3 <i>Análise da gordura total e do perfil de ácidos graxos dos tecidos adiposo retroperitoneal e hepático.....</i>	106

5.4.4	<i>Parâmetros séricos.....</i>	111
5.4.5	<i>Tecido cardíaco: Uma avaliação da peroxidação lipídica e da atividade das enzimas antioxidantes.....</i>	113
5.4.6	<i>Tecido hepático: Uma avaliação da peroxidação lipídica, atividade das enzimas antioxidantes e citocinas inflamatórias..</i>	114
5.4.7	<i>Tecido adiposo retroperitoneal: análise da expressão gênica de citocinas, histologia e morfometria</i>	116
5.5	Discussão.....	120
5.6	Conclusões.....	128
5.7	Referências.....	129
6.	Considerações Finais.....	139

Apêndices

Anexos

1. Introdução

A importância do consumo de óleo vegetal como fonte lipídica, em uma dieta humana e animal, se destaca tanto pelo aspecto energético quanto pelo fornecimento de compostos essenciais para manutenção da funcionalidade do organismo. No contexto do Brasil, o óleo de soja ganha grande destaque, sendo utilizado tanto no preparo de pratos quentes como em misturas com outros óleos para obtenção de temperos.

Seguindo a tendência mundial no estudo da avaliação química e nutricional de óleos obtidos de sementes de frutas com reconhecido potencial funcional, sobretudo pela diversidade de seus componentes e sua participação em processos metabólicos, identifica-se a importância em estudar mais profundamente os diferentes óleos de semente de uva disponíveis no mercado brasileiro e avaliar seu efeito em animais.

Cita-se, ainda, que o óleo é extraído da semente da uva, considerada resíduo agroindustrial da indústria do vinho; assim, valorar produtos oriundos deste resíduo é de grande importância econômica, ambiental e social.

Para realização deste estudo, inicialmente foram avaliados os índices de qualidade das amostras e realizadas análises para a quantificação de ácidos graxos e de outros componentes presentes na fração insaponificável (fenólicos, flavonoides, clorofila, carotenoides, tocoferóis e fitosteróis) e também avaliar os compostos voláteis, a estabilidade oxidativa e a atividade antioxidante.

Diante dos resultados obtidos na primeira etapa, foi verificada a necessidade de se realizar mais estudos visando a elucidação das implicações nutricionais e fisiológicas do consumo crônico do óleo de semente de uva. Para tanto, avaliou-se a participação do ácido linoleico – ácido graxo majoritário presente no óleo de semente de uva – nos tecidos hepático, cardíaco e adiposo, assim como a influência sobre biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatórios.

Neste sentido, a hipótese do presente trabalho foi investigar, em ratos, a influência do consumo de óleo de semente de uva sobre o perfil lipídico e os níveis de biomarcadores de processos fisiológicos.

2. Descrição dos capítulos

A tese aqui apresentada está dividida em três capítulos, os quais não necessariamente correspondem à ordem cronológica em que a pesquisa foi realizada.

Capítulo 1: Óleo de semente de uva: um potencial alimento funcional?

Neste capítulo, está apresentada uma breve revisão da literatura sobre o óleo de semente de uva, procurando dar maior entendimento aos dois outros capítulos subsequentes.

Capítulo 2: Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva comerciais

Neste capítulo, buscou-se caracterizar os principais constituintes presentes no óleo de semente de uva e avaliar o potencial antioxidante de sete diferentes marcas comerciais brasileiras. Adicionalmente, verificar a diferenças em dois tipos de processamento: prensado a frio e refino. Este capítulo será submetido para publicação na revista *Food Research International*.

Capítulo 3: Influência do óleo de semente de uva prensado a frio nos marcadores bioquímicos e perfil inflamatório em ratos

Neste capítulo, trata de avaliar os efeitos inflamatórios e de estresse oxidativo com o consumo crônico do óleo de semente de uva prensado a frio em ratos por 65 dias. Parte deste capítulo foi aceita para publicação na *Revista de Nutrição* (v. 28, n. 1, p. 65-76, 2015).

Capítulo 1

3. Revisão da literatura

3.1 Óleo de semente de uva: um potencial alimento funcional?

Resumo

O óleo de semente de uva ainda é pouco consumido no Brasil. Ao redor do mundo, já existem investigações que apontam-lhe elevados teores de compostos minoritários com potencial bioativo e, por conseguinte, relacionados a benefícios à saúde. Alguns trabalhos apresentam resultados controversos e ainda não existe consenso na literatura em relação às suas características e aos seus efeitos no organismo animal. Assim, este capítulo teve como objetivo apresentar uma revisão sobre o óleo de semente de uva e os potenciais efeitos à saúde dos seus principais componentes, avaliando-se ácido linoleico, γ -tocotrienol e β -sitosterol, além de avaliar sua influência em parâmetros bioquímicos, de estresse oxidativo e inflamatórios.

Palavras-chave: óleo de semente de uva, ácido linoleico, tocotrienóis.

3.1.1. Cultivo e industrialização da uva no Brasil

Pesquisas arqueológicas indicam que a uva já era cultivada no mundo anteriormente a 4000 a.C. Porém, no Brasil, a videira foi introduzida somente em 1532 pela colonização portuguesa (CAMARGO; MAIA; RITCHEL, 2010).

O cultivo de uva no país ocorre desde então nos estados das regiões Sul e Sudeste, mas, principalmente, na Sul, com destaque para o estado do Rio Grande do Sul, sobretudo os municípios do nordeste gaúcho, como Bento Gonçalves, Flores da Cunha, Garibaldi, Farroupilha, Caxias do Sul, Antônio Prado e São Marcos, responsáveis por 50.646 hectares (ha) de área cultivada (EMBRAPA, 2013; FREITAS, 2007).

A finalidade do cultivo brasileiro de uva concentra-se na produção de vinho (viticultura) e também na obtenção de suco de uva, com maior destaque para a primeira. A agroindústria do vinho nacional também encontra-se localizada principalmente no estado do Rio Grande do Sul, caracterizado pela viticultura subtropical que passou a ter importância comercial em meados do século XIX, com a introdução do cultivo da uva americana 'Isabel' (*Vitis labrusca*) (MELLO, 2011).

Na década de 1960, o Vale do rio São Francisco entrou também no cenário como grande produtor de uva com a introdução da viticultura tropical no país. Desde então, iniciaram-se investimentos para implantação e/ou modernização do setor industrial motivados por um mercado interno com potencial para produtos de melhor qualidade (FREITAS, 2007).

A Figura 3.1 ilustra as principais regiões brasileiras que produzem vinho.

Figura 3.1 Principais regiões brasileiras produtoras de uva. **FONTE:** Camargo, Maia e Ritchel (2010).

Dados mais recentes da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAOSTAT, 2012) mostram que, em 2011, o Brasil foi o 11º produtor de uva no mundo e que a sua safra correspondeu a, aproximadamente, 1,5 milhões de toneladas de uvas; ou seja, 80.003 ha de área produzida em todo território nacional (IBGE, 2012). O estado do Rio Grande do Sul continua se destacando como o maior produtor nacional, com produção de 829.589 toneladas ao ano, o que representa, aproximadamente, 55 % do cultivo total brasileiro (EMBRAPA, 2013).

3.1.2 A uva

Em 2011, aproximadamente 42 % da produção total de uva foram comercializados como uva de mesa e 57 % foram destinados ao processamento (MELLO, 2011). Há grande número de cultivares no Brasil, dentre eles os cultivares de *Vitis vinifera* e mais de 40 cultivares de uvas americanas (CAMARGO; MAIA; RITCHEL, 2010).

Tabela 3.1. Evolução na produção de uvas no Brasil, em toneladas.

	2008	2009	2010	2011
Processamento	708.042	678.169	557.888	836.058
Consumo <i>in natura</i>	691.220	667.550	737.554	627.423
TOTAL	1.399.262	1.345.719	1.295.442	1.463.481

FONTE: MELLO, 2011.

3.1.3 A semente de uva – um resíduo agroindustrial

Com o aumento na produção de uvas, a indústria vinícola produz cada vez mais resíduo de biomassa que, do ponto de vista ambiental, pode ser utilizado para uma finalidade benéfica ao ser humano e ao meio ambiente (KOBORI; JORGE, 2005). Reutilizá-lo resolveria, pelo menos em parte, os problemas de armazenagem e eliminação da biomassa das vinícolas. Mas a importância em reutilizar o bagaço deve-se principalmente ao fato de seu conteúdo ser rico em lipídios, compostos bioativos como vitamina E e outros com atividades fitoterápicas, importantes para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos (KIM et al., 2013; ROCKENBACH et al., 2011; NAKAMURA; TSUJI; TONOGAI, 2003).

Figura 3.2. Esquema sobre uso da uva para diversos fins.

Esse resíduo é composto basicamente por casca, semente e engaço (hastes da uva). A quantidade de sementes presentes no fruto pode variar entre uma e quatro unidades. Segundo Matthäus (2008), em 100 kg de resíduo úmido produzido pela indústria são obtidos de 10 a 12 kg de sementes.

O conteúdo lipídico de uma semente de uva gira em torno de 7 a 20 % (BEVERIDGE et al., 2005; LUQUE-RODRIGEZ et al., 2005; CAO; ITO, 2003). Além disso, ela também possui 35 % de fibras, 11 % de proteínas, 3 % de minerais, 7 % de água e aproximadamente 29 % de compostos minoritários como fitosteróis, compostos fenólicos e tocoferóis. Porém, as concentrações podem variar, dependendo do processamento realizado, como, por exemplo, a prensagem para obtenção deste conteúdo (LUQUE-RODRÍGUEZ et al., 2005; SCHIEBER et al., 2002).

A semente da uva é a parte do resíduo agroindustrial da viticultura e da indústria dos sucos mais extensivamente estudada devido seu alto potencial antioxidante (PERALBO-MOLINA; LUQUE de CASTRO, 2013; Lafka; Sinanoglou; Lazos, 2007). Sobre os efeitos benéficos dos extratos obtidos da semente, destacam-se: modulação da expressão de enzimas antioxidantes (Puiggròs et al., 2005); proteção contra danos oxidativos nas células do cérebro de ratos (Guo et al., 2007); aterosclerose em hamster (VINSON et al., 2002); inibição de metastase em tumor mamário (Mantena; Baliga; Katiyar, 2006) e alguns efeitos anti-inflamatórios (WANG et al., 2009; Terra et al., 2007).

Comumente, os óleos vegetais são obtidos por extração química utilizando um solvente, o que requer uma etapa de refino. Outro processo de extração é a prensagem a frio, cuja vantagem consiste na conservação de quantidade significativa de biocompostos na fração insaponificável após processamento (FREITAS, 2007).

3.1.4 Óleos de semente de uva (OSU)

Segundo Salas et al. (2000), 75 % do óleo de origem vegetal são extraídos do endosperma das sementes, com alto conteúdo lipídico. Cada vez mais, os óleos vegetais fazem parte da dieta humana e sua procura deve aumentar, uma vez que, atualmente, prefere-se substituir as gorduras de origem animal, como manteiga e banha, por aqueles.

Existem vastas possibilidades de uso dos óleos vegetais, porém a mais comum é na culinária. No Brasil, sua produção é de aproximadamente 5,9 milhões de toneladas por ano, extraída basicamente de oleaginosas como a soja, girassol, canola, algodão e amendoim. Seu consumo está em torno de 3,7 milhões de toneladas (USDA, 2007).

Há uma tendência mundial na busca de novas fontes de óleo vegetal, sendo que muitas pesquisas têm sido realizadas pelo mundo para sua obtenção, principalmente com sementes de frutos (CHOUGUI et al., 2013; PARRY et al., 2006; 2005; EL-ALDAWY; TAHA, 2001).

O óleo de semente de uva (OSU) é fabricado na Alemanha, na França e na Itália desde 1930 e o seu consumo é bem difundido na Europa (CAMARGO;

MAIA; RITCHEL, 2010). No Brasil, o OSU ainda é pouco conhecido, sendo de profunda importância a caracterização dos seus componentes para comercialização. A estimativa de produção do OSU no país – considerando, como dito anteriormente, que 42 % dos 1,5 milhões de tonelada de uvas são utilizados para o processamento e 10 % da uva constituem-se de sementes, com conteúdo lipídico por volta de 15 % – seria por volta de 9,5 mil toneladas por ano.

Na literatura, verifica-se que a composição do OSU possui elevado conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), na faixa de 85 a 90 %; dentre os quais, destaca-se o ácido linoleico (C18:2), expoente da série n-6 (FERNANDES et al., 2012).

O ácido linoleico está presente de forma abundante nos óleos vegetais, como o de girassol (cerca de 60 %), milho (aproximadamente 52 %), soja (em torno de 50 %) e também do açafrão geneticamente modificado (próximo de 70 %) (TANGOLAR et al., 2009).

A localização estereoquímica de um ácido graxo na molécula do glicerol é um fator importante na nutrição. Desta forma, Bail et al. (2008) estudaram a composição de triacilgliceróis do óleo de semente de uva e verificaram a predominância de triacilgliceróis nas posições LLL (até 41,8 %), LLP (até 24,3 %), LLO (até 16,3 %) e LOO (até 11,7 %), seguidas das posições LOP (até 9,3 %) e LOS/OOO (até 4,3 %), nas quais L representa o ácido linoleico (C18:2), P o ácido graxo palmítico (C16:0) e O o ácido graxo oleico (C18:1).

Ter conhecimento das posições (sn-1, 2 e 3) dos ácidos graxos no glicerol é enriquecedor, pois sua análise fornece informações importantes sobre a atividade biológica do triacilglicerol (TG). Função esta que está relacionada diretamente à ação da lipase pancreática, a principal enzima da digestão de triacilgliceróis, que é capaz de hidrolisar as ligações éster nas posições sn-1 e sn-3 da molécula do glicerol (BAIL et al., 2008).

Também existem componentes de grande importância biológica, devido ao potencial antioxidante, que são os compostos minoritários presentes em OSU e demais óleos vegetais encontrados na natureza. Dentre eles, destacam-

se fitosteróis, tocoferóis e tocotrienóis, flavonoides, ácidos fenólicos e carotenoides.

Figura 3.3. Principais compostos minorotários presentes no óleo de uva.

É postulado que o OSU é um dos importantes óleos vegetais com relativa quantidade de tocoferóis e tocotrienóis. Na sua composição, é possível encontrar valores de vitamina E, na faixa de 1 a 53 mg/100 g de óleo (FREITAS et al., 2008). Essa composição depende muito da variedade da uva e das condições do meio de plantio (CREWS et al., 2006). Em outro estudo sobre a quantificação de tocoferóis, o óleo de semente de uva apresentou cerca de 10 mg de α -tocoferol/100 g de óleo (MATTHÄUS, 2008).

Entre os trabalhos que relatam a quantificação de fitosteróis no OSU, Crews et al. (2006) verificaram média entre 2,58 e 11,25 mg/g. Dados estes confirmados mais tarde por Rubio et al. (2009) e Pardo et al. (2009), indicando que o β -sitosterol é o principal constituinte dos fitosteróis encontrados no OSU. A porcentagem média observada pelos autores foi entre 67 e 70 %. Em seguida, campesterol (9-14 %) e stigmasterol (9-17 %) são encontrados na composição de fitosteróis, enquanto conteúdos de Δ -5-avenasterol (1-3 %), Δ 7-

stigmasterol (1-3 %) e Δ^7 -avenasterol (1 %) são baixos (NAVAS, 2009; MATTHÄUS, 2008).

Outros compostos de grande relevância presentes no OSU são os compostos fenólicos, responsáveis pela captura de espécies reativas de oxigênio e consequentes efeitos benéficos. Esta capacidade é maior para os compostos fenólicos se comparada com outros antioxidantes, tais como vitamina C (20 vezes mais potente), vitamina E (50 vezes) e β -caroteno (UCHIDA et al., 1988).

A semente da uva possui considerável teor de compostos fenólicos (em torno de 60 a 70 %), em menores porcentagens em outras partes do fruto, como na casca (28-35 %), e valores inferiores encontrados na polpa (aproximadamente 10 %) (REVILLA et al. 1997).

Maier et al. (2009) identificaram ácido gálico, catequina, epicatequina e ampla variedade de procianidinas na semente da uva, corroborando o trabalho de Shi et al. (2004), que verificaram que a composição de fenólicos na semente da uva compreende alguns monômeros, como catequina, epicatequina e epicatequina-3-O-gallato, assim como alguns oligômeros da procianidina.

Embora a ação antioxidante desses compostos minoritários presentes na semente de uva seja bem conhecida, o estudo do potencial antioxidante do óleo extraído da semente ainda é pouco explorado na literatura. Considerando que o método de extração dos óleos pode preservar tais componentes, torna-se interessante identificar e quantificar esses compostos presentes nos OSU.

Existem trabalhos na literatura que investigaram diferentes formas de extração do óleo da semente devido a afinidade polar ser uma importante variável para a manutenção dos bioativos após a extração do óleo; assim, Pinelo et al. (2005) estudaram a otimização no processo de extração no qual a semente foi submetida.

Pouco se sabe sobre a composição de compostos minoritários presentes nos óleos de semente de uva comercializados no mercado brasileiro. É necessária uma pesquisa detalhada da composição, a fim de elucidar os produtos hoje disponíveis no mercado nacional.

3.1.5 Principal constituinte minoritário do OSU: γ -Tocotrienol

Há evidências na literatura de que o potencial antioxidante do óleo de semente de uva está diretamente relacionado à elevada concentração do isômero γ -tocotrienol da vitamina E (FERNANDES et al., 2013; MADAWALA; KOCHHAR; DUTTA, 2012; FREITAS et al., 2008; CREWS et al., 2006) raramente encontrada em outros óleos (MATTHAUS, 2008).

Estudos têm reportado tanto efeito antitumoral como antioxidante dos isômeros de tocotrienóis e em frações ricas de tocotrienóis (AGGARWAL et al., 2010; CHOI; LEE, 2009). Wu et al. (2008) postularam que os tocotrienóis possuem maior potencial antioxidante do que os isômeros de tocóis na inibição de iNOS e COx-2 e diminuem a transcrição de citocinas pró-inflamatórias induzidas pela LPS em monócitos humanos. Outro importante papel dos tocotrienóis consiste na melhora da sensibilidade à insulina, possibilitando menor incidência de resistência à ela (FANG et al., 2010).

Nesta perspectiva, a ação do γ -tocotrienol (Figura 4.4), presente no óleo de semente de uva, poderia explicar o potencial antioxidante e/ou anti-inflamatório deste óleo.

Figura 3.4. Estrutura química do isômero γ -tocotrienol.

3.1.6 Consumo de óleos vegetais no Brasil

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), são produzidas aproximadamente 7.140 mil toneladas de óleo vegetal no Brasil. Este valor é baseado na produção de óleo de soja, principal insumo utilizado como óleo vegetal no país.

Os óleos vegetais, além de atuarem como reforçadores de sabor e melhorarem a palatibilidade dos alimentos, contribuem também para uma dieta equilibrada, uma vez que apresentam, na sua composição, nutrientes essenciais (ácidos graxos essenciais) que o organismo não tem capacidade de sintetizar e que são fundamentais em determinados processos metabólicos, fisiológicos e de manutenção da integridade estrutural e funcional de todas as membranas celulares. Por outro lado, apresentam também fitoesteróis (com reconhecida ação benéfica na redução do colesterol) e antioxidantes naturais (vitamina E, flavonoides e compostos fenólicos) (MADAWALA; KOCHHAR; DUTTA, 2012).

3.1.7 Uma breve abordagem sobre ácidos graxos (AG)

Os ácidos graxos podem ser encontrados na forma livre ou esterificados com o glicerol, formando os triglicerídeos (TG). São constituídos de ácidos monocarboxílicos de cadeia normal que apresentam o grupo carboxila (-COOH) ligado a uma longa cadeia alquílica, sendo classificados em saturados (AGS) ou insaturados, conforme o número de duplas ligações. Aqueles com uma única dupla ligação são denominados ácidos graxos monoinsaturados (AGMI); aqueles que apresentam duas ou mais duplas ligações, são poli-insaturados (AGPI) (ROCHA, 2008). Em óleos brutos, os TG representam normalmente 95-97 % do total, enquanto que óleos refinados podem conter mais de 99 % de TG.

A Figura 4.5 ilustra o ácido graxo que receberá maior destaque na abordagem deste estudo – o ácido linoleico.

Figura 3.5. Representação do ácido linoleico (AL).

3.1.8 Metabolismo dos lipídios

Os AG de uma dieta são classificados de acordo com o número de duplas ligações, tamanho da cadeia carbônica e sua posição no triacilglicerol. Essas diferenças estruturais nos AG podem interferir em respostas metabólicas envolvidas com os lipídios plasmáticos e também com o metabolismo lipídico (WILLIAMS; BUTTRISS, 2006).

O processo de digestão e absorção dos lipídios da dieta é complexo. Inicia-se no estômago e passa pelo intestino delgado (via exógena), onde ocorre a parte principal da digestão e da absorção dos ácidos graxos (AG) provenientes da dieta. Essa absorção está correlacionada diretamente ao tamanho do AG (VAZ et al., 2006).

A contribuição da dieta na obtenção dos AG de cadeia curta é pouco significativa. Já os AG de cadeia média constituem uma fonte rápida de energia. Os AG de cadeia longa são incorporados e absorvidos ainda no intestino via borda em escova dos enterócitos e migram para o retículo endoplasmático liso, onde ocorre a síntese dos triacilgliceróis (TG). As lipoproteínas são complexos específicos constituídos de lipídios e proteínas, chamadas apolipoproteínas, que possuem como principal função o transporte de TG e de outros compostos do metabolismo de lipídios (colesterol, fosfolipídios, dentre outros) na circulação sanguínea (MELO, SILVA e MANCINI-FILHO, 2013).

Uma vez na forma de lipoproteína, os TG migram, via exógena, para o fígado, através do sistema linfático e, em seguida, os AG esterificados no hepatócito são transportados para os tecidos periféricos (via endógena) pelas lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL) e pelas lipoproteínas de baixa

densidade (LDL). As VLDL exercem papel fundamental no transporte via endógeno dos AG sob a forma de TG.

Os TG das VLDL são hidrolisados pela lipase lipoproteica (LPL), gerando as remanescentes de VLDL ou lipoproteínas de densidade intermediária (IDL). As IDL podem ser removidas da circulação ou, após a ação da LPL, originar as LDL. As LDL fazem parte da via metabólica das lipoproteínas ricas em colesterol e são responsáveis pela distribuição do colesterol para os tecidos extra-hepáticos (CURI et al., 2002), como ilustrado na Figura 4.6.

A HDL exerce papel fundamental no transporte reverso do colesterol, uma vez que remove seu excesso dos tecidos periféricos e o transporta para o fígado, onde é metabolizado e eliminado na forma de ácidos e sais biliares (CURI et al., 2002).

Figura 3.6. Transporte endógeno de lipídios. **FONTE:** Melo, Silva e Mancini-Filho (2013).

As mudanças que podem ocorrer no metabolismo lipídico e das lipoproteínas estão correlacionadas com a quantidade e a qualidade dos ácidos graxos da dieta. Sendo assim, os AG podem influenciar no metabolismo e

promover mudanças no peso e na composição dos tecidos e, desta forma, estarem associados a doenças, como obesidade, doenças coronarianas e câncer (GAÍVA et al., 2003).

Lottenberg et al. (2012), em artigo de revisão, destacaram as principais ações dos AGPI no metabolismo lipídico: (1) seu consumo elevado pode diminuir a produção de VLDL no fígado, com concomitante diminuição da expressão de MTP (proteína de transferência de triacilglicerol microssomal); (2) aumentam a fluidez da membrana dos hepatócitos, devido sua alta afinidade com a enzima ACAT (acil-colesterol-aciltransferase), alterando a atividade e a quantidade do receptor de LDL; (3) ocorre mudança na configuração espacial do LDL, pois os AGPI e os fosfolipídeos se apresentam, em sua maior parte, na forma *cis*; desta maneira, ocupam maior espaço nas lipoproteínas e, com isso, restringem o volume de partículas viáveis para o transporte de colesterol; (4) a formação de LDL com menor conteúdo de éster de colesterol é consequência da diminuição da taxa de transferência medida por uma específica proteína de transferência (CETP); (5) redução na concentração de HDL via supressão dos receptores LXR/RXR, responsáveis pela síntese da ABCA-1, um transportador envolvido na formação de HDL.

O metabolismo dos lipídios envolve também importantes etapas, como lipólise, síntese de ácidos graxos e oxidação. A lipólise é o processo pelo qual o TG é dissociado em AG e glicerol pela ação das lipases, resultando na disponibilização de AG para diversos tecidos. A oxidação dos AG se dá para obtenção de transporte eficiente pela membrana e é realizada via β -oxidação nas mitocôndrias e nos peroxissomos. Já a síntese de AG é obtida pelo processo de lipogênese, sendo o fígado e o tecido adiposo os principais sítios de ação (MELO; SILVA; MANCINI-FILHO, 2013).

Neste sentido, os ácidos graxos regulam não somente a homeostase lipídica no sangue, no nível da interação proteína e lipídio, mas também no nível genético, afetando, desta forma, a expressão de genes (LOTTENBERG et al., 2012).

3.1.9 Aspectos fisiológicos dos lipídios

Os lipídios estão distribuídos em todos os tecidos, principalmente nas membranas celulares e nas células de gordura ou adipócitos (KOBORI; JORGE, 2005). São compostos por AG, que, como descrito no item anterior, possuem capacidade de modular as interações célula-célula e as sinalizações intracelulares.

Um aspecto nutricional de fundamental importância dos AGPI é sua essencialidade, pois o organismo animal não apresenta vias metabólicas para sintetizá-los, sendo necessária a suplementação pela dieta. Os ácidos graxos linoleico (n-6) e α -linolênico (n-3) são essenciais e desempenham funções celulares fundamentais, como precursores para a síntese de outros ácidos graxos de cadeia longa (UMESHA; NAIDU, 2012).

Uma vez no organismo, esses AGPI essenciais são absorvidos nas células e nos tecidos; em seguida, são acilados e passam a constituir lipídios estruturais de membrana, podendo ser transformados, como ilustrado no processo metabólico na Figura 4.7.

Desta forma, os lipídios provindos da dieta estão relacionados ao início e/ou a progressão de várias doenças, por exercer efeito nas alterações da composição de fosfolípidos de membrana que, de forma adaptativa, como na dieta a longo prazo, são capazes de modular a composição da membrana. Hoje, verifica-se que os estudos se direcionam na investigação da capacidade que os AGPI possuem de modular a composição da membrana plasmática e desorganizar a estrutura celular, aumentando a formação de domínios específicos chamados *lipids rafts*. Essa nova organização estrutural é capaz de modificar a fluidez e também facilitar a resposta a ligantes extracelulares, o que leva a alterações em hormônios de sinalização (SHAIKH, 2010).

O processo metabólico dos AGPI essenciais é realizado por sucessivas etapas, que envolvem alongamento e dessaturação da cadeia carbônica, conhecida como cadeia dos eicosanoides. A dessaturação provocada pela enzima dessaturase caracteriza-se pela introdução de uma dupla ligação na

cadeia de carbono e a elongação ocorre pela ação da enzima elongase que atua na adição de dois átomos de carbono na cadeia (DOMMELS et al, 2002).

A reação em cadeia ocorre inicialmente com a dessaturação do ácido linoleico a γ -ácido linoleico (GLA) via catalítica da enzima Δ -6-dessaturase (FADS2). Em seguida, a elongação ocorre com a transformação da GLA a di-homo- γ -ácido linoleico (DGLA), via proteína de elongação a ácido graxo de cadeia muito longa (ELOVL5), e, finalmente, um ciclo de elongação e dessaturação pela enzima Δ -5-dessaturase (FADS1) provoca a formação do ácido araquidônico (AA) (PATTERSON et al., 2012).

Figura 3.7. Esquema do processo metabólico dos ácidos graxos essenciais linoleico (n-6) e linolênico (n-3).

O ácido araquidônico (AA), como precursor da cadeia dos eicosanoides, é a relação-chave entre os ácidos graxos e a função imunológica. O AA na membrana celular pode ser mobilizado por várias enzimas fosfolipases, mais notadamente a fosfolipase A2 e, assim, pode, subsequentemente, agir como um substrato para as enzimas ciclo-oxigenases (COx), formando

prostaglandinas da série 2 (PG) e compostos relacionados (PGI₂, TXA₂, TXB₂, PGD₂, PGE₂ e PGF₂), ou por uma das três lipo-oxigenases (LOx), formando leucotrienos da série 4 (LT) e seus compostos relacionados (LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄ e LTE₄) (CALDER; GRIMBLE, 2002).

Utilizando a mesma via dos eicosanoides, o α -linolênico é convertido em ácido eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3), docosapentanoico (C22:6 n-3) e docosa-hexanoico (DHA, C22:6 n-3) (Figura 4.7). Portanto, uma vez que, para a metabolização desses constituintes, são necessárias as mesmas enzimas, verifica-se certa competição entre os ácidos graxos da família n-3 e n-6 pelas enzimas que os metabolizam (as dessaturases e as elongases). Assim, o excesso de uma das famílias pode interferir na metabolização da outra, reduzindo, assim, sua incorporação no tecido (BLANCHARD et al., 2013).

Ainda são controversos os dados na literatura sobre os efeitos de diferentes tipos de AG na saúde. Ao contrário da grande evidência da estreita relação entre o consumo de AGPI n-6 e a indução da resposta inflamatória via derivados do AA, observa-se nela que estes possuem importante papel na homeostase, regulando a resolução e a promoção da inflamação na resposta imune (RAPHAEL; SORDILLO, 2013; RICCIOTI; FITZGERALD, 2011).

Referente ao AGPI n-6, existem diferentes estudos, dentre os quais destacam-se: Patterson et al. (2012), que sugerem que ele possui ação anti-inflamatória, com a diminuição nos níveis da proteína C reativa no soro de homens e mulheres japoneses; outro trabalho, que ressalta que dietas ricas em óleos com elevado teor de n-6 não são capazes de induzir a obesidade em ratos (DULOO et al., 1995), sendo também relatada, pelo comitê americano de nutrição associada ao coração, a relação do consumo de n-6 com a redução no risco de doenças coronarianas. Os autores confirmam que estes tipos de AG devem ser consumidos (HARRIS; ASSAAD; POSTON, 2009).

Em geral, destacam-se, na literatura, as evidências de efeitos maléficos do excesso do consumo de AGPI da família n-6, porém não é apenas a quantidade ingerida do AGPI n-6 que é capaz de modular o metabolismo celular, mas principalmente a relação das famílias n-6 e n-3 dos ácidos graxos.

Segundo Simopoulos (2003), na dieta ocidental, a razão n-6/n-3 está próxima de 15-16/1, ao contrário do que se presume de uma dieta saudável (-4/1).

Desta forma, o aumento da razão n-6/n-3 é um fator determinante no grau de inflamação, uma vez que derivados do metabolismo de AGPI podem iniciar e exacerbar respostas inflamatórias, pela predominância dos eicosanoides pró-inflamatórios, sugerindo uma relação específica entre AGPI, sistema imune e doenças patogênicas (CALDER, 2011).

O consumo excessivo de AGPI n-6, com destaque para o ácido linoleico, está relacionado com algumas doenças crônicas não-transmissíveis, como diabetes (LEICHLEITNER; DREWEL, 2003), com o maior risco de doenças coronarianas (ISO et al., 2002) e com a maior propensão a quadros inflamatórios (CALDER, 2009), como a neuroinflamação (LAYÉ, 2010), assim como aterosclerose, mastite e câncer (SIMOPOULOS, 2006; CONTRERAS; SORDILLO, 2011).

3.1.10 Relação entre consumo de AG e parâmetros oxidativos

O consumo exacerbado de AGPI na dieta pode ser deletério ao organismo, devido ao aumento de produtos intermediários como peróxidos e aldeídos. Isso ocorre pela presença de duplas ligações entre seus átomos de carbono na estrutura química, estando passíveis à ação de processos oxidativos (KRUGER et al., 2010).

A oxidação pode acarretar danos nas membranas celulares, formação exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), alterações nos lipídios de membrana, proteínas, enzimas, carboidratos e DNA, prejudicando, assim, o equilíbrio e gerando estado de estresse oxidativo (WILLIAMS; BUTTRISS, 2006).

Neste sentido, é necessário o balanço delicado entre fatores que promovem a oxidação e os mecanismos antioxidantes de defesa em sistemas biológicos, conhecido como homeostase redox (VALKO et al., 2007).

Esse sistema de defesa é constituído tanto por antioxidantes enzimáticos como por não enzimáticos. O complexo sistema enzimático inclui

superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutational peroxidase (GPx), glutational redutase (GR), peroxirredoxina (PRx) e tiorredoxina (TRx). Já as defesas não enzimáticas compreendem principalmente compostos como glutational reduzida (GSH), bilirubina, estrógeno, ácido úrico (AU), ácido lipoico (AL), ácido ascórbico (Asc), coenzima Q (CoQ), melanina, melatonina, tocoferóis (α TH), carotenoides (CR), licopeno, compostos fenólicos e flavonoides (VALKO et al., 2007; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007), como ilustrado na Figura 4.8.

Figura 3.8. Esquema da regulação fisiológica modulada pelo sistema redox intracelular. **FONTE:** Cerqueira, Medeiros e Augusto (2007).

O sistema de defesa enzimático envolve uma complexa reação em cadeia via regulação fisiológica intracelular. De acordo com a Figura 4.8, um desequilíbrio neste sistema de homeostase redox acarreta em estresse oxidativo. Tal condição está associada a doenças autoimunes, inflamatórias ou neurodegenerativas devido à potencialização da modulação positiva, representada por fatores endógenos e exógenos que levam à formação de ERO e ERN e, consequentemente, à supressão da modulação negativa representada pelos antioxidantes (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO,

2007), dentre as quais, podemos destacar aterosclerose (RAPOSO, 2010), câncer (REUTER et al., 2010), envelhecimento precoce (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999), doenças neurológicas (SAYRE; SMITH; PERRY 2001) e diabetes (EVANS et al., 2003).

Um trabalho, desenvolvido por Matsuda e Shimomura (2013), verificou que o aumento de ácidos graxos armazenados nos adipócitos estimula a produção de ERO, pela ativação da via NADPH oxidase, e redução na atividade das enzimas antioxidantes.

O mecanismo de ação das enzimas antioxidantes é complexo e compreende basicamente a ação de três principais enzimas: SOD, CAT e GPx. A SOD é uma enzima presente em todos os organismos aeróbios e tem, como papel biológico, catalisar a dismutação de íons superóxido em oxigênio (O_2) e hidróxido de hidrogênio (H_2O_2). A CAT tem a função de controlar os níveis de peróxido de hidrogênio, pois é responsável pela sua degradação (transforma o peróxido de hidrogênio formado na dismutação do ânion superóxido em água e oxigênio). A GPx é uma outra forma de eliminar o peróxido de hidrogênio, atuando na remoção deste e de outros peróxidos através do acoplamento de sua redução à água com a concomitante oxidação da GSH em GSSG. A GSH pode ser regenerada pela interação da forma oxidada com o nicotinamina adenina trifosfato (NADPH), através da GR (BARBOSA et al., 2010; LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

Figura 3.9. Esquema ilustrando o papel das enzimas antioxidantes GPx e SDO na dismutação do ânions superóxido à água e oxigênio. **FONTE:**

adaptado de Valko et al. (2007).

A glutathione (GSH) é o principal tiol com potencial antioxidante que pode inibir a peroxidação lipídica. O peróxido de hidrogênio, produto da peroxidação

lipídica, é eliminado de forma mais eficiente pela GPx, que requer a ação da GSH como doador de elétrons. Neste sentido, o metabolismo da GSH é um dos mecanismos essenciais de defesa antioxidante (VALKO et al., 2007).

Danos oxidativos no DNA, nos lipídios e nas proteínas levam à formação do radical peroxil ($\text{LOO}^\bullet$), que pode ser rearranjado a endoperóxido. Este processo de peroxidação é uma reação em cadeia e pode ter como produto final o malonaldeído (MDA), altamente tóxico e comumente conhecido como um importante marcador de estresse oxidativo (EVANS et al., 2003).

Figura 3.10. Esquema ilustrando o processo de peroxidação lipídica.

FONTE: adaptado de Valko et al. (2007).

Efeitos de antioxidantes, em diversos trabalhos científicos, são medidos através de alguns biomarcadores. Estes marcadores incluem a atividade enzimática (SOD, CAT e GPx) bem como o nível dos reagentes do ácido tiobarbitúrico, como o malonaldeído (TBARS).

3.1.11 Efeito do consumo de AGPI nos marcadores inflamatórios

Os AGPI possuem grande potencial em regular o metabolismo lipídico e o processo oxidativo devido a presença das insaturações (MANCINI-FILHO, 2010). Consequentemente, podem induzir mudanças no estado inflamatório, pela modulação da expressão de importantes genes envolvidos no quadro inflamatório crônico e de baixo grau (SAMUEL; SHULMAN, 2012; WOLFRUM; SPENDER, 2000).

Por definição, a inflamação é um componente essencial da resposta imune a certa injúria provocada em um tecido. Esta resposta ocorre na tentativa de neutralizar e/ou eliminar a fonte desta injúria, restaurando a função do tecido. Uma alteração no controle da magnitude ou duração da resposta inflamatória pode causar maiores lesões no tecido e contribuir para o surgimento de enfermidades (RAPHAEL; SORDILLO, 2013).

Neste sentido, a quantidade e o tipo de AG pode regular o complexo sistema intracelular de sinalização (LOTTENBERG et al., 2012). A razão n-3/n-6 da dieta contribui para o desenvolvimento de patologias relacionadas à inflamação, uma vez que os derivados dos AGPI são capazes de iniciar e exacerbar as respostas inflamatórias (CALDER, 2009).

Porém, embora seja reconhecida a associação entre o consumo de gordura e a incidência de doenças metabólicas, a contribuição efetiva dos diferentes tipos de lipídios nas alterações metabólicas não está totalmente elucidada (KUMAR; SWATHI; KRISHNA, 2014).

Os AGPI n-6 possuem a capacidade de modular a expressão de genes inflamatórios pelo seu potencial ligante aos receptores nucleares na célula, estão relacionados à diminuição da atividade da LXR (receptores x do fígado) e dos PPAR (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma) e ao aumento da atividade do NF- κ B (fatores de transcrição nuclear kappa B) e da SREBP (proteína de ligação a elemento regulador de esterol) (MASI; RODRIGUES; CURI, 2013; AFFMAN; MULLER, 2012).

Uma das vias de regulação é pelo estresse oxidativo. Dentre estes marcadores, estão as enzimas ciclo-oxigenase (COx), lipo-oxigenase (LOx), NADPH oxidases (NOx) e óxido nítrico sintase induzida (iNOS), relacionada com a formação dos eicosanoides procedentes da cascata do AA ativada durante a inflamação (GIACCO; BROWNLEE, 2010).

Mas, ainda assim, existem fatores que reconsideram o efeito pró-inflamatório dos AGPI n-6. E um deles consiste em que a PGE₂, produto da cadeia de eicosanoides da família n-6, é capaz de inibir a produção de duas citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-1). A PGE₂ também apresenta potencial em

inibir leucotrienos inflamatórios (LTB_4) via inibição da LOX-5 e induz a produção das lipoxinas (LXA_4), responsáveis pela resolução da inflamação. Todavia, como ilustrado na Figura 4.10, o AA é responsável não somente pela expressão da PGE_2 , que possui efeito variável, mas também pela expressão de mediadores lipídicos de efeito pró-inflamatório, como leucotrienos da série 4, TXB_2 e PGF_2 (RAPHAEL; SORDILLO, 2013; CALDER, 2009). Esses achados remetem a uma ação tanto pró como anti-inflamatória do AA.

Figura 3.11. Mediadores lipídicos com ação pró-inflamatória (rosa), resolvinas (azul) e de função variável (verde). **FONTE:** Adaptado de Raphael e Sordillo (2013).

Com isso, a relação entre AGPI da dieta, inflamação e maior suscetibilidade a doenças é explicada por mudanças no conteúdo de fosfolípidios da célula na resposta inflamatória (monócitos, macrófagos e células vasculares endoteliais) (De MELLO, 2012).

Outra via exaustivamente estudada na superexpressão de citocinas pró-inflamatórias está relacionada com a expansão da massa de gordura no tecido adiposo. Por definição, o tecido adiposo é composto por adipócitos e células do estroma vascular, tais como pré-adipócitos, células endoteliais, fibroblastos e

numerosas células imunitárias. Ele é considerado um órgão multifuncional e metabolicamente ativo, secretor de hormônios, peptídeos e citocinas (adipocinas) (COPPACK, 2001).

Sua expansão pode se dar pela hipertrofia, ou seja, pelo aumento do tamanho dos adipócitos, consequência do acúmulo excessivo de gordura, e/ou pela hiperplasia, com aumento do número de adipócitos. Esta expansão (hipertrofia e/ou hiperplasia) está associada à inflamação no tecido adiposo (SIRIWARDHANA et al., 2013).

Sabe-se também que os tecidos adiposos subcutâneo e visceral são responsáveis ainda pela secreção de uma variedade de moléculas peptídicas e não peptídicas que possuem atividade biológica bem estabelecida – e que são coletivamente denominadas adipocinas. A gordura visceral destaca-se por ser mais metabolicamente ativa e mais associada à inflamação (HIRAI et al., 2010).

Assim, o aumento deste tecido está associado com alterações da produção de adipocinas, como, por exemplo, aumento da expressão do fator de necrose tumoral α (TNF- α) e das interleucinas (as principais são IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8) mediadas pela via da NF- κ B, aumento do inibidor do fator ativador de plasminogênio 1 (PAI-1) (de CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006). A TNF- α está envolvida na modulação dos efeitos da IL-6, que, por sua vez, é uma citocina pleiotrópica e possui importante papel nas reações inflamatórias, estimulando a produção de proteínas da fase aguda da inflamação nos hepatócitos (RAMALHO; GUIMARÃES, 2008).

Com exceção da adiponectina, que sua produção e secreção é inibida na inflamação. A adiponectina é um potente indutor fisiológico de sensibilidade à insulina, antilipogênico, com propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antifibrótica. Diferente da leptina, que correlaciona-se com o tamanho da massa adiposa acumulada (MUSSO et al., 2013).

3.1.12 Efeito do consumo de óleos vegetais em ratos

Os óleos vegetais são fontes ricas de ácido linoleico (AL) e α -linolênico (AAL), sendo que o AL responde por mais de 50 % da composição desses óleos (como no caso dos óleos de uva, milho, girassol, linhaça e soja). Com isso, o AGPI mais utilizado na dieta humana é o AL (CALDER; GRIMBLE, 2002).

Kawabata et al. (2013) investigaram o efeito de diferentes ácidos graxos que apresentavam 18 átomos de carbono na cadeia e verificaram que existe influência na incorporação de ácidos graxos específicos. Gaíva et al. (2001) constataram aumento no depósito de gordura nos ratos suplementados com óleo rico em C18:2 (n-6) e sua incorporação no tecido adiposo. Por outro lado, Blanchard et al. (2013) verificaram que o AL não foi capaz de alterar a atividade das enzimas FADS 2 e 1 e elevar a proporção de C18:2 no tecido hepático em ratos *Sprague-Dawley*.

O efeito do consumo de AGPI da família n-6 na concentração dos lipídios circulantes é pouco claro. Uma dieta rica em óleo de girassol manteve as concentrações plasmáticas e hepáticas de triacilgliceróis similares em ratos suplementados com este óleo quando comparados ao grupo controle (PENNACCHIOTTI; MALDONADO; AVELDANÕ, 2001).

De modo geral, pode-se afirmar que a ingestão de AGPI n-6 está relacionada ao aumento do estresse oxidativo quando não acompanhado de adequada quantidade de antioxidante presente na matriz alimentar, como, por exemplo, vitamina E (muito presente em óleos vegetais).

3.1.13 Efeito do consumo de óleo de semente de uva

O OSU é composto majoritariamente pelo ácido graxo linoleico n-6, o qual é essencial e precursor da biossíntese do AA e, já se sabe, em sua composição alguns compostos fitoquímicos, como fitosteróis e compostos antioxidantes.

No caso dos fitosteróis, inúmeras fontes na literatura apontam para sua função na redução da absorção do colesterol no intestino e, conseqüentemente, diminuição nos níveis de colesterol no plasma (WASAN et

al., 2001). Os agentes antioxidantes que podem alterar o estado de estresse oxidativo, como compostos fenólicos, flavonoides e vitamina E, possuem reconhecido potencial antioxidante.

Diante deste fato, encontram-se na literatura alguns estudos que verificaram os efeitos do OSU em animais, dentre eles destaca-se o estudo de Nash (2004), que demonstrou que a ingestão de até 45 gramas deste óleo, por dia, aumentou os níveis de HDL-colesterol em 13 % e reduziu de LDL-colesterol no nível de 7 %.

Recentemente, Choi et al. (2010) verificaram que a suplementação de OSU na ração de porcos reduziu os níveis de gordura totais de 30 % para 20 %, sendo esta observação importante para qualidade da carne e intimamente correlacionada com o metabolismo lipídico dos animais.

Kim et al. (2010) estudaram os efeitos do OSU sobre o perfil lipídico do plasma em ratos e verificaram também significativa redução no colesterol total e na LDL-colesterol.

Em recente trabalho, Asadi, Shahriari e Chahardah-Cheric (2010) relacionaram os efeitos no colesterol sérico, muscular e hepático com a ingestão do óleo de semente de uva, da canola e do milho e verificaram redução nos valores do colesterol sérico, destacando-se o efeito com o óleo de semente de uva. Não verificaram, todavia, o mesmo efeito em relação a HDL e LDL colesterol durante as 10 semanas de avaliação.

A funcionalidade dos compostos fenólicos presentes na semente de uva também foi reportada por Shi et al. (2003). Em seu trabalho de revisão, foi demonstrado que os polifenóis presentes na semente de uva são capazes de inibir tanto a oxidação da LDL como a agregação plaquetária.

Já o controle da hiperlipidemia foi verificado com os óleos de semente de uva, de semente de linhaça, colza, canola e oliva (VIJAIMOHAN et al., 2006; GORINSTEIN et al., 2003; BABA; ANTONIADES; HABBAL, 1999) e foi demonstrado que a suplementação com os óleos reduziu de forma considerável o teor dos triacilgliceróis e LDL-colesterol em ratos tratados por dietas hiperlipídicas.

3.2 Conclusão

O consumo do óleo de semente de uva ainda é pouco expressivo no Brasil e, ao longo dos anos, a produção de uva para processamento do vinho tem aumentado, gerando, cada vez mais, grande volume de resíduo. Assim, pensar em uma reutilização, através da produção de um alimento com valor agregado, é de fundamental importância. O óleo de semente de uva caracteriza-se pela alta presença de ácido linoleico em sua composição, além de compostos minoritários, como vitamina E, fitosteróis e fenólicos. Verificou-se que poucas informações existem sobre os óleos de semente de uva produzidos no país, necessitando-se de melhor caracterização deste material. Relatos na literatura sobre os benefícios do consumo de óleo de semente de uva para a saúde se fazem presentes, como redução de parâmetros bioquímicos. Porém, um estudo mais aprofundado sobre seus efeitos com o consumo crônico se faz necessário.

3.3 Referências

- AFFMAN, L. A.; MULLER, M. Human nutrigenomics of gene regulation by dietary fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 51, n. 1, p. 63-70, 2012.
- ASADI, F.; SHAHRIARI, A.; CHARHARDAH-CHERIC, M. Effect of long-term optional ingestion of canola oil, grape seed oil, corn oil and yogurt butter on serum, muscle and liver cholesterol status in rats. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 48, n.8-9, p. 2454-2457, 2010.
- BABA, N. H.; ANTONIADES, K.; HABBAL, Z. Effects of dietary canola, olive, and linolenic acid enriched olive oils on plasma lipids, lipid peroxidation, and lipoprotein lipase activity in rats. **Nutrition Research**, v. 19, n. 4, p. 601-612, 1999.
- BAIL, S.; STUEBINGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Analytical Methods: Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1122-1132, 2008.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629
- BEVERIDGE, T. H. J.; GIRARD, B.; KOPP, T.; DROVER, J. C. G. Yield and composition of grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide and Petroleum ether: Varietal effects. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1799-1804, 2005.
- BLANCHARD, H.; PÉDRONO, F.; BOULIER-MONTHÉAN, N.; CATHERINE, D.; RIOUX, V.; LEGRAND, P. Comparative effects of well-balanced diets enriched in α -linolenic or linoleic acids on LC-PUFA metabolism in rat tissue. **Prostaglandins, leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 88, n. 5, p. 383-389, 2013.
- CALDER, P. C. & GRIMBLE, R. F. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 3, p. S14-S19, 2002.

CALDER, P. C. Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, n. 1, p. 550-558, 2011.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. **Biochimie**, v. 91, n. 6, p. 791-795, 2009.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation process and inflammatory bowel diseases. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 52, n. 8, p. 885-897, 2008.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHKE, P. **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 64 p., 2010.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 1021, n. 1-2, p. 117-124, 2003.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHOI, Y. S.; CHOI, J. H.; HAN, D. J.; KIM, H. W.; LEE, J. W.; CHUNG, H. J.; KIM, C. J. Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. **Meat Science**, v. 84, n. 1, p. 212-218, 2010.

CHOUGUI, N.; TAMENDJARI, A.; HAMIDJ, W.; HALLAL, S.; BARRAS, A.; RICHARD, T.; LARBAT, R. Oil composition and characterization of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 796-803, 2013.

COPPACK, S. W. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n 3, p. 349-356, 2001.

CREWS, C.; HOUGH, P.; GODWARD, J.; BRERETON, P.; LEES, M.; GUIET, S.; WINKELMANN, W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6261-6265, 2006.

de CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 2, p. 304-312, 2006.

De MELLO, V.D.F.; KOLEHMANIEN, M.; SCHWAB, U.; PULKKINEN, L.; UUSITUPA, M. Gene expression of peripheral blood mononuclear cells as a tool in dietary intervention studies: What do we know so far? **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 56, n. 7, p. 1160–1172, 2012.

DOMMELS, Y. E. M.; ALINK, G. M.; BLADEREN, P. J.; OMMEN, B. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: results from cultured colon cells, animal models and human studies. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 12, n. 4, p. 233-244, 2002.

DULLOO, A. G.; MENSI, N.; SEYDOUX, J.; GIRARDIER, L. Differential effects of high-fat diets varying in fatty acid composition on the efficiency of lean and fat tissue deposition during weight recovery after low food intake. **Metabolism**, v. 44, n. 2, p. 273-279, 1995.

EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 74, n. p. 47-54, 2001.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa em Uva e Vinho. **Dados da vitinicultura. Banco de dados de uva, vinho e derivados**. Acesso 23 de novembro de 2013. Online. Disponível na internet: www.cnpuv.embrapa.br.

EVANS, J. L.; GOLDFINE, I. D.; MADDUX, B. A.; GRODSKY, G. M. Are Oxidative Stress Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction? **Diabetes**, v. 52, n 1, p. 1-8, 2003.

FAOSTAT – **Food and Agriculture Organization**. Rome, Italy, 2012.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOS, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161–166, 2013.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de Procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio

Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

FREITAS, L. S.; JACQUES, R. A.; RICHTER, M. F.; DA SILVA, A. L.; CARAMÃO, E. B. Short Communication: Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1200, n. 1, p. 80-83, 2008.

GAÍVA, M. H.; COUTO, R. C.; OYAMA, L. M.; COUTO, G. E.; SILVEIRA, V. L.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 86, n. 3, p. 371-377, 2001.

GAÍVA, M. H.; COUTO, R. C.; OYAMA, L. M.; COUTO, G. E. C.; SILVEIRA, V. L. F.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. **Nutrition: Basic Nutritional investigation**, v. 19, n. 2, p. 144-149, 2003.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative Stress and Diabetic complications. **Circulation Research: Journal of the American heart association**, v. 107, n. 1, p. 1058-1070, 2010.

GORINSTEIN S, LEONTOWICZ H, LEONTOWICZ M, LOJEK A, ĚÍŽ M, KRZEMINSKI R, ZACHWIEJA Z, JASTRZEBSKI Z, DELGADO-LICON E, MARTIN-BELLOSO O, TRAKHTENBERG S. Seed oil improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. **Nutrition Research**, v. 23, n. 3, p. 317-330, 2003.

GUO, L.; WANG, L. H.; SUN, B.; YANG, J. Y.; ZHAO, Y. Q.; DONG, Y. X.; SPRANGER, M. I.; WU, C. F. Direct in vivo evidence of protective effects of grape seed procyanidin fractions and other antioxidants against ethanol-induced oxidative DNA damage in mouse brain cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5881–5891, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Ed 3rd. Oxford University Press. 1999.

HARRIS, W.; ASSAAD, B.; POSTON, C. Tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio and risk for coronary artery disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 98, n. 4A, p. 19i-26i, 2006.

HIRAI, S.; TAKAHASHI, N.; GOTO, T.; LIN, S.; UEMURA, T.; YU, R.; KAWADA, T. Functional Food Targeting the Regulation of Obesity-Induced Inflammatory Responses and Pathologies. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 8, 2010.

ISO, H.; SATO, S.; UMEMURA, U.; KUDO, M.; KOIKE, K.; KITAMURA, A.; IMANO, H.; OKAMURA, T.; NAITO, Y.; SHIMAMOTO, T. Linoleic Acid, Other Fatty Acids, and the Risk of Stroke. **Stroke: Journal of the American Heart Association**, v. 33, p. 2086-2093, 2002.

KAWABATA, T.; SHIMODA, K.; DOMON, M.; HAGIWARA, C.; TAKIWAMA, M.; KAGAWA, Y. Influences of stearidonic acid-enriched soybean oil on the blood and organ biochemical parameters in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 88, n. 2, p. 179-184, 2013.

KIM, D. J.; JEON, G.; SUNG, J.; OH, S. K.; HONG, H. C.; LEE, J. Effect of grape seed oil supplementation on plasma lipid profile in rats. **Food Science Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 249-252, 2010.

KIM, Y.; CHOI, Y.; HAM, H.; JEONG, H. S.; LEE, J. Protective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seed on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in HepG2 cells. **Food Chemistry**, v. 137, n. 1-4, p. 136-141, 2013.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

KRUGER, M. C.; COETZEE, M.; HAAG, M.; WEILER, H. Long-chain polyunsaturated fatty acids: Selected mechanisms of action on bone. **Progress in Lipid Research**, v. 49, n. 4, p. 438-449, 2010.

KUMAR, G. S.; SWATHI, R.; KRISHNA, A. G. Fat-soluble nutraceuticals and their composition in heat-processed wheat germ and wheat bran. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 327-334, 2014.

LAFKA, T. I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1206-1214, 2007.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J. VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidant to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, n. 5, p. 244-282, 2007.

LAYÉ, S. Polyunsaturated fatty acids, neuroinflammation and well being. **Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 82, n. 4-6, p. 295-303, 2010.

LOTTENBERG, A. M.; AFONSO, M. S.; LAVRADOR, M. S. F.; MACHADO, R. M.; NAKANDAKARE, E. R. The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 9, p. 1027-1040, 2012.

LUQUE-RODRIGUEZ, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D.; PEREZ-JUAN, P. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. **Talanta**, v. 68, n. 1, p. 126-130, 2005.

MADAWALA, S. R. P.; KOCHHAR, S. P.; DUTTA, P. C. Lipid components and oxidative status of selected specialty oils. **Grasas y aceites**, v. 63, n. 2, p. 143-151, 2012.

MAIER, T.; SCHIEBER, A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 551-559, 2009.

MANCINI-FILHO, J. **Alimentos funcionais nas doenças cardiovasculares**. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. Alimentos funcionais – componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2010. Cap. 18, p. 297-305.

MANTENA, S. K.; BALIGA, M. S.; KATYAR, S. K. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1682-1691, 2006.

MASI, L. N.; RODRIGUES, A. C.; CURI, RUI. Fatty acids regulation of inflammatory and metabolic genes. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 16, n. 4, p. 418-424, 2013.

MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia,

atherosclerosis, and cancer. **Obesity Research and Clinical Practice**, v. 7, n. 5, p. e330-e341, 2013.

MELLO, L. M. R. **Atuação do Brasil no mercado vitinícola mundial – panorama 2010**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 03 p., 2011.

MELO, I. L. P. ; SILVA, A. M. O. E. ; MANCINI-FILHO, J. . **Lipídeos**. In: Silvia M.F. Cozzolino; Cristiane Cominetti. (Org.). Bases Bioquímicas e Fisiológicas da Nutrição. 1 ed. Barueri: Manole, v. 1, p. 75-107, 2013.

MUSSO, G.; PASCHETTA, E.; GAMBINO, R.; CASSADER, M.; MOLINARO, F. Interactions among bone, liver, and adipose tissue predisposing to diabetes and fatty liver. *Trends in Molecular Medicine*, v. 19, n. 9, p. 522-535, 2013.

MUHLHAUSLER , B. S.; COOK JOHSON, R.; JAMES, M.; MILJKOVIC, D.; DUTHOIT, E.; GIBSON, R. Opposing Effects of Omega-3 and Omega-6 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids on the Expression of Lipogenic Genes in Omental and Retroperitoneal Adipose Depots in the Rat. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2010, n. 1, p. 1-9, 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, 2003.

NASH, D.T. Cardiovascular riskbeyond LDL-C levels.Otherlipidsareperformers in cholesterolstory. **Postgraduate Medicine**, v. 116, n.3, p. 11–15, 2004.

NAVAS, P. B. Chemical composition of the virgin oil obtained by mechanical pressing form several grape seed varieties (*Vitis vinífera* L.) with emphasis on minor constituents. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**., v. 59, n. 2, p. 214-219, 2009.

PARDO, J. E.; FERNÁNDEZ, E.; RUBIO, M.; ALVARRUIZ, A.; ALONSO, G. L. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). **Europe Journal of Lipid Science Technology**, v. 111, n. 2, p. 188-193, 2009.

PARRY, J.; HAO, Z.; LUTHER, M.; SU, L.; ZHOU, K.; YU, L. Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. **JAACS**, v. 83, n. 10, p. 847-

854, 2006.

PARRY, J.; SU, L.; LUTHER, M.; ZHOU, K.; YURAWECZ, M. P.; WHITTAKER, P. YU, L. Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 566-573, 2005.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health implications of High dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, p. 1-16, 2012.

PENNACCHIOTTI, G. L.; MALDONADO, E. N.; AVELDANÕ, M. I. Major clofibrate effects on liver and plasma lipids are independent of changes in polyunsaturated fatty acid composition induced by dietary fat. **Lipids**, v. 36, n. 2, p. 121-127, 2001.

PERALBO-MOLINA, A.; LUQUE de CASTRO, M. D. Potential of residues from the Mediterranean agriculture and agrifood industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 16-24, 2013.

PINELO, M.; DEL FABBRO, P.; MANZOCCO, L.; NUNEZ, M. J.; NICOLI, M. C. Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera byproducts. **Food Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 109-117, 2005.

PUIGGRÒS, F., LLÓPIZ, N., ARDÉVOL, A., BLADÉ, C., AROLA, L., & SALVADÓ, M. J. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6080–6086, 2005.

RAMALHO, R.; GUIMARÃES, C. Papel do tecido adiposo e dos macrófagos no estado de inflamação crônica associada à obesidade. **Implicações clínicas**, v. 21, p. 489-496, 2008.

RAPHAEL, W.; SORDILLO, L. M. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammation: the role of phospholipid biosynthesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 21167-21188, 2013.

RAPOSO, H. F. Efeito dos ácidos graxos n-3 e n-6 na expressão de genes no metabolismo de lipídeos e risco de aterosclerose. **Revista Nutrição**, v. 23, n.

5, p. 871-879, 2010.

REUTER, S.; GUPTA, S. C.; CHATURVEDI, M. M.; AGGARWAL, B. B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603-1616, 2010.

REVILLA, E.; ALONSO, E.; KOVAC, V. **The Content of Catechins and Procyanidins in Grape and Wines as Affected by Agroecological Factors and Technological Practices**. Inn: Wine: nutritional and therapeutic benefits. Washington DC: Watkins, T. R., 1997, p. 69-80.

RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and inflammation. **Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology**, v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Fatty acid composition of grape (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) seed oil. **Brazilian Journal of Food Technology**, III SSA, p. 23-26, 2010.

RUBIO, M.; ALVAREZ-ORTÍ, M.; ALVARRUIZ, A.; FERNANDÉZ, E.; PARDO, J. E. Characterization of oil obtained from grape seeds collected during Berry development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2812-2815, 2009.

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. Mechanisms for insulin resistance: common theards and missing links. **Cell**, v. 148, n. 5, p. 852-871, 2012.

SAYRE, L. M.; SMITH, M. A.; PERRY, G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease, **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 7, p. 721-738, 2001.

SCHIEBER, A.; MULLER, D.; ROHRIG, G.; CARLE, R. Influence of grape cultivar and processing method on the quality of cold-pressed grape seed oils. **Mitteilungen Klosterneuburg**, v. 52, n. 1, p. 29–33, 2002.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments. **Trends Food Science Technology**, v.12, n. 11, p. 401-413, 2001.

SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J. E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in Grape seeds –

Biochemistry and Functionality. **Journal of Medical Food**, v. 6, n. 4, p. 291-299, 2004.

SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J. E.; KAKUDA, Y. Review: Polyphenolics in Grape Seeds – Biochemistry and Functionality. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n. 4, p. 291-299, 2003.

SIMOPOULOS, A. P. Importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids: evolutionary aspects. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 92, p. 1-22, 2003.

SIRIWARDHANA, N.; KALUPAHANAB, M. C.; LEMIEUXA, M.; GREERD, B.; MOUSTAID-MOUSSAA, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 613–623, 2013.

TANGOLAR, S. G.; ÖZOGUL, Y.; TANGOLAR, S.; TORUN, A. Evaluation of Fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 32-39, 2009.

TERRA, X., VALLS, J., VITRAC, X., MÉRRILLON, J. M., ARDÈVOL, L., AROLA, A., BLADÉ, C., FERNANDEZ-LARREA, J., PUJADAS, G., SALVADÓ, J., & BLAY, M. Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4357–4365, 2007.

UCHIDA, S.; OHTA, H.; EDAMATSU, R.; HIRAMATSU, M.; MORI, A.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I.; NIWA, M.; AKASHI, T.; OZAKI, M. Active oxygen free radicals are scavenged by condensed tannins. **Progress in Clinical Biological Research**, v. 280, p. 135-138, 1988.

UMESHA, S. S.; NAIDU, A. Vegetable oil blends with α -linolenic acid rich Garden cress oil modulated lipid metabolism in experimental rats. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2845-2851, 2012.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological

function and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, n. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

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

VAZ, J. S.; DEBONI, F.; AZEVEDO, M. J.; GROSS, J. L.; ZELMANOVITZ, T. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 489-500, 2006.

VIJAIMOHAN, K.; JAINU, M.; SABITHA, K. E.; SUBRAMANIAM, S.; ANANDHAN, C.; SHYAMALA DEVI, C. S. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. **Life Science**, v. 79, n. 5, p. 448-454, 2006.

VINSON, J. A.; MANDARANO, M. A.; SHUTA, D. L.; BAGCHI, M.; BAGCHI, D. Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a niacin-bound chromium in a hamster atherosclerosis model. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 240, n. 1-2, p. 99-103, 2002.

WANG, Y. J.; THOMAS, P.; ZHONG, J. H.; BI, F. F.; KOSARAJU, S.; POLLARD, A.; FENECH, M. Consumption of Grape Seed Extract Prevents Amyloid- β Deposition and Attenuates Inflammation in Brain of an Alzheimer's Disease Mouse. **Neurotoxicity Research**, v. 15, n. 1, p. 3-14, 2009.

WILLIAMS, C.; BUTTRISS, J. **Health benefits of polyunsaturated fatty acids (PUFAs). Improving the fat content of foods**. Boca Raton: CRC Press, 2006, p.107-140.

Capítulo 2

4. Avaliação da composição química de óleos de semente de uva comercializados no mercado brasileiro

Resumo

A busca por novas matrizes oleaginosas para utilização na dieta humana é notória e tem crescido em todo o mundo. Nesse contexto, o óleo extraído da semente de uva ganha destaque, principalmente devido a semente ser fonte potencial de compostos benéficos à saúde e ser oriunda do resíduo agroindustrial gerado pela indústria de vinhos. Seguindo tendência mundial de busca de novos óleos extraídos de sementes de frutas com propriedades funcionais, somando-se ao aproveitamento dos resíduos industriais, visando a preservação do meio ambiente, torna-se importante o estudo mais aprofundado das características desses óleos. O conhecimento sobre as características dos óleos de semente de uva (OSU) comerciais brasileiro é escasso; assim, o presente estudo teve como objetivo analisar as características químicas, além de avaliar qualidade, estabilidade oxidativa e atividade antioxidante destes óleos. Diante dos resultados obtidos, os OSU prensados a frio produzidos no Brasil se mostraram fora dos padrões preconizados pela legislação internacional para os índices de qualidade, com exceção do óleo UVB. Os OSU possuem perfil de ácidos graxos, fitosteróis e de vitamina E compatíveis com OSU comercializados em outros países, apresentando outros compostos minoritários que se correlacionaram com parâmetros de qualidade e de cor (componentes CieLab). Os óleos apresentaram boa atividade antioxidante e estabilidade oxidativa, tendo as amostras prensadas a frio valores superiores às refinadas, no que se refere a esses dois parâmetros. De acordo com os resultados observados, pode-se inferir que os OSU produzidos no Brasil possuem considerável teor de compostos fitoquímicos com atividade biológica, o que possibilita a sua associação com outros óleos vegetais. No entanto, é necessária uma padronização metodológica no processo de obtenção destes óleos para adequação dos níveis de qualidade internacional.

Palavras-chave: óleo de semente de uva, ácidos graxos, compostos minoritários.

4.1 Introdução

Com o aumento na produção de uvas (*Vitis vinifera* L.), a indústria vinícola gera cada vez mais resíduo de biomassa (KOBORI; JORGE, 2005). Considerando que a produção da uva, em todo o mundo, ultrapassa 68 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2012) e que, de acordo com dados do IBGE, em 2012, o Brasil produziu aproximadamente 1,5 milhões de toneladas de uvas, as sementes geradas dessa produção são, muitas vezes, referidas com um significativo subproduto agrícola e industrial (MELO, 2013) que, do ponto de vista ambiental, pode ser utilizado para uma finalidade benéfica ao ser humano e ao meio ambiente – o que resolveria, pelo menos em parte, os problemas de armazenagem e eliminação da biomassa das vinícolas (KIM et al., 2013).

O conteúdo lipídico da semente de uva gira em torno de 7 a 20 % (BEVERIDGE et al., 2005; LUQUE-RODRIGEZ et al., 2005; CAO; ITO, 2003). Além disso, possui 35 % de fibras, 11 % proteínas, 3 % de minerais e 7 % de água (LUQUE-RODRÍGUEZ et al., 2005; SCHIEBER; STINTZING; CARLE, 2001). A importância em reutilizar a semente da uva deve-se, principalmente, ao fato de seu conteúdo ser rico em lipídios e também em compostos bioativos, como vitamina E, fitosteróis e fenólicos, dentre outros com atividade biológica, que são de importância para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos (KIM et al., 2013; ROCKENBACH et al., 2010; NAKAMURA; TSUJI; TONOGAI, 2003).

Com relação à composição em ácidos graxos (AG), o óleo de semente de uva possui elevado teor de ácidos graxos insaturados – em torno de 85 a 90 %. Destes, o principal componente é o ácido linoleico (AL) (C18:2) (em torno de 70 %), que não pode ser sintetizado pelo organismo humano e animal e, desta forma, deve ser obtido pela dieta, uma vez que é essencial à vida. Além disso, o AL está relacionado à regulação do LDL-colesterol no sangue (FERNANDES et al., 2012); quando incorporado à membrana celular, entra na cadeia dos eicosanoides, precursores de ácidos graxos de cadeia longa, os quais interferem em inúmeros processos fisiológicos (inflamatórios e imunológicos) (UMESHA; NAIDU, 2012); além da correta função de proteínas de membrana e

influência na fluidez; regulação do processo de sinalização, função celular e expressão gênica (DANNENBERGER et al., 2013).

Os compostos presentes na fração insaponificável, geralmente em pequenas quantidades, são importantes do ponto de vista da qualidade nutricional e fisiológica, bem como da estabilidade dos óleos vegetais (CHAIYASIT et al., 2007; CALLIGARIS; NICOLI, 2006; BIANCHINI-PONTUSCHKA; PENTEADO, 2003).

Uma das ferramentas que se utiliza para análise da estabilidade do óleo é o índice de peróxido (IP), que avalia a formação dos hidroperóxidos: produtos primários da oxidação. Esta formação apresenta comportamento gaussiano, ou seja, a concentração baixa de hidroperóxidos não representa necessariamente boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, indicar alterações profundas devido a formação de produtos intermediários da oxidação (aldeídos, cetonas) (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002).

Na literatura, são escassos os estudos que avaliam os componentes fitoquímicos presentes na fração insaponificável do óleo de semente de uva. Porém, compostos interessantes e com importantes funções biológicas têm sido encontrados. Óleos vegetais, em geral, são comumente obtidos por extração química utilizando-se solvente, com posterior etapa de refino, ou por processo de extração utilizando a prensagem a frio, realizada apenas de forma mecânica. A vantagem da última técnica consiste em permitir a conservação de quantidade significativa desses biocompostos na fração insaponificável (FREITAS, 2007).

É postulado que o óleo de semente de uva (OSU) é um dos importantes óleos vegetais com relativa quantidade de tocoferóis e tocotrienóis; contudo, o potencial antioxidante do OSU está diretamente relacionado à elevada concentração do isômero γ -tocotrienol da vitamina E (FERNANDES et al., 2013; MADAWALA, KOCHHAR e DUTTA, 2012; FREITAS et al., 2008; CREWS et al., 2006). Dentre outros compostos minoritários presentes no OSU, destacam-se os fitosteróis (RUBIO et al., 2009; PARDO et al., 2009; NAVAS, 2009; MATHAUS, 2008; CREWS et al., 2006) e os compostos fenólicos (MAIER et al., 2009; SHI et al., 2004; REVILLA et al., 1997).

Os relatos sobre a atividade biológica dos isômeros dos tocotrienóis têm recebido grande atenção nos últimos tempos, como mostram os trabalhos de Choi e Lee (2009), que avaliaram o efeito antioxidante de fração rica em tocotrienóis das sementes de uva, e de Kim et al. (2008), que também relataram elevado potencial biológico, principalmente do γ -T3. Em recente trabalho de revisão, Kaileh e Sen (2010) demonstraram efeito anti-inflamatório deste isômero na via de sinalização do NF-kB, confirmando a funcionalidade deste composto.

Motivado pela pouca informação sobre dados químicos dos óleos de semente de uva obtidos industrialmente pelo mundo e, principalmente, pela inexistência no Brasil de relato sobre as características desses óleos, o presente trabalho objetivou estudar o óleo de semente de uva brasileiro, a fim de conhecer suas características e, conseqüentemente, seu potencial para a saúde humana.

4.2 Objetivos

4.2.1 Objetivo Geral

Caracterizar os óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

4.2.2 Objetivos Específicos

- Analisar os índices de qualidade de óleos de semente de uva disponíveis do mercado brasileiro.
- Quantificar os teores de fenólicos, carotenoides e clorofilas totais e os parâmetros de cor presentes nos óleos de semente de uva disponíveis do mercado brasileiro.
- Caracterizar o perfil de ácidos graxos, vitamina E, fitosteróis e de voláteis dos óleos de semente de uva.
- Verificar a estabilidade oxidativa e a atividade antioxidante dos óleos de semente de uva brasileiros.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Material

Óleos de semente de uva refinados e prensados a frio foram adquiridos comercialmente no mercado nacional entre os meses de julho de 2012 e agosto de 2013. Sete amostras de diferentes marcas foram selecionadas aleatoriamente (Figura 4.1). Todas as amostras encontravam-se dentro do prazo de validade.

Figura 4.1 Óleos de semente de uva prensadas a frio (1: UVB, 2: URS, 3: OOV e 6: CAM) e refinados (4: CAC, 5: MDO, 7: BER) adquiridos do mercado brasileiro.

As amostras de óleos de semente de uva foram produzidas no Brasil e possuíam procedências distintas: UVB (Antônio Prado, RS), URS (Bento Gonçalves, RS), OOV (Guaribalde, RS), CAC (Estância Velha, RS), MDO (Brasília, DF), BER (São Paulo, SP), CAM (São Bernardo do Campo, SP). Foram transportadas até o Laboratório de Lípidos-FCF/USP e fracionadas em frascos de vidro âmbar, adicionadas de gás nitrogênio no *headspace* e mantidas a -20 °C até a realização das análises.

Figura 4.2 Esquema das análises de caracterização dos óleos de semente de uva realizadas no presente estudo.

4.3.2 Métodos analíticos

4.3.2.1 Parâmetros de qualidade

A qualidade dos óleos de semente de uva foi avaliada através do índice de acidez, pelo método Ca 5a – 40, que se baseia na titulação de hidróxido de potássio (KOH) necessário para neutralizar os ácidos graxos livres contidos no óleo. Os resultados foram expressos em miligramas de KOH por grama de óleo (mg KOH/g). Para o índice de peróxido, foi utilizado o método Cd 8b – 90, baseado na redução do hidroperóxido a iodeto de potássio. O resultado foi expresso em miliequivalente de oxigênio ativo por quilograma de óleo (mEq O₂/Kg). Já a determinação do índice de p-anisidina (Ip-A) foi realizada segundo método Cd 18 – 90, que fundamenta-se na reação dos produtos secundários da degradação de lipídios, sobretudo compostos aldeídicos, e posterior leitura em espectrofotômetro a 350 nm (Spectronic® 20, Genesys™, Rochester, EUA). O valor de p-anisidina é definido como a absorbância detectada em solução de um grama de óleo em solução de ácido acético (AOCS, 2004).

4.3.2.2 Perfil de ácidos graxos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada inicialmente submetendo-se 100 mg de cada amostra à esterificação em BF₃ 14 %, segundo método Ce 2-66 (AOCS, 2004), e, em seguida, sendo feita a injeção em cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo Plus GC 2012, Quioto, Japão), método Ce 1-62 (AOCS, 2004). As condições cromatográficas para análise foram: coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polisiloxana) de 100 m e 0,25 mm; programação de temperatura da coluna: isotérmico a 140 °C por 5 min e então aquecimento a 4 °C/min até 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 20 min; temperatura do vaporizador: 250 °C; temperatura de detector: 260 °C; gás de arraste hélio com vazão de 1 mL/min e razão de divisão da amostra a 1/100.

A identificação dos diferentes ácidos graxos foi realizada por comparação entre os tempos de retenção das amostras e dos padrões de referência da mistura de 37 metil ésteres de ácidos graxos, C4:0-C24:0 (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA). Os resultados foram expressos em grama por 100 gramas (g/100

g) da área de cada pico dos ácidos graxos identificados.

4.3.2.3 Composição de fitosteróis

A quantificação de fitosteróis foi determinada segundo Duchateau et al. (2002) com algumas modificações. O método foi realizado submetendo-se 150 mg de amostra à saponificação e adicionado-se padrão interno 5- α -colestano (1 mg/mL) em hexano. Para tal, 5 mL de KOH 3 % metanólico foram adicionados e mantidos por 3 horas a 50 ± 2 °C em banho termostático com agitação horizontal. Após a mistura com água destilada, a fração insaponificável foi extraída utilizando-se 5 mL de hexano. A fase orgânica foi coletada, transferida para um tubo teste e o processo de extração foi repetido 3 vezes. O extrato recolhido foi seco em fluxo de nitrogênio, até total evaporação do solvente, e ressuspendido em 150 μ L de hexano antes da injeção no cromatógrafo gasoso (CG) com detector de ionização de chama e coluna de polimetilfenilsiloxana (5 % fenila, 60 cm e 0,25 mm de diâmetro interno / DB-5). As condições cromatográficas para análise foram: temperatura da coluna de 290 °C; temperatura do detector de 300 °C; gás de arraste utilizado hélio (1 mL/min) e razão de divisão da amostra 1/50.

Os esteróis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões sintéticos estigmasterol (S 6126), β -sitosterol (S 9889) e campesterol (C 5157) (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA). Os resultados foram expressos em miligramas por 100 gramas de óleo (mg/100 g).

4.3.2.4 Quantificação dos isômeros de tocoferóis e do γ -tocotrienol

A determinação dos isômeros de tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) e do γ -tocotrienol foi realizada segundo metodologia Ce 8 – 86 (AOCS, 2004), por cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, modelo CBM-20^a, Quioto, Japão). As mostras de óleo foram diluídas em hexano PA (0,1 g/mL), filtradas em filtro de membrana PTFE de 0,22 μ m e depois injetadas no cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) equipado com detector de fluorescência (RF-10AXL), programado para 295 nm de excitação e 330 nm de emissão. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna de sílica (Shim-pack CLC-Sil (M) 25 cm); fase móvel previamente filtrada e degaseificada, composta de

hexano/álcool isopropílico (99:1, v/v); sistema operado isocraticamente com fluxo de 1,0 mL/min.

A identificação dos tocoferóis e do isômero γ -tocotrienol foi conduzida pela comparação dos tempos de retenção de cada padrão sintético dos isômeros (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA) submetidos às mesmas condições operacionais. A quantificação foi baseada no método de padronização externa obtida pela curva de calibração de cada isômero: α -tocoferol (0,01 a 0,50 $\mu\text{g/mL}$; $R^2 = 0,993$), γ -tocoferol (0,06 a 9,00 $\mu\text{g/mL}$; $R^2 = 0,9954$) e γ -tocotrienol (0,07 a 1,11 $\mu\text{g/mL}$; $R^2 = 0,993$). O resultado foi expresso em miligrama de equivalente do isômero por 100 gramas de amostra (mg/100 g) e a atividade de vitamina E foi calculada por equivalente de tocoferóis (atividade de vitamina E = $C_{\alpha-T} \times 1,0 + C_{\beta-T} \times 0,5 + C_{\gamma-T} \times 0,25 + C_{\delta-T} \times 1,0$), como descrito por Hussain et al. (2012).

4.3.2.5 Determinação dos carotenoides totais

O total de carotenoides foi determinado segundo Ranjith et al. (2006), com modificações. Foi dissolvido 1 mL de cada OSU em hexano PA (0,1 mg/mL), adicionado uma solução NaCl 0,5 % e, em seguida, centrifugado por 10 minutos a 1.500 g. Foram coletados 250 μL do sobrenadante, o qual foi diluído para ser feita a leitura a 460 nm (BIOTEK[®], modelo Synergy HT, Vermont, EUA). A quantificação foi baseada na curva de calibração do β -caroteno (0,39 - 50 $\mu\text{g/mL}$; $R^2 = 0,998$) e a quantidade de carotenoides totais foi expressa em mg de equivalente de β -caroteno por 100 gramas de amostra (mg EBC/100 g).

4.3.2.6 Quantificação de clorofilas totais

A determinação de clorofilas totais foi realizada por método colorimétrico, segundo Minguez-Mosquera et al. (1991). O método se baseia na diluição de 1,5 g de amostra em 5 mL de cicloexano PA, seguida de leitura em aparelho espectrofotométrico a 670 nm. A quantificação foi realizada pela equação Clorofila Total = $(\text{Absorbância} \times 10^6) / (613 \times 10^2 \times \text{densidade óleo})$ e os resultados foram expressos em miligramas de clorofila por quilograma de óleo (mg/Kg).

4.3.2.7 Análise de compostos voláteis

Os compostos voláteis foram determinados por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (SPME-CG-MS), obtendo a microextração de fase sólida dos compostos presentes no *headspace* de cada amostra. *Vials* contendo 1 grama de cada óleo foram hermeticamente fechados durante 24 h, para conferir suficiente quantidade de analito, à temperatura ambiente (25 °C). A extração isotérmica foi realizada utilizando-se uma coluna de fibra pré-condicionada (Supelco, modelo 57330-U, Melbourne, Austrália) com uma fibra 50/30 lm DVB/Carboxen/PDMS Stable-Flex. Para separação dos compostos voláteis, foi utilizada uma coluna apolar (Supelcowax 10, modelo 24070) de 30 m x 0,25 mm, com espessura de película de 0,25 µm em cromatógrafo gasoso (Hewlett-Packard, modelo HP-6890, Califórnia, EUA), equipado com massa de detector seletivo (Hewlett-Packard, modelo HP-5973, Califórnia, EUA).

As condições cromatográficas foram: temperatura inicial de 40 °C durante 1 min, com aumento à taxa de 2 °C/min até 160 °C; em seguida, a temperatura foi aumentada para 200 °C; após 4 min no modo *splitless*, a taxa de divisão foi definida a 1:40 para expurgar o sistema MS-GC; fluxo de hélio (1 mL/min). Os espectros de massa foram registrados com intervalo de varrimento de 10 a 300 amu. A identificação de compostos voláteis foi efetuada usando Wiley 275, NBS 75 K e espectros de massa em bibliotecas e em parte por co-injecção de compostos de referência.

4.3.2.8 Análise instrumental de cor

Os parâmetros de cor foram avaliados por reflectância no espaço de cor CIELab, utilizando colorímetro ColorQuest XE (Hunter Assoc. Laboratory, Reston, EUA), campo de visão 10°, tipo de iluminante D65 e diâmetro da fenda de 1 mm. Os parâmetros avaliados foram a luminosidade (L^*), com valor máximo de 100, que representa perfeita reflexão difusa, enquanto que o valor mínimo (zero) constitui o preto. A tonalidade da amostra não apresenta limite numérico específico, porém toma-se como referência o valor de 60 unidades de cor, com variação da intensidade de verde/vermelho (a^*) e variação da intensidade de azul/amarelo (b^*).

4.3.2.9 Índice de estabilidade oxidativa

O índice de estabilidade oxidativa dos óleos foi determinado utilizando-se o analisador Rancimat[®] modelo 743 (Metrohm Ltd., Herisau, Suíça), segundo método Cd 12b – 92 (AOCS, 2004). O período de indução (PI) da autoxidação das amostras foi determinado em horas, quando estas foram submetidas à temperatura de 120 °C e a fluxo de oxigênio de 20 L/h.

4.3.2.10 Quantificação de fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais foi realizada com extrato obtido segundo Bail et al. (2008). A quantificação foi baseada no método colorimétrico descrito por Swain e Hills (1959), utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu, adaptado para microplacas de 96 poços (Fischer Scientific, Hanover Park, IL). A leitura foi realizada a 720 nm em leitor de placas Multi-Detection microplate reader Synergy (BIOTEK[®], modelo Synergy HT, Vermont, EUA). Para a quantificação, foi utilizada curva-padrão com ácido gálico (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA) nas concentrações de 0,50 a 5,00 µg/mL. O teor de compostos fenólicos totais nos óleos foi expresso como mg de equivalente de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG/100 g).

4.3.2.11 Atividade antioxidante por TEAC

Um dos métodos utilizados para avaliar a atividade antioxidante foi baseado na captura do radical ABTS (2,2' azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico). Para o preparo do radical ABTS, foi adicionado persulfato de potássio 2.45 mM à solução estoque do radical ABTS 7 mM. Essa solução foi mantida em *overnight* e, em seguida, foi adicionado álcool etílico até se obter a absorbância de $0,700 \pm 0,05$ a 734 nm, segundo Re et al. (1999).

O extrato utilizado nessa determinação foi preparado segundo Bail et al. (2008) e, em seguida, foi preparada uma diluição sequencial para obtenção de uma curva (1–100 mg/mL). A determinação da atividade antioxidante foi adaptada para microplata de 96 poços, em que foram adicionados 200 µL da solução de ABTS em 20 µL de cada concentração do extrato. A leitura ocorreu após exatamente 6 minutos no leitor de placa (BIOTEK[®], modelo Synergy HT, Vermont, EUA), a 734nm.

O resultado foi calculado através da equação do padrão Trolox[®] (0,1 – 2,0 mM; $R^2 = 0,9999$) e da equação das diluições das amostras e foi expresso em micromolar equivalente de Trolox[®] por 100 gramas de amostra ($\mu\text{M ET}/100\text{ g}$).

4.3.2.12 Atividade antioxidante por ORAC

Este método consiste na reação da solução de AAPH (2,2'- azobis (amidinopropane) dihydrochloride), um gerador de radical livre, com a fluoresceína adicionada à amostra. Foram realizados tanto o método lipofílico quanto o método hidrofílico (Prior et al., 2003) em placa de 96 poços. No método lipofílico, a amostra foi diluída em solução de acetona:água na proporção 1:1 com β -ciclodextrina a 7 %. No hidrofílico, foi utilizado o extrato metanólico, segundo Bail et al. (2008), sendo o mesmo diluído em etanol.

Em ambas as técnicas, foi adicionado o reagente fluoresceína (40 ηM) nas amostras e, a seguir, a placa foi incubada a 37 °C durante 30 minutos. Após este período, foi também adicionado o AAPH (135 mM), submetido à agitação por 10 segundos. A seguir, a fluorescência foi medida em leitor de placas (BIOTEK[®], modelo Synergy HT, Vermont, EUA), com excitação de 493nm (filtro 485/20) e emissão em 515 nm (filtro 528/20). As leituras foram realizadas a cada minuto, durante 1 hora.

Quanto menor a intensidade da fluoresceína, maior é a capacidade antioxidante do composto. O resultado foi calculado através da equação de regressão entre a concentração do padrão Trolox[®] (6.25 - 50.0 μM ; $R^2 = 0,9994$) e a área sob a curva de decaimento da fluorescência (AUC), sendo expresso em micromolar equivalente de Trolox[®] por 100 gramas de amostra ($\mu\text{M ET}/100\text{ g}$).

4.3.2.13 Análise dos dados

Os resultados das análises foram inicialmente submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade das variâncias. Os dados não-normais ($p < 0,05$) foram submetidos ao teste Box-Cox para transformação (BOX e COX, 1964). Em seguida, todos os dados, já normalizados, foram submetidos ao teste ANOVA univariada, seguido do teste paramétrico de Tukey. Os dados

que não foram possíveis normalizar, foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste não-paramétrico de Dunns; os dois testes a 5 % de significância. Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos pelo valor médio $\pm$ desvio-padrão (DP), adotando-se o coeficiente de variação de 10 %. A variância dos dados normalizados foi explicada, submetendo-os à análise multivariada PCA (*Principal Component Analysis*) e à análise de correlação pelo teste de Pearson. O programa Statistica (Statsoft, versão 11, Tulsa, Oklahoma, EUA) foi utilizado para análise multivariada e o SPSS (Statsoft, versão 22, Tulsa, Oklahoma, EUA) para todas as outras análises estatísticas.

4.4 Resultados

4.4.1 Parâmetros de qualidade

Na Tabela 4.1, encontram-se os resultados para o índices de acidez, de peróxido e *p*-anisidina dos óleos de semente de uva analisados.

Tabela 4.1 Parâmetros de qualidade de óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Óleos	Índice de Acidez (mg KOH/g)	Índice de Peróxido (mEq O ₂ /Kg)	Ip-A
Prensados a frio			
UVB	2,65 ± 0,20 ^d	3,96 ± 0,71 ^f	3,29 ± 0,03 ^f
URS	4,59 ± 0,16 ^c	19,81 ± 0,72 ^c	5,77 ± 0,30 ^e
OOV	5,82 ± 0,04 ^b	11,06 ± 0,93 ^e	6,40 ± 0,10 ^d
CAC	6,41 ± 0,01 ^a	32,80 ± 0,16 ^a	8,36 ± 0,07 ^c
Valores máximos de referência*	4,00	15,00	-
Refinados			
MDO	0,28 ± 0,00 ^e	15,60 ± 0,33 ^d	11,40 ± 0,07 ^b
BER	0,31 ± 0,00 ^e	22,82 ± 0,58 ^b	16,35 ± 0,06 ^a
CAM	0,28 ± 0,00 ^e	4,50 ± 0,83 ^f	11,28 ± 0,03 ^b
Valores máximos de referência*	0,60	10,00	-

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes na mesma coluna representam resultados diferentes estatisticamente, de acordo com o teste de Tukey (p<0,05). *Codex Alimentarius (1999). Ip-A: índice de *p*-anisidina.

As amostras refinadas apresentaram valores estatisticamente baixos para o índice de acidez (faixa de 0,28 a 0,31 mg KOH/g), enquanto que, nas amostras prensadas a frio, foram observados valores elevados (faixa de 2,65 a 6,41 mg KOH/g), tendo a amostra UVB apresentado o menor valor para o índice. O índice de peróxido foi estatisticamente menor para as amostras UVB e CAM, com valores de 3,96 e 4,50 mEq O₂/Kg, respectivamente. Já para os resultados do índice de *p*-anisidina, as amostras refinadas apresentaram valores estatisticamente maiores do que as amostras submetidas ao processo de prensagem a frio (Tabela 4.1).

4.4.2 Perfil de ácidos graxos

Na Tabela 4.2, pode ser encontrada a composição de ácidos graxos das diferentes marcas de OSU brasileiros.

Tabela 4.2 Perfil de ácidos graxos (g/100 g) presentes nos óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Ácidos Graxos (g/100g)	Prensado a frio				Refinado		
	UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
C16:0	6,26 ± 0,07 ^d	6,52 ± 0,09 ^c	6,61 ± 0,02 ^{bc}	6,70 ± 0,01 ^b	5,86 ± 0,01 ^e	6,55 ± 0,01 ^c	7,06 ± 0,01 ^a
C18:0	3,42 ± 0,08 ^c	3,36 ± 0,05 ^c	3,22 ± 0,23 ^c	3,53 ± 0,04 ^c	3,47 ± 0,04 ^c	3,86 ± 0,04 ^b	4,22 ± 0,13 ^a
C18:1 c (n-9)*	15,83 ± 0,07 ^{ab}	17,20 ± 0,05 ^{ab}	14,80 ± 0,07 ^b	15,31 ± 0,05 ^{ab}	30,52 ± 0,05 ^a	16,64 ± 0,01 ^{ab}	20,32 ± 0,07 ^{ab}
C18:2 c (n-6)*	74,15 ± 0,20 ^{ab}	72,19 ± 0,06 ^{ab}	75,02 ± 0,31 ^a	74,12 ± 0,11 ^{ab}	59,05 ± 0,08 ^b	72,64 ± 0,04 ^{ab}	68,42 ± 0,16 ^{ab}
C18:3 (n-3)	0,21 ± 0,01 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,36 ± 0,03 ^b	0,34 ± 0,01 ^b	0,46 ± 0,00 ^a	0,31 ± 0,00 ^b	n.d.
C20:3 (n-6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,65 ± 0,00	n.d.	n.d.
Totais (g/100 g)							
Saturados	9,72 ± 0,14 ^d	9,99 ± 0,04 ^{cd}	9,83 ± 0,22 ^d	10,22 ± 0,05 ^{bc}	9,33 ± 0,04 ^d	10,40 ± 0,04 ^b	11,28 ± 0,12 ^a
Monoinsaturados	15,92 ± 0,07 ^{ab}	17,34 ± 0,05 ^{ab}	14,80 ± 0,07 ^b	15,31 ± 0,05 ^{ab}	30,52 ± 0,05 ^a	16,64 ± 0,01 ^{ab}	20,32 ± 0,07 ^{ab}
Poli-insaturados	74,36 ± 0,20 ^{ab}	72,67 ± 0,05 ^{ab}	75,38 ± 0,29 ^a	74,47 ± 0,11 ^{ab}	60,16 ± 0,10 ^b	72,95 ± 0,04 ^{ab}	68,42 ± 0,16 ^{ab}

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). Médias com diferentes letras na mesma linha são estatisticamente diferentes entre si a 5 % de significância pelo teste de Tukey. *Não-paramétricos dados foram obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis. n.d.: não detectável.

Com relação ao perfil de ácidos graxos dos diferentes óleos de semente de uva, nota-se que todos os óleos, sem exceção, apresentaram maiores concentrações do AG poli-insaturado linoleico (C18:2, n-6), com faixa de concentração de 59,05 a 75,02 g/100 g, seguido do monoinsaturado oleico

(C18:1, n-9), com variação de 14,80 a 30,52 g/100 g, além do saturado palmítico (C16:0) (5,86 a 7,06 g/100 g).

4.4.3 Análise de cor

Em geral, as amostras apresentaram baixa luminosidade (L^*), ou seja, pouca representatibilidade da turbidez. Os valores de L^* variaram de 4,58 a 16,23 e a amostra UVB foi considerada a mais turva ($p < 0,001$), enquanto a amostra URS destacou-se como a mais límpida (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 Valores médios de coordenadas CieLab de óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Amostras	Parâmetros		
	L^*	a^*	b^*
Prensado a frio			
UVB	$16,23 \pm 0,89^a$	$-0,28 \pm 0,05^c$	$10,24 \pm 0,46^a$
URS	$4,58 \pm 0,45^d$	$0,86 \pm 0,22^{bc}$	$4,58 \pm 0,70^{cd}$
OOV	$7,95 \pm 0,36^c$	$-1,11 \pm 0,44^b$	$8,40 \pm 0,74^b$
CAC	$7,50 \pm 0,09^c$	$-1,05 \pm 0,18^b$	$8,22 \pm 0,18^b$
Refinado			
MDO	$6,86 \pm 0,20^c$	$-1,32 \pm 0,48^b$	$2,91 \pm 0,44^e$
BER	$11,55 \pm 0,71^b$	$-2,35 \pm 0,34^a$	$5,32 \pm 0,65^c$
CAM	$5,33 \pm 0,28^d$	$-0,95 \pm 0,28^{bc}$	$3,51 \pm 0,47^{de}$

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão ($n=3$). Médias com diferentes letras na mesma coluna são estatisticamente diferentes com 5 % pelo teste de Tukey. L^* : luminosidade; a^* : variação de verde/vermelho; b^* : variação de azul/amarelo.

O valor da componente b^* positiva também variou entre as amostras. A amostra UVB apresentou a maior intensidade de amarelo (10,24), enquanto a amostra MDO obteve a menor intensidade (2,78). A componente a^* negativa variou entre -0,28 e 2,35 nas amostras.

4.4.4 Compostos voláteis

Vinte e oito compostos com características aromáticas foram identificados na fração volátil presente nas sete diferentes marcas de OSU brasileiros (Quadro 4.1). Estes consistiam principalmente de 6 álcoois, 5 aldeídos, 3 ácidos carboxílicos, 3 ésteres, 3 hidrocarbonos, 3 cetonas e 2 terpenos.

4.4.5 Compostos fenólicos, carotenoides e clorofilas totais

Os resultados dos fenólicos totais presentes nos óleos de semente de uva comerciais mostraram faixa de quantificação expressivamente variável, entre 1,82 e 27,87 mg/100 g (Tabela 4.4). Foram observados baixos valores de fenólicos totais para os óleos obtidos pelo processo de refino (1,82 a 6,40 mg/100 g); contudo, os óleos prensados a frio apresentaram teores superiores (13,92 a 27,87 mg/100 g) desses compostos.

Foram também obtidas as quantificações totais dos pigmentos carotenoides e clorofilas. Para as duas determinações, a amostra URS apresentou valor significativamente superior aos valores das demais marcas (em ambos os casos, $p < 0,001$). Mais uma vez, foi possível verificar que todas as amostras refinadas apresentaram menores concentrações destes constituintes minoritários (0,08 a 1,82 mg/Kg de clorofila e 4,24 a 24,26 mg/100g de carotenoides) em relação às amostras prensadas a frio (2,96 a 4,04 mg/Kg de clorofila e 33,94 a 59,85 mg/100g de carotenoides).

Quadro 4.1 Compostos voláteis presentes em óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Compostos	Número CAS	Descrição	Prensado a frio			Refinado			
			UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
Álcoois									
Etanol	[64-17-5]	Floral							
Isoamílico	[123-51-3]	Frutado							
Hexanol	[111-27-3]	Citrus, eucalipto							
n-Pentanol	[71-41-0]	Frutado, banana							
1-octen-3-ol	[3391-86-4]	Cogumelo, frutado							
Fenil etanol	[60-12-8]	Mel, floral							
Aldeídos									
Isopentanal	[590-86-3]								
Pentanal	[110-62-3]	Frutado							
Hexanal	[66-25-1]	Gramma verde							
2-Heptenal	[57266-86-1]	Rancidez							
2-Nonenal	[18829-56-6]	Gordura, pepino							
Ácidos Carboxílicos									
Acético	[64-19-7]	Vinagre							
Isovalérico	[503-74-2]	Cheiro doce, podre							
Hexanoico	[142-62-1]								

Compostos	Número CAS	Descrição	Prensado a frio				Refinado		
			UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
Ésteres									
Acetato isoamílico (banana oil)	[123-92-2]	Doce, frutado							
Hexanoato de etila	[123-66-0]	Frutado, floral							
Octanoato de etila	[106-23-1]	Frutado, floral							
Compostos Furanos									
Furfural	[98-01-1]	Amêndoa							
Hidrocarbono									
Hexano	[110-54-3]	Floral							
Tolueno	[108-88-3]								
Estireno	[100-42-5]	Pungente, assado							
Cetonas									
Acetoína	[513-86-0]	Amanteigado							
2,4-metil-2-hexanona	[105-42-0]	Apimentado, acetona							
1,3,6-dimetil-tetraidropiran-2-ona	[3720-22-7]	Floral							
1,2,4,6 tritert-butil-4-metil-2,5-cicloexadien1-ona	[19687-22-0]								
Terpenos									
α-Limoneno	[5989-54-8]	Citrus fresco, laranja							
4-Careno	[5208-50-4]	Doce, pungente							
Silanol									
Tert-butildimetilsilanol	[18173-64-3]								

Tabela 4.4 Compostos minoritários totais dos óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Compostos Minoritários	<i>Prensado a frio</i>					<i>Refinado</i>	
	UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
Fenólicos Totais (mg EAG/100 g)	27,87 ± 3,69 ^a	13,92 ± 3,60 ^b	18,21 ± 1,56 ^b	16,22 ± 0,56 ^b	1,82 ± 0,09 ^d	6,40 ± 0,57 ^c	4,09 ± 0,13 ^{cd}
Carotenoides Totais (mg EBC/100 g)	51,67 ± 2,08 ^b	59,85 ± 3,06 ^a	33,94 ± 4,93 ^c	33,85 ± 4,16 ^c	4,24 ± 0,58 ^e	8,99 ± 2,00 ^e	24,26 ± 2,00 ^d
Clorofilas Totais (mg/Kg)	3,52 ± 0,09 ^b	4,04 ± 0,05 ^a	2,96 ± 0,03 ^c	3,61 ± 0,14 ^b	0,08 ± 0,01 ^e	0,11 ± 0,05 ^e	1,89 ± 0,01 ^d

Resultado expresso em média ± desvio-padrão (n=3). Letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p≤0,05).

4.4.6 Isômeros do tocoferol (T) e tocotrienol (T3)

Os óleos da semente de uva brasileiros apresentaram, em sua composição, diferentes concentrações para os três isômeros estudados: α -T, γ -T e γ -T3 (Tabela 4.5). Em relação ao isômero α -tocoferol, observou-se que as amostras refinadas apresentaram valores superiores (8,56 a 47,78 mg/100 g) quando comparadas às prensadas a frio (1,33 a 1,76 mg/100 g).

Foi observado que, para todas as amostras, independentemente do processo de obtenção, houve a predominância do isômero γ -T3. As amostras submetidas a prensagem a frio apresentaram teores entre 417,03 e 453,48 mg/100 g de γ -T3 e somente a amostra CAC diferiu, de forma significativa, das demais. Verificou-se também que os valores encontrados para as amostras prensadas foram significativamente superiores aos encontrados nas amostras submetidas ao processo de refino, os quais obtiveram valores de 57,22 a 267,80 mg/100 g (Tabela 4.5).

Na Tabela 4.5, também é possível observar os resultados para a atividade da vitamina E. Menores valores foram encontrados para as amostras prensadas a frio, apresentando média de 1,66 mg/100 g, quando comparadas às amostras refinadas, as quais apresentaram valores na faixa de 8,81 a 48,12 mg/100 g.

4.4.7 Fitosteróis

A composição de fitosteróis dos óleos de semente de uva encontra-se na Tabela 4.5. A soma dos fitosteróis identificados nos óleos de semente de uva ficou na faixa de 82 a 136 mg/100 g, com média de 115,30 mg/100 g. As concentrações de campesterol, estigmasterol e β -sitosterol, das amostras refinadas (faixas de 9,08 a 11,39; 13,42 a 21,75 e 59,59 a 73,72 mg/100 g, respectivamente), foram estatisticamente inferiores quando comparadas às amostras submetidas ao processo de extração a frio (faixas de 12,78 a 13,79; 30,57 a 32,63 e 83,50 a 91,94 mg/100 g, respectivamente).

Tabela 4.5 Quantificação dos principais isômeros da vitamina E e fitosteróis presentes em óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Análises	Prensado a frio				Refinado		
	UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
Vitamina E (mg/100 g)							
α-T	1,76 ± 0,01 ^d	1,69 ± 0,02 ^d	1,33 ± 0,02 ^e	1,34 ± 0,01 ^e	47,78 ± 3,1 ^a	9,30 ± 0,06 ^b	8,56 ± 0,08 ^c
γ-T	0,49 ± 0,02 ^c	0,61 ± 0,02 ^c	0,51 ± 0,03 ^c	0,47 ± 0,01 ^c	1,35 ± 0,11 ^a	1,11 ± 0,02 ^b	0,99 ± 0,09 ^b
γ-T3	450,99 ± 10,34 ^a	432,50 ± 14,47 ^{ab}	453,48 ± 4,79 ^a	417,03 ± 12,70 ^b	57,22 ± 0,04 ^d	261,43 ± 1,00 ^c	267,80 ± 5,47 ^c
Atividade Vitamina E*	1,88 ± 0,01 ^d	1,84 ± 0,02 ^{bc}	1,46 ± 0,03 ^d	1,45 ± 0,01 ^d	48,12 ± 3,13 ^a	9,58 ± 0,06 ^b	8,81 ± 0,06 ^{bc}
Fitosteróis (mg/100 g)							
Campesterol	12,78 ± 0,34 ^b	13,79 ± 0,07 ^a	12,90 ± 0,31 ^b	13,51 ± 0,10 ^{ab}	11,39 ± 0,23 ^c	9,08 ± 0,22 ^d	9,81 ± 0,46 ^d
Estigmasterol	31,98 ± 5,28 ^a	32,63 ± 0,74 ^a	30,66 ± 0,32 ^a	30,57 ± 0,19 ^a	21,75 ± 2,93 ^b	13,42 ± 0,44 ^c	18,74 ± 1,09 ^{bc}
β-sitosterol	83,50 ± 1,28 ^a	88,86 ± 1,14 ^a	84,17 ± 1,47 ^a	91,94 ± 0,32 ^a	73,72 ± 7,76 ^b	59,59 ± 2,36 ^c	62,27 ± 1,39 ^c
Soma**	128,26 ± 6,90 ^a	135,28 ± 1,94 ^a	127,73 ± 2,10 ^a	136,02 ± 0,62 ^a	106,86 ± 10,92 ^b	82,09 ± 3,02 ^c	90,82 ± 2,94 ^c

Resultado expresso em média ± desvio-padrão (n=3). Letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p≤0,05). α-T: alfa tocoferol; γ-T: gama tocoferol; γ-T3: gama tocotrienol. *A atividade da Vitamina E foi expressa em equivalente de α-tocoferol. **Soma de fitosteróis (campesterol, estigmasterol e β-sitosterol).

4.4.8 Índice de Estabilidade Oxidativa (IEO)

Na Tabela 4.6, pode-se verificar os tempos de indução dos óleos. Nota-se que a média do tempo de indução das amostras prensadas a frio (2,44 h) foi superior ao das amostras refinadas (1,72 h). A amostra que obteve estatisticamente maior tempo de indução nas condições adversas do experimento foi a UVB.

Tabela 4.6 Valores médios do índice de estabilidade oxidativa (120 °C, 20 h/L) de óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Óleos	Tempo de indução (h)
Prensado a frio	
UVB	3,09 ± 0,55 ^a
URS	2,94 ± 0,26 ^{ab}
OOV	2,36 ± 0,18 ^{bc}
CAC	1,37 ± 0,09 ^d
Refinado	
MDO	1,87 ± 0,12 ^{cd}
BER	1,29 ± 0,07 ^d
CAM	2,01 ± 0,02 ^c

Resultado expresso em média ± desvio-padrão (n=3). Letras diferentes significam que houve diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,001$). O óleo de soja, como referência apresentou para as mesmas condições tempo de indução de 3,67 ± 0,05 h.

4.4.9 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos OSU brasileiros encontra-se disponível na Tabela 4.7. Para ORAC lipofílico, foi possível observar que, em se tratando das amostras prensadas a frio, a URS apresentou valor estatisticamente superior (432,10 µM eq Trolox/100 g) aos valores das demais amostras. As amostras OOV (362,92 µM eq Trolox/100 g) e CAC (370,32 µM eq Trolox/100 g) apresentaram valores inferiores estatisticamente ao da amostra URS, mas não diferiram entre elas. A amostra UVB apresentou valor significativamente inferior (224,00 µM eq Trolox/100 g), porém este valor ainda é 10 vezes superior aos

apresentados para as amostras refinadas (faixa de 23,64 a 27,28 μM eq Trolox/100 g), conforme a Tabela 4.7.

Para o ensaio ORAC hidrofílico, foi observado valor estatisticamente superior para a amostra URS (728,21 μM eq Trolox/100 g), seguido da UVB e da OOV (625,14 e 588,84 μM eq Trolox/100 g, respectivamente). As amostras refinadas não obtiveram diferença significativa entre si (variando de 46,40 a 49,56 μM eq Trolox/100 g), mas apresentaram-se com valores significativamente inferiores aos das prensadas a frio. Para o ensaio TEAC, baseado no sequestro do radical ABTS^+ , foi encontrada faixa de atividade de 35,42 a 205,52 μM eq Trolox/100 g, conforme Tabela 4.7. As amostras prensadas a frio OOV e CAC obtiveram os maiores valores de atividade antioxidante por esse método, apresentando diferença significativa ($p < 0,001$), quando comparadas às amostras prensadas, UVB e URS, e também às refinadas. Todas as amostras refinadas foram diferentes estatisticamente entre si, com valores inferiores aos das amostras prensadas a frio ($p < 0,001$).

Tabela 4.7 Atividade antioxidante dos óleos de semente de uva comerciais brasileiros.

Atividade Antioxidante ($\mu\text{M eq Trolox}/100\text{ g}$)	Prensado a frio					Refinado	
	UVB	URS	OOV	CAC	MDO	BER	CAM
ORAC lipofílico	224,00 $\pm$ 22,28 ^c	432,10 $\pm$ 17,75 ^a	362,92 $\pm$ 29,75 ^b	370,32 $\pm$ 4,20 ^b	27,28 $\pm$ 0,80 ^d	26,83 $\pm$ 0,53 ^d	23,64 $\pm$ 0,10 ^d
ORAC hidrofílico	625,14 $\pm$ 35,44 ^b	728,21 $\pm$ 17,01 ^a	588,84 $\pm$ 5,73 ^{bc}	563,83 $\pm$ 14,81 ^c	49,55 $\pm$ 3,30 ^d	46,40 $\pm$ 3,23 ^d	49,56 $\pm$ 1,72 ^d
TEAC	180,50 $\pm$ 15,82 ^b	53,41 $\pm$ 3,97 ^b	205,52 $\pm$ 9,76 ^a	192,67 $\pm$ 6,99 ^a	63,66 $\pm$ 28,48 ^c	35,42 $\pm$ 6,43 ^e	36,63 $\pm$ 6,31 ^d

Resultado expresso em média $\pm$ desvio-padrão (n=3). Letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ORAC hidrofílico: método hidrofílico de Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio, ORAC lipofílico: método lipofílico de Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio, TEAC: atividade antioxidante equivalente ao Trolox.

4.4.10 Correlação entre as variáveis do estudo

No que diz respeito às correlações entre as variáveis estudadas, pode-se verificar, na Tabela 4.8, que muitos resultados apresentaram elevada correlação positiva entre si.

Verificou-se que o teor de fenólicos totais correlacionou-se positivamente, de maneira expressiva e significativa com os valores de carotenoides totais ($r=0,756$; $p<0,05$), com a componente b^* ($r=0,934$; $p<0,01$), com a atividade da vitamina E ($r=0,822$; $p<0,05$) e com a atividade antioxidante pelo método ORAC hidrofílico ($r=0,831$; $p<0,05$).

Tabela 4.8 Coeficiente de correlação (r) e p -valor do teste de Pearson para as principais variáveis estudadas.

	FT	CT	ORAC hidro	ORAC lipo	Ativ. vit E	γ -T3
CT	$r = 0,756$ ($p < 0,05$)					
ORAC hidro	$r = 0,831$ ($p < 0,05$)	$r = 0,905$ ($p < 0,01$)				
ORAC Lipo	$r = 0,653$ ($p = 0,11$)	$r = 0,792$ ($p < 0,05$)	$r = 0,945$ ($p < 0,01$)			
Ativ. vit E	$r = 0,822$ ($p < 0,05$)	$r = 0,818$ ($p < 0,05$)	$r = 0,881$ ($p < 0,01$)	$r = 0,860$ ($p < 0,01$)		
γ-T3	$r = 0,843$ ($p < 0,05$)	$r = 0,840$ ($p < 0,05$)	$r = 0,864$ ($p < 0,05$)	$r = 0,811$ ($p < 0,05$)	$r = 0,982$ ($p < 0,01$)	
Comp. b^*	$r = 0,934$ ($p < 0,01$)	$r = 0,737$ ($p < 0,05$)	$r = 0,667$ ($p = 0,10$)	$r = 0,533$ ($p = 0,22$)	$r = 0,772$ ($p < 0,05$)	$r = 0,775$ ($p < 0,05$)

FT: fenólicos totais; CT: carotenoides totais; ORAC hidro: método hidrofílico de Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio; ORAC lipo: método lipofílico de Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio; Ativ. vit E: atividade de vitamina E; γ -T3: isômero γ -tocotrienol da vitamina E; Comp. b^* : Componente b^* CieLab.

A análise de componentes principais (PCA) realizada no presente estudo explicou 2 componentes principais, fatores 1 e 2, que representaram cerca de 65 % da variância total (Figura 4.3).

O fator 1 (F1), o mais importante para o estudo, explicou 49,46 % da variância, sendo composto por 34 variáveis, dentre elas, com peso positivo, os 13 compostos voláteis, os compostos minoritários (fenólicos, carotenoides e

clorofilas totais), a componente b^* CieLab, a soma de fitosteróis e seus compostos identificados (campesterol, estigmasterol e sitosterol) e, por fim, as determinações de atividade antioxidante pelos métodos TEAC e ORAC (lipo e hidrofílico). Com peso negativo, o F1 explicou a atividade de vitamina E, os isômeros α -T, γ -T e γ -T3, a soma total de ácido graxos monoinsaturados e a quantificação de ácido oleico das amostras.

O fator 2 (F2) explicou 15,54 % da variância dos dados e foi representado por 7 componentes, dentre eles os compostos voláteis (hexano, careno, tolueno, n-pentilamina-N-nitrosentilamina, dimetil-tetra-hidropirano e acetato de amônia) e o ácido linolênico. Pode-se notar que os dois fatores juntos incluíram 41 variáveis (mais de 66 % das variáveis totais), o que é bastante representativo. A Figura 5.3 ilustra a coordenada cartesiana com a identificação das amostras. Pode-se observar que as amostras prensadas a frio posicionaram-se à direita do eixo das abscissas (F1), mostrando que a maioria das variáveis (34 variáveis) foi importante para estas amostras. No entanto, o lado esquerdo do eixo das abscissas ilustra a importância das amostras refinadas para poucas variáveis.

Figura 4.3 Análise de Componente Principal (PCA) baseada nos resultados de composição de diferentes marcas de óleos de semente de uva obtidos no mercado brasileiro. 1: hexano; 2: etanol; 3: isopentanal; 4: pentanal; 5: clorofórmio; 6: 4-careno; 7: tolueno; 8: hexanal; 9: *banana oil*; 10: N-pentilamina-N-nitrosopentilamina; 11: Limoneno; 12: 2,4-metil-2-hexanona; 13: álcool isoamílico; 14: tert-butildimetilsilanol; 15: etil-hexanoato; 16: n-pentanol; 17: estireno; 18: acetoína; 19: heptenal; 20: lactamida; 21: 1,3,6-dimetil-tetraidropiran-2-ona; 22: hexanol; 23: etil octanoato; 24: octen-3-ol; 25: furfural; 26: ácido acético; 27: 2-nonenal; 28: acetato de amônia; 29: butanediol; 30: ácido isovalérico; 31: ácido hexanoico; 32: fenil etil álcool; 33: 1,2,4,6 triterbutil-4-metil-2,5-cicloexadien1-ona; 34: compostos fenólicos totais; 35: ácido oleico; 36: ácido linoleico; 37: carotenoides totais; 38: índice de peróxidos; 39: índice de p-anisidina; 40: atividade de vitamina E; 41: conteúdo de α -tocoferol; 42: γ -tocoferol; 43: γ -tocotrienol; 44: índice de estabilidade oxidativa; 45: campesterol; 46: estigmasterol; 47: β -sitosterol; 49: atividade antioxidante pelo método TEAC; 50: atividade antioxidante pelo método ORAC lipofílico; 51: atividade antioxidante pelo método ORAC hidrofílico; 52: ácido palmítico; 53: ácido esteárico; 54: soma de ácidos graxos saturados; 55: soma de ácidos graxos monoinsaturados; 56: soma dos ácidos graxos poli-insaturados; 57: ácido linolênico; 58: conteúdo de clorofilas totais; 59: índice de acidez; 60: componente L*; 61: componente a* e 62: componente b*.

4.5 Discussão

Os resultados obtidos para os parâmetros de qualidade (acidez e peróxidos) dos óleos de semente de uva investigados mostraram que, em geral, não estavam dentro do preconizado pela legislação vigente (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Apresentaram-se dentro da faixa recomendada apenas as amostras UVB e CAM (Tabela 4.1).

Os resultados de índice de acidez demonstraram que três amostras prensadas a frio analisadas encontravam-se fora dos limites de acidez recomendados (4,00 mg KOH/g) e que somente uma amostra prensada a frio, a UVB (2,65 mg KOH/g de óleo), apresentou índice de acidez dentro do limite do valor máximo determinado. Diferentemente, ocorreu para todas as amostras refinadas, sendo observados valores abaixo do valor máximo de referência (na faixa de 0,28 a 0,30 mg KOH/g).

Os resultados de IP mostraram que, das amostras refinadas, somente a CAM (4,5 mEq O₂/Kg) apresentou resultado no limite aceitável (10,00 mEq O₂/Kg). E das amostras prensadas a frio, somente UVB e OOV (3,96 e 11,06 mEq O₂/Kg, respectivamente) estavam dentro do limite preconizado na legislação (15,00 mEq O₂/Kg). Esses resultados demonstram que o processo de extração do óleo de semente de uva foi determinante nos parâmetros de qualidade do óleo.

Navas (2009) caracterizou o óleo obtido da semente de uva por extração mecânica e obteve valores de acidez e peróxido na faixa de 0,82 a 2,21 mg KOH/g de óleo e 6,80 a 11,60 meq O₂/Kg de óleo, respectivamente, bem abaixo dos valores encontrados para o presente estudo.

Já o IpA avalia os produtos finais da peroxidação lipídica. Nota-se que não há limites registrados na legislação internacional para este parâmetro. No presente estudo, verificaram-se valores superiores para as amostras refinadas, quando comparadas às amostras processadas a frio, indicando estarem aquelas com maior grau de degradação do que estas. Mais uma vez, verifica-se que a amostra UVB revelou menor valor significativo (3,29) para esta determinação quando comparada com as demais amostras, assim como valores estatisticamente mais baixos para IP e acidez.

Na avaliação do perfil de AG, foi observada diferença significativa entre o conteúdo de ácido linoleico das amostras OOV (prensado a frio) e MDO (refinado). A proporção de cada AG do OSU no presente estudo foi em ordem crescente: AGS < AGMI < AGPI. A média de AG do OSU foi de 10,39 g/100 g de saturados, 16,70 g/100 g de monoinsaturados e 72,12 g/100 g de poli-insaturados (Tabela 4.2). Estes dados estão de acordo com diversos autores, conforme relatado a seguir.

Sabir, Unver e Kara (2012) avaliaram o perfil de ácidos graxos dos OSU extraídos de 21 diferentes genótipos de uva e notaram faixa de 53,6 a 69,6 g/100 g para o ácido linoleico, seguido do ácido oleico (16,2 a 31,2 g/100 g) e do ácido graxo saturado palmítico (6,9 a 12,9 g/100 g). Santos et al. (2011) avaliaram as diferenças entre o perfil de AG em diferentes partes da uva, como casca, polpa e semente de duas variedades, *Vitis vinífera* (Benitaka e Brasil) e *Vitis labrusca* (Isabel e Niágara). Segundo os autores, foram verificadas diferenças consideráveis em suas composições, principalmente em relação ao elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados presentes na semente da uva, constituído majoritariamente pelo C18:2. Crews et al. (2006) avaliaram diversos óleos de semente de uva oriundos dos principais países produtores de uva na Europa (França, Itália e Espanha), a fim de catalogar as variações que ocorrem no perfil de AG para a base de dados do Codex Alimentarius em 2004. Os autores verificaram que, dentre 10 amostras avaliadas de cada país, independentemente da região onde foram cultivadas e processadas, o teor de cada ácido graxo encontrava-se dentro das faixas preconizadas pela legislação internacional (58 a 78 % de AL, 12 a 28 % de ácido oleico e 5,5 a 11 % de palmítico) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999); faixas estas que também encontravam-se de acordo com o que foi observado nos resultados obtidos pelo presente estudo.

Na identificação dos compostos voláteis, os álcoois foram os compostos de maior representação nos óleos de semente de uva comerciais (Quadro 4.1). Alguns álcoois, como hexanol e isoamílico, são resultado de processo fermentativo das sementes durante maceração prévia para extração do óleo. Adicionalmente, foram identificados compostos, como álcool isoamílico e fenil etanol, os quais são utilizados como marcadores de qualidade do vinho (GURBUZ; ROUSEFF JUNE; ROUSEFF RUSSELL, 2006). Os compostos

aldeídos, como pentanal, hexanal, octanal e furfural, conferiram característica de aroma frutado. Os ésteres hexanoato de etila, acetato de hexila e octanoato de etila também conferiram aos óleos característica de aroma frutado e/ou floral. Deve-se notar também que, durante o processo de oxidação, alguns compostos voláteis são formados e conferem odor desagradável, como observado pela identificação de ácido isovalérico, n-heptenal e estireno nas amostras prensadas a frio (URS, OOV e CAC).

Nas amostras que passaram pelo processo de refino, foi identificado pequeno número de compostos voláteis. Adicionalmente, Cavalli et al. (2004) demonstraram que os compostos voláteis podem ser influenciados pelo processo de extração do óleo, além de sofrerem influência devido ao cultivar, ao grau de maturação e às práticas cultivares.

São diversos os compostos minoritários presentes nos óleos vegetais, dentre eles destacam-se as vitaminas lipossolúveis, os fitosteróis, os pigmentos e os compostos fenólicos. Alguns conferem capacidade antioxidante, com potencial para inibir a oxidação lipídica, reação na qual os óleos são mais suscetíveis, contribuindo, assim, para melhoria da qualidade do produto e seu valor nutricional. Encontram-se alguns trabalhos na literatura que relatam a concentração de compostos minoritários presentes nos óleos de semente de uva produzidos em diversos países, como Portugal, Espanha, Itália e França (FERNANDES et al., 2013; NAVAS, 2009; RUBIO et al., 2009; CREWS et al., 2006). Da mesma forma, foi importante caracterizar o OSU proveniente do mercado brasileiro e verificar se a quantificação encontrada foi próxima aos OSU encontrados em outras regiões do mundo.

Nossos resultados demonstram que ocorreu grande variabilidade nas concentrações dos compostos minoritários avaliados, a qual pode estar relacionada aos diferentes tipos de extrações nas quais os óleos foram submetidos, como observado por Passos et al. (2010). Uma vez que o processo de prensagem a frio não envolve tratamento químico nem térmico, este destaca-se como um interessante método para substituição da tradicional prática de refino, devido os consumidores preferirem, atualmente, produtos naturais e saudáveis e, principalmente, pela manutenção, de forma integral ou não, dos compostos bioativos presentes nas sementes de frutas.

Para fenólicos totais, a amostra UVB apresentou a maior concentração (27,87 mg/100 g) dentre os demais (Tabela 4.4). Devido a baixa solubilidade de alguns compostos fenólicos ao óleo, verifica-se que, quanto mais turvo o óleo se apresenta, maiores são as chances de encontrar esses compostos em teores elevados. Neste sentido, por meio da análise de luminosidade (L^*), pode-se verificar que o óleo da marca UVB apresentou maior turbidez dentre as demais marcas (Tabela 4.3).

Em estudo conduzido por Siger, Nogala-Kalucka e Lampart-Szczapa (2008), foram avaliados diferentes óleos comercialmente disponíveis na Polônia, inclusive o OSU obtido por extração a frio. Observaram-se teores de fenólicos de 0,51 mg/100 g, valores bem abaixo dos encontrados no presente trabalho, os quais variaram de 1,82 a 27,87 mg/100 g. Bail et al. (2008) investigaram o teor de fenólicos totais de nove marcas de OSU, provenientes do comércio austríaco, e encontraram teores destes compostos de 5,9 a 11,5 mg/100 g; os resultados apresentados no presente estudo corroboraram esses valores.

Com os dados obtidos das coordenadas CieLab, observou-se a predominância da componente amarela (b^*) sobre a componente verde (a^*). A contribuição da componente negativa a^* foi muito pequena, apresentando valores muito baixos. Esses resultados indicam que a cor amarelada, característica de óleos vegetais, predominou nos óleos de semente de uva brasileiros analisados. Somente a amostra BER indicou valor mais relevante na contribuição da cor verde, porém ainda não superior à componente amarela (Tabela 4.3).

Não foram encontrados dados dessas coordenadas para o OSU na literatura; porém, resultados para outras matrizes oleaginosas, como o óleo de palma, soja, girassol, oliva, milho e abóbora, apresentaram resultado na faixa de 44,8 a 69,5 para o parâmetro L^* , valores negativos para o parâmetro a^* na faixa de 0,2 a 4,4 e para o parâmetro b^* na faixa de 9,2 a 28,8 (REZIG et al., 2012; HSU; YU, 2002).

Os pigmentos clorofilas e carotenoides totais foram quantificados e resultaram nas concentrações entre 4,24 e 59,85 mgEBC/100 g e 0,08 e 3,52 mg/Kg, respectivamente (Tabela 4.4). A presença de carotenoides no óleo é de

grande importância, pois, além de conferir cor (correlação forte com a componente b^* , $r=0,737$; $p<0,050$), alguns destes carotenoides também possuem a função de serem precursores da vitamina A, uma vitamina lipossolúvel importante para o metabolismo humano.

Sobre os dados de vitamina E, foi possível verificar que o conteúdo dos seus isômeros no OSU brasileiro ficou próximo da faixa estabelecida na legislação para o α -T (1,6 a 3,8 mg/100 g), γ -T (até 7,3 mg/100 g) e um pouco acima do estabelecido para o γ -T3 (faixa de 115 a 215 mg/100 g) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Em relação ao γ -T3, pode-se observar que os óleos prensados a frio, do presente estudo, obtiveram concentração média 2 vezes maior em relação à legislação. Seu conteúdo correspondeu a mais de 96 % do total dos isômeros, com concentrações na faixa entre 57,22 e 453,48 mg/100 g. Em contrapartida, as concentrações dos tocoferóis (α e γ -T) representaram menos de 1 % do total para as amostras prensadas a frio (Tabela 4.5).

A concentração de α -tocoferol foi mais elevada nas amostras refinadas e, por consequência, a atividade de vitamina E nessas amostras apresentou resultados superiores quando comparada à das amostras prensadas a frio, sugerindo que, após o processo de refino, foi necessária a adição desse antioxidante para conferir estabilidade. De acordo com Adhikari et al. (2008), os óleos vegetais são acrescidos de α -tocoferol natural/sintético com o intuito de proporcionar maior estabilidade oxidativa.

O maior conteúdo de γ -T3 para os óleos de semente de uva prensados a frio foi confirmado por outros autores. Madawala, Kochhar e Dutta (2012) compararam os perfis de tocoferóis e tocotrienóis de diversos óleos vegetais e observaram que somente os óleos de semente de uva e de arroz possuíam altas concentrações do isômero γ -T3 (média de 19,1 e 28,4 mg/100 g, respectivamente). Fernandes et al. (2013), em estudo com óleos de semente de uva extraídos por soxhlet e provenientes de Portugal, encontraram de 49,9 a 157,5 mg/100 g do isômero γ -T3. Já Crews et al. (2006), trabalhando com OSU extraído com hexano de diferentes regiões (França, Itália e Espanha), encontraram valores de concentração na faixa de 39,9 a 78,5 mg/100 g.

Com relação aos fitosteróis presentes no óleo da semente de uva, o β -sitosterol foi o majoritário (Tabela 4.5). A presença de considerável teor de

fitosteróis no OSU desempenha importante papel biológico, visto que, por serem análogos ao colesterol, competem pelos sítios de absorção intestinal, reduzindo a capacidade de absorção do colesterol pelo organismo (LAAKSO, 2005).

Não foi observada diferença significativa entre as amostras prensadas a frio quanto à soma de fitosteróis, que apresentaram média de 77,72 mg/100 g. Este valor está em concordância com Rubio et al. (2009), que encontraram valores na faixa de 36,8 a 185,3 mg/100 g. Diferença significativa foi encontrada entre as amostras refinadas e prensadas a frio, das quais a concentração de fitosteróis nas prensadas chegou a corresponder mais de 70 % em relação às amostras refinadas.

Sabe-se que o grau de insaturação dos ácidos graxos e os componentes minoritários são importantes na avaliação da estabilidade dos óleos frente à oxidação. Verificou-se que os óleos prensados a frio UVB e URS apresentaram maiores tempos de indução em relação aos demais (3,09 e 2,94 h, respectivamente) (Tabela 4.6). Além disso, as duas amostras também apresentaram maiores concentrações de compostos minoritários com potencial antioxidante, o que pode ter contribuído para o aumento da estabilidade. Foi possível verificar ainda uma correlação positiva, significativa e forte entre o IEO e o índice de qualidade pelo método da p-anisidina ($r=0,794$; $p<0,05$).

Para caracterizar o potencial antioxidante dos óleos comerciais de semente de uva e devido a complexidade das interações e a diversidade dos mecanismos de ação entre os compostos, foram realizados três diferentes métodos; comparando-os, foi possível verificar que o método TEAC não apresentou correlação estatisticamente significativa com o ORAC hidrofílico e nem com o método ORAC lipofílico. Este fato foi devido o método TEAC se basear na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Já os outros dois métodos ORAC baseiam-se no mecanismo de transferência de um átomo de hidrogênio de um composto antioxidante a fim de bloquear o radical peroxil. Por outro lado, por haver similaridade entre as metodologias empregadas na atividade antioxidante TEAC e a determinação dos compostos fenólicos totais, foi possível verificar correlação forte e significativa entre os dois métodos ($r = 0,791$; $p<0,05$).

Foi verificado que o potencial antioxidante pelo método ORAC hidrofílico foi mais expressivo do que o lipofílico, mostrando que, com a extração, ocorre seleção de alguns compostos antioxidantes. Os compostos antioxidantes presentes nos óleos vegetais de natureza hidrofílica são o ácido benzoico e/ou os derivados alcoólicos de flavonoides, secoiroides e ligninas. Por outro lado, no extrato lipofílico do OSU, os maiores contribuintes para a atividade são os carotenoides, os tocoferóis e os tocotrienóis (principalmente o γ -T3), as clorofilas, os polímeros de pró-antocianidinas e as moléculas com alto peso molecular, como os taninos.

De modo geral, os resultados de ORAC mostraram elevada atividade antioxidante para as amostras prensadas a frio, quando comparadas às refinadas, o que pode estar relacionado ao maior teor de fitoquímicos dos primeiros. Todavia, durante o processo de extração, indiferentemente do tipo, podem ocorrer perdas significativas de muitos desses compostos minoritários, devido a sua baixa solubilidade ao óleo. Foi encontrada, para o método ORAC lipofílico, uma correlação positiva com os compostos que possuem maior afinidade ao meio apolar, como os carotenoides totais ($r=0,792$; $p<0,05$), a atividade de vitamina E ($r=0,860$; $p<0,01$), com o principal constituinte presente no OSU, o γ -T3 ($r=0,81$; $p<0,05$) e com os fitosteróis totais ($r=0,910$; $p<0,01$), bem como com as suas frações: campesterol, β -sitosterol e estigmasterol ($r=0,909$; $r=0,908$ e $r=0,887$; $p<0,01$, respectivamente).

Na determinação da atividade antioxidante pelo método TEAC, as amostras prensadas a frio obtiveram atividades na faixa de 53,41 a 205,52 μ M eq trolox/100 g, enquanto as amostras refinadas obtiveram entre 35,42 e 63,66 μ M eq trolox/100 g. Bail et al. (2008), em seu estudo com OSU obtidos comercialmente na Áustria, investigaram a capacidade antioxidante de 9 diferentes marcas de óleos, as quais apresentaram-se na faixa de 9,0 a 116,0 μ M eq trolox/100 g de óleo. Fernandes et al. (2012) trabalharam com dez óleos de diferentes variedades de uvas portuguesas e verificaram uma faixa de 33,4 a 48,9 μ mol eq trolox/100 mL de óleo.

Em resumo, é possível afirmar que os resultados encontrados apontam para diferenças entre os OSU obtidos no mercado brasileiro, diferenciando-se também dos encontrados em outros países, com a presença de importantes componentes minoritários (fenólicos, carotenoides, γ -tocotrienol e β -sitosterol) e

de ácido graxo essencial linoleico, o que o leva a ser reconhecido como um óleo com conteúdo interessante para o consumo humano.

4.6 Conclusões

- Somente uma amostra de óleo de semente de uva prensado a frio e uma refinada apresentaram índices de acidez e peróxidos dentro do limite postulado pela legislação internacional, havendo necessidade de padronização metodológica para obtenção destes óleos, para que se tenham estes índices dentro dos limites de qualidade preconizados.

- Houve correlação entre o conteúdo de carotenoides totais com a componente b^* , que confere pigmentação amarela nos óleos de semente de uva, e entre o elevado conteúdo de compostos fenólicos totais com a turbidez apresentada pelo parâmetro L^* .

- Os óleos de semente de uva brasileiros apresentaram elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, sendo constituídos majoritariamente pelo ácido linoleico. Os álcoois destacaram-se na composição de voláteis. Dentre os compostos minoritários, verificou-se elevado conteúdo do isômero γ -tocotrienol e do β -sitosterol.

- A atividade antioxidante identificada pelo método ORAC hidrofílico foi mais elevada do que pelo lipofílico e a determinação da captura do radical ABTS ficou dentro da faixa encontrada por outros autores na literatura. Os OSU prensados a frio obtiveram maiores quantidades de compostos minoritários e, conseqüentemente, elevado conteúdo de atividade antioxidante e estabilidade oxidativa quando comparados às amostras refinadas.

4.7 Referências

ADHIKARI, P.; HWANG, K. T.; SHIN, M. K.; LEE, B. K.; KIM, S. K.; KIM, S. Y.; LEE, K. T.; KIM, S. Z. Tocols in caneberry seed oils. **Food Chemistry**, v.111, n. 3, p. 687–690, 2008.

AGOSTINI, F.; BERTUSSI, R. A.; AGOSTINI, G.; DOS SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M; VANDERLINDE, R. Supercritical Extraction from Vinification Residues: Fatty Acids, α -Tocopherol, and Phenolic Compounds in the Oil Seeds from Different Varieties of Grape. **The ScientificWorld Journal**, v. 2012, p. 1-9, 2012.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5 ed. Champaign: Editor of Analytical Methods, 2004.

BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Analytical Methods: Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1122-1132, 2008.

BEVERIDGE, T. H. J.; GIRARD, B.; KOPP, T.; DROVER, J. C. G. Yield and composition of grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide and Petroleum ether: Varietal effects. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1799-1804, 2005.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M. V. C. Vitamin E. In: **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003, p. 123-64.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

CALLIGARIS, S.; NICOLI, M. C. Effect of selected ions from lyotropic series on lipid oxidation rate. **Food Chemistry**, v.94, n. 1, p.130-134, 2006.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 1021, n. 1-2, p. 117-124, 2003.

CAVALLI, J. F.; FERNANDEZ, X.; LIZZANI-CUVELIER, L.; LOISEAU, A. M. Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by

HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. **Food chemistry: Analytical, Nutritional and Clinical Methods**, v. 88, n. 1, p. 151-157, 2004.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.47, n.3, p.299-317, 2007.

CHOI, Y.; LEE, J. Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction from grape seeds. **Food Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 1386-1390, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standart for named vegetable oils. **Codex STAN 210-1999**.

CREWS, C.; HOUGH, P.; GODWARD, J.; BRERETON, P.; LEES, M.; GUIET, S.; WINKELMANN, W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6261-6265, 2006.

DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; RENNE, U.; NUERNBERG, K.; LANGHAMMER, M.; HUBER, K.; BREIER, B. High-fat diets rich in ω -3 or ω -6 polyunsaturated fatty acid have distinct effects on lipid profiles and lipid peroxidation in mice selected for either high body weight or leanness. **Nutrition**, v. 29, n. 5, p. 765-771, 2013.

DUCHATEAU, G. S. M. J. E.; BAUER-PLANK, C. G.; LOUTER, A. J. H.; VAN DER HAM, M.; BOERMA, J. A.; VAN ROOIJEN, J. J. M. Fast and accurate method for total 4-desmethyl sterol(s) content in spreads, fat-blends, and raw materials. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 3, p. 273–278, 2002.

FAOSTAT – **Food and Agriculture Organization**. Rome, Italy, 2011.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOS, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161–166, 2013.

FERNÁNDEZ-MAR, M. I.; MATEOS, R.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; PUERTAS, B.; CANTOS-VILLAR, E. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonina: A review. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 797-

813, 2012.

GURBUZ, O.; ROUSEFF JUNE, M.; ROUSEFF RUSSELL, L. Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 11, p. 3990-3996, 2006.

HUSSAIN, A.; LARSSON, H.; OLSSON, M. E.; KUKTAIRE, R.; GRAUSGRUBER, H.; JOHANSSON, E. Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food? **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1789-1795, 2012.

HSU, S.Y., YU, S.H. Comparisons on 11 plant oil fat substitutes for low-fat kung-wans. **Journal of Food Engineering**, v. 51, n. 3, 215–220, 2002.

KAILEH, M.; SEN, R. Role of NF- κ B in the Anti-Inflammatory Effects of Tocotrienols. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 29, n. 3, p. 334S-339S, 2010.

KIM, H.; KIM, S. G.; CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Changes in tocopherols, tocotrienols, and fatty acid contents in grape seed oil during oxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, n. 5, p. 487-489, 2008.

KIM, Y.; CHOI, Y.; HAM, H.; JEONG, H. S.; LEE, J. Protective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seed on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in HepG2 cells. **Food Chemistry**, v. 137, n. 1-4, p. 136-141, 2013.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

LAAKSO, P. Analysis of sterol from various food matrices. **European Journal of Lipids Science and Technology**, v. 107, n. 6, p. 402-410, 2005.

LUQUE-RODRIGUEZ, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D.; PEREZ-JUAN, P. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. **Talanta**, v. 68, n. 1, p. 126-130, 2005.

LUTTERODT, H.; SLAVIN, M.; WHENT, M.; TURNER, E.; YU, L. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2,

p. 391-399, 2011.

MADAWALA, S. R. P.; KOCHHAR, S. P. AND DUTTA, P. C. Lipid components and oxidative status of selected specialty oils. **Grasas y aceites**, v. 63, n. 2, p. 143-151, 2012.

MELLO, L. M. R. **Atuação do Brasil no mercado vitinícola mundial – panorama 2010**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 03 p., 2011.

MINGUEZ-MOSQUERA, M. I.; REJANO-NAVARRO, L.; GANDUL-ROJAS, B; GOMEZ, A. H. S.; GARRIDO-FERNANDEZ, J. Color-Pigment Correlation in Virgin Olive Oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.68, n.5, p. 332-336, 1991.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, 2003.

NAVAS, P. B. Chemical composition of the virgin oil obtained by mechanical pressing from several grape seed varieties (*Vitis vinífera* L.) with emphasis on minor constituents. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, n. 2, p. 214-219, 2009.

PARDO, J. E.; FERNÁNDEZ, E.; RUBIO, M.; ALVARRUIZ, A.; ALONSO, G. L. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinífera*). **Europe Journal of Lipid Science Technology**, v. 111, n. 2, p. 188-193, 2009.

PASSOS, C. P.; SILVA, R. M.; DA SILVA, F. A.; COIMBRA, M. A.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitis vinífera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 2, p. 634-640, 2010.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273-3279, 2003.

RANJITH, A.; SARIN KUMAR, K.; VENUGOPALAN, V. V.; ARUMUGHAN, C.; SAWHNEY, R. C; VIRENDRA, S. Fatty Acids, Tocols, and Carotenoids in Pulp Oil of Three Sea Buckthorn Species (*Hippophae rhamnoides*, *H. salicifolia*, and *H.*

tibetana) Grown in the Indian Himalayas. **JAOCS**, v. 83, n. 4, p. 359-364, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REZIG, L.; CHOUAIBI, M.; MSAADA, K.; HAMDI, S. Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 82-87, 2012.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Fatty acid composition of grape (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) seed oil. **Brazilian Journal of Food Technology**, III SSA, p. 23-26, 2010.

RUBIO, M.; ALVAREZ-ORTÍ, M.; ALVARRUIZ, A.; FERNANDÉZ, E.; PARDO, J. E. Characterization of oil obtained from grape seeds collected during Berry development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2812-2815, 2009.

SABIR, A.; UNVER, A.; KARA, Z. The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.). **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1982-1987, 2012.

SANTOS, L. P.; MORAIS, D. R.; SOUZA, N. E.; COTTICA, S. M.; BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1414–1418, 2011.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments. **Trends Food Science Technology**, v.12, n. 11, p. 401-413, 2001.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N. **Methods for masuring oxidative rancidity in fats and oils**. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B., eds. Food Lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology. 2. Ed. New York: Marcel Dekker, 2002, cap 14, p. 465-487.

SIGER, A.; NOGALA-KALUCKA, M.; LAMPART-SZCZAPA, E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. **Journal of**

Food Lipids, v. 15, n. 2, p. 137-149, 2008.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SWAIN, T; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.19, n. 2, p. 63-68, 1959.

TANGOLAR, S. G.; ÖZOGUL, Y.; TANGOLAR, S.; TORUN, A. Evaluation of Fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 32-39, 2009.

UMESHA, S. S.; NAIDU, A. Vegetable oil blends with α -linolenic acid rich Garden cress oil modulated lipid metabolism in experimental rats. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2845-2851, 2012.

Capítulo 3

5. Efeito do óleo de semente de uva prensado a frio sobre marcadores bioquímicos e perfil inflamatório em ratos

Resumo

O óleo de semente de uva (OSU) caracteriza-se como um importante subproduto do processamento agroindustrial (vinicultura) e sabe-se que seus constituintes podem influenciar diversas funções fisiológicas no organismo. Diante disso, este trabalho objetivou investigar o efeito do OSU sobre parâmetros bioquímico, de estresse oxidativo e inflamatório sérico e tecidual em ratos. Para tal, ratos saudáveis da linhagem *Wistar* foram suplementados com OSU prensado a frio e com o óleo de soja (ODS) – óleo mais consumido no país – para efeito comparativo. Os dois óleos foram administrados por intubação orogástrica diária nas concentrações de 3,0 e 6,0 mL/Kg de peso corpóreo, por 65 dias. Observou-se que os resultados da intervenção não foram dose-dependente para os dois óleos e que, apesar do elevado teor de lipídios oferecido aos animais, estes não modificaram o padrão de ganho de peso e nem apresentaram mudanças nos níveis séricos de triacilglicerol, colesterol total, glicose e transaminases (AST e ALT). Porém, foram observados elevados teores de TBARS no soro dos animais tratados com OSU, quando comparados aos tratados com ODS na menor dose administrada. Em relação ao tecido hepático, foi observado que houve maior incorporação do ácido linoleico, principal ácido graxo presente nos OSU e ODS e precursor do ácido araquidônico na cadeia dos eicosanoides, interferindo no aumento da razão das citocinas inflamatórias TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-4 para todos os grupos suplementados com os dois óleos nas maiores concentrações. Quanto aos marcadores de estresse oxidativo no tecido hepático, pode-se verificar que somente a maior dose administrada de OSU foi relacionada com a maior atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPx) e com a atividade antioxidante total no fígado desses animais, porém, sem apresentar alterações nos valores de TBARS. Nossos resultados demonstraram poucas alterações nos marcadores inflamatórios nos tecidos hepático e adiposo retroperitoneal. Como conclusão, verifica-se que mais estudos são necessários para se avaliar o efeito do óleo de semente de uva em ratos submetidos a processos oxidativos e/ou inflamatórios, para avaliação das proteínas relacionadas à inflamação, para que se possa afirmar seus reais efeitos.

Palavras-chave: óleo de semente de uva, estresse oxidativo, inflamação.

5.1 Introdução

O consumo de óleos vegetais ricos em ácido linoleico (AL), ácido graxo essencial da família n-6, tem aumentado ao longo dos últimos anos (SANTOS et al., 2013). Atualmente, o AL responde por 50 a 80 % de todo ácido graxo encontrado nos principais óleos vegetais consumidos no Brasil e no mundo; são exemplos de óleos ricos em AL aqueles obtidos de semente de girassol, da soja e do milho (CALDER; GRIMBLE, 2002).

Apesar de alguns estudos demonstrarem evidente correlação entre o consumo destes óleos ricos em AL e funções benéficas relacionadas com a homeostase celular (DANNENBERGER et al., 2013; ALVHEIM et al., 2013), o aumento do consumo destes óleos pode estar relacionado com o desenvolvimento de patologias e de algumas implicações, como diabetes, maior risco de doenças cardiovasculares, inflamatórias e autoimunes relacionadas aos AG específicos, assim como aterosclerose, mastite e câncer (SANTOS et al., 2013; CALDER 2001; SIMOPOULOS, 2006).

Uma das causas do desenvolvimento de patologias está relacionada ao aumento de produtos intermediários da oxidação lipídica, como peróxidos e aldeídos, e à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), oxidação de lipídios de membrana, proteínas, enzimas, carboidratos e DNA, assim como a perda da fluidez e o aumento da permeabilidade das membranas, prejudicando o equilíbrio e gerando o estresse oxidativo e/ou danos oxidativos (COVAS; KONSTANTINIDOU; FITÓ, 2009; WILLIAMS; BUTTRISS, 2006; DAMASCENO et al., 2002).

O consumo desses óleos também pode se relacionar com a formação exacerbada de eicosanoides via ácido araquidônico (AA), resultando na maior produção de leucotrieno (LTB₄), tromboxana 2 (TXB₂), produtos da cadeia da família n-6, que remetem à ação pró-inflamatória do AL (RAPHAEL; SORDILLO, 2013; CALDER, 2011). O substrato desse processo metabólico é o ácido araquidônico, que tem o AL como precursor (ISO et al., 2012). Porém, o resultado fisiológico da resposta inflamatória dependerá do tipo de célula, da natureza do estímulo, da concentração dos diferentes eicosanoides produzidos e da sensibilidade de cada tecido alvo (CALDER, 2009). Patterson et al. (2012)

indicaram que a relação adequada de AGPI n-6/n-3 deve ser entre 1 e 4/1. Entretanto, com as mudanças de hábito nutricionais nos países industrializados, incluindo o Brasil, essa razão aumentou para 10-20/1 (OLIVIER et al., 2011).

Outra via associada à inflamação é pela expansão da massa de gordura no tecido adiposo branco (hipertrofia e/ou hiperplasia), neste tecido. Sabe-se que os tecidos adiposos subcutâneo e visceral são responsáveis pela secreção de variedade de moléculas peptídicas e não peptídicas que possuem atividade biológica bem estabelecida e que são coletivamente denominadas adipocinas (SIRIWARDHANA et al., 2013). A gordura visceral destaca-se por ser mais metabolicamente ativa e mais associada à inflamação, resultando na superexpressão de citocinas pró-inflamatórias, como do fator de necrose tumoral α (TNF- α), e das interleucinas (as principais são IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8), mediadas pela via da NF- κ B, e também pela menor expressão de adiponectina e interleucina 4 (IL-4) (HIRAI et al., 2010; RAMALHO; GUIMARÃES, 2008; de CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

Pelos resultados apresentados na literatura, destacando-se os diferentes efeitos do ácido linoleico sobre o organismo animal e sendo este o principal componente do óleo de semente de uva, procurou-se avaliar a influência do óleo produzido no Brasil sobre o metabolismo animal. Utilizou-se, como padrão, o óleo de soja – o qual é usualmente consumido pela população brasileira.

5.2 Objetivos

5.2.1 Objetivo Geral

Avaliar, comparativamente com o óleo de soja, o efeito do consumo crônico de óleo de semente de uva prensado a frio sobre os parâmetros bioquímicos, de estresse oxidativo e inflamatórios no soro e nos tecidos hepático, cardíaco e adiposo de ratos saudáveis

5.2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o efeito nutricional do consumo crônico do óleo de semente de uva prensado a frio sobre parâmetros bioquímicos séricos em ratos.
- Investigar o efeito da suplementação do óleo de semente de uva sobre a incorporação tecidual dos ácidos graxos nos tecidos adiposo e hepático.
- Determinar o efeito da suplementação do óleo de semente de uva na peroxidação lipídica, na atividade antioxidante e nas proteínas inflamatórias nos tecidos hepático e cardíaco.
- Identificar as adipocinas e avaliar o efeito da suplementação do óleo de semente de uva no tamanho dos adipócitos no coxim retroperitoneal em ratos.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Material

A amostra de óleo de semente de uva (OSU) foi adquirida da empresa Biotherapy Ind. Com. Produtos Naturais (Antônio Prado, Rio Grande do Sul, Brasil). O óleo foi extraído por prensagem a frio das sementes de uva das variedades Isabel, Merlot e Niágara. O óleo de soja desodorizado (ODS), sem adição de antioxidantes, foi gentilmente cedido pela empresa Cargill Agrícola S. A. (São Paulo, Brasil). Assim que recebidas, as amostras foram fracionadas em frascos âmbar (20 e 50 mL), com *headspace* preenchido de nitrogênio, seladas e mantidas em freezer a -18 °C até análise e fornecimento aos animais.

5.3.2 Protocolo experimental

5.3.2.1 Animais

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolo CEUA/FCF/332 (Anexo 1), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP), estando de acordo com os princípios éticos para a experimentação animal vigentes.

Ratos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) machos da linhagem *Wistar*, recém-desmamados, com um mês de vida e peso inicial médio de $53,77 \pm 0,06$ g, foram distribuídos em cinco grupos experimentais, compostos de oito animais (n=8) cada: (Grupo C) – Controle, recebendo água; (Grupo OSU3) – Intervenção, recebendo OSU na concentração 3 mL/Kg de peso do animal; (Grupo OSU6) – Intervenção, recebendo OSU na concentração 6 mL/Kg de peso do animal; (Grupo ODS3) – Isocalórico, recebendo ODS na concentração 3 mL/Kg de peso do animal e (Grupo ODS6) – Isocalórico, recebendo ODS na concentração 6 mL/Kg de peso do animal.

Durante 65 dias de experimento, os animais tiveram acesso livre à água e à ração (comercial peletizada irradiada) e foram mantidos em gaiolas de propileno com condições ambientais controladas: temperatura entre 22 ± 02 °C, ciclo claro/escuro de 12 horas, umidade relativa de 55 %, trocas de ar de 15 a 20 trocas/hora.

Tabela 5.1 Composição centesimal da ração comercial utilizada no experimento.

Componentes	(g/100g)
Carboidratos	49,10 ± 1,18
Proteínas	27,52 ± 1,01
Fibras totais	11,86 ± 2,11
Cinzas	18,54 ± 0,23
Gorduras totais *	4,83 ± 0,19
14 : 0	0,02 ± 0,00
16 : 0	0,68 ± 0,01
18 : 0	0,16 ± 0,01
18 : 1 (n-9)	1,13 ± 0,05
18 : 2 (n-6)	2,45 ± 0,10
18 : 3 (n-3)	0,19 ± 0,01
Saturados	0,86 ± 0,02
Monoinsaturados	1,13 ± 0,05
Poli-insaturados	2,63 ± 0,11
n-6/n-3	12/1

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n=3). *A determinação de gordura foi calculada a partir do triglicerídeo do ácido tridecanoico, que foi utilizado como padrão interno.

Para todos os grupos, foi oferecida ração comercial peletizada irradiada (Nuvilab, Paraná, Brasil). A composição da ração consistia de 27,52 ± 1,01 % de proteína, 4,83 ± 0,19 % de gordura e 49,10 ± 1,18 % de carboidratos (Tabela 5.1), oferecendo, portanto, 3,50 ± 0,05 Kcal/g de ração.

Levando-se em consideração o valor médio consumido de óleo, a dieta dos animais dos grupos OSU3 e OSU6 apresentava 10,25 ± 0,05 e 16,01 ± 0,05 Kcal/g, respectivamente. Já os grupos tratados com ODS3 e ODS6 ofereceram 10,27 ± 0,05 e 16,83 ± 0,05 Kcal/g, respectivamente.

A pesagem dos animais, assim como a da ração, foi realizada duas vezes por semana. O cálculo do coeficiente de eficácia alimentar (CEA) foi obtido a partir da razão do ganho de peso do animal pelo consumo de ração.

Uma visão geral do protocolo experimental e das subseqüentes análises realizadas está disponível na Figura 5.1.

Figura 5.1 Visão geral das etapas do experimento biológico.

5.3.2.2 Composição centesimal da ração

Para determinação dos teores de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, foram utilizados os procedimentos descritos pela AOAC (2002). As proteínas totais (fator de conversão = 6,25) foram estimadas pela técnica micro-Kjeldahl. Os lipídios totais foram determinados após extração de uma massa conhecida da amostra com éter etílico, utilizando o aparelho de Soxhlet. As cinzas foram determinadas por incineração a 550 ± 15 °C em forno mufla. Os carboidratos totais foram determinados pelo cálculo da diferença entre 100 gramas do alimento e a soma total dos valores encontrados para umidade, proteínas, gorduras totais e cinzas. Os dados foram expressos em g por 100 g de amostra seca.

A análise do perfil de ácidos graxos da ração comercial peletizada irradiada foi baseada no método da AOCS (2004). A extração dos lipídios e a derivatização foram feitas segundo método 996.06, com uso do triglicerídeo do ácido graxo tridecanoico (C13:0) como padrão interno. Foram utilizados os fatores de resposta teóricos do detector de ionização de chama (FID), do método Ce 1h-05. A determinação da composição de ácidos graxos foi por cromatografia de fase gasosa, método Ce 1-62. Os resultados foram expressos em g de AG por 100 g de ração, enquanto a soma total dos AG saturados, monoinsaturados e poli-insaturados foi expressa em % de gordura total na ração.

5.3.2.3 Composição química dos óleos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada submetendo as amostras à metilação segundo método Ce 2-66 e, em seguida, a determinação da composição de ácidos graxos por cromatografia de fase gasosa (CG), método Ce 1-62, ambos métodos da AOCS (2004). A quantificação dos diferentes ácidos graxos foi realizada por comparação entre os tempos de retenção das amostras com os padrões de referência *rapeseed* 07756-1AMP (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA). Os resultados foram expressos pela porcentagem (%) direta de área de cada pico dos ácidos graxos identificados.

A quantificação por CG de fitosteróis foi determinada segundo Duchateau et al. (2002) com algumas modificações. Os esteróis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões sintéticos

estigmasterol (S 6126), β -sitosterol (S 9889) e campesterol (C 5157) (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA). Os resultados foram expressos em miligramas por 100 gramas de óleo (mg/100 g).

A determinação dos isômeros de tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) e do γ -tocotrienol foi realizada segundo metodologia Ce 8-86 (AOCS, 2004), por cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, modelo CBM-20^a, Quioto, Japão). A identificação dos tocoferóis e do isômero γ -tocotrienol foi conduzida pela comparação dos tempos de retenção de cada padrão sintético dos isômeros (Sigma Chemical Co St. Luis, MO, EUA) submetidos às mesmas condições operacionais. O resultado foi expresso em miligrama de equivalente do isômero por 100 gramas de amostra (mg/100 g) e a atividade de vitamina E foi calculada por tocoferóis equivalentes (atividade de vitamina E = $C_{\alpha-T} \times 1,0 + C_{\beta-T} \times 0,5 + C_{\gamma-T} \times 0,25 + C_{\delta-T} \times 1,0$) como descrito por Hussain et al. (2012).

5.3.2.4 Teste Oral de Tolerância à Glicose

No 55º dia de tratamento, os animais passaram por jejum de 6 horas e foram submetidos ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG), segundo metodologia proposta por Houde et al. (2010). Os animais receberam solução de dextrose 20 %. A glicemia foi avaliada por meio da coleta de uma amostra de sangue retirada da veia caudal nos tempos zero (*baseline*), 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após administração da solução de dextrose, obtendo-se, assim, a curva glicêmica. A dosagem glicêmica foi realizada utilizando-se glicosímetro Accu-Check Performa (Roche Diagnostics GmbH, D-68298, Mannheim, Alemanha). Os dados foram expressos em área sob a curva de incremental decaimento (iAUC) (POTTEIGER; JACOBSEN; DONNELLY, 2002).

5.3.2.5 Coleta do soro e dos tecidos

Após os 65 dias de tratamento, os animais foram submetidos a jejum de 8 horas, foram anestesiados por via intraperitoneal, com uma mistura de cetamina (90 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg), e, em seguida, foram eutanasiados.

Uma amostra de sangue foi coletada por decapitação e centrifugada a 3.500 rpm por 5 minutos a 4 °C, para obtenção do soro. Os tecidos hepático e adiposo retroperitoneal foram coletados, pesados e congelados imediatamente em

nitrogênio líquido. Todos os materiais obtidos foram posteriormente armazenados a temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

5.3.2.6 Parâmetros bioquímicos séricos

As análises séricas de glicose em jejum, das enzimas marcadoras de dano hepático – alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST) e do perfil lipídico, constituído das concentrações de triglicérides (TG), colesterol total (CT) e lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), foram realizadas por meio do analisador bioquímico automático para análises clínicas (LABMAX 240, versão 2.00, Tóquio, Japão) utilizando *kits* comerciais (Labtest®). A concentração das lipoproteínas de baixa densidade (LDL – colesterol) foi calculada de acordo com a equação de Friedewald (Fukuyama et al., 2008): $\text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - (\text{TG}/5)$.

5.3.2.7 Percentual de gordura e perfil de ácidos graxos teciduais

Foi avaliado o perfil de ácidos graxos dos tecidos hepáticos e adiposo retroperitoneal segundo o método 996.06 (AOAC, 2002), com pequenas modificações.

Em um tubo de ensaio, amostras contendo 50-100 mg de gordura total foram adicionadas de 50 mg de ácido pirogálico e 1 mL do padrão interno – ácido tridecanoico ($\text{C}_{13:0}$, 5 mg/mL), 2 mL de etanol e 5 mL de ácido clorídrico 8,3 M. Este tubo foi aquecido ($70\text{--}80\text{ }^{\circ}\text{C}$) em banho com agitação horizontal por 40 minutos. Após se atingir temperatura ambiente, 12 mL de éter etílico e de petróleo foram adicionados e, em seguida, os tubos foram centrifugados, a fase superior foi transferida para um segundo tubo e evaporada em banho termostaticado ($< 40\text{ }^{\circ}\text{C}$) sob fluxo de gás nitrogênio. A este resíduo, contendo a gordura extraída, foram adicionados 1 mL do reagente trifluoreto de boro (7 %, em metanol) e 0,5 mL de tolueno, sendo o tubo aquecido a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 45 minutos. Atingindo-se a temperatura ambiente, foram adicionados 2,5 mL de água destilada, 1 mL de hexano e 0,5 g de sulfato de sódio anidro. A fase superior foi cuidadosamente coletada e transferida para o vial do autoinjeter acoplado ao cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo Plus GC 2012, Quioto, Japão).

Utilizaram-se as seguintes condições cromatográficas: coluna

cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polisiloxana) de 100 m e 0,25 mm de diâmetro interno; programação de temperatura da coluna: isotérmico a 140 °C por 5 minutos e então aquecimento a 4 °C por minuto até 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 30 min; temperatura do vaporizador a 250 °C e do detector a 260 °C; gás de arraste hélio (1 mL/min) e razão de divisão da amostra a 1/50.

A quantificação dos diferentes ácidos graxos foi realizada por comparação entre os tempos de retenção das amostras e do padrão de referência da mistura de 37 metil ésteres de ácidos graxos, C4:0-C24:0 (Sigma Chemical Co. St. Luis, MO, EUA) e do padrão interno. Os resultados foram expressos em g por 100 g de óleo. A porcentagem de gordura total do tecido hepático foi realizada através da soma quantitativa dos ácidos graxos encontrados.

5.3.2.8 Preparo do homogenato dos tecidos e quantificação de proteína

Os tecidos congelados foram fracionados e em seguida homogeneizados em tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0. Foi utilizado o ultra turrax manual (IKA®, modelo T10 basic, Alemanha). A homogeneização de cada tecido ocorreu durante 20 segundos em banho de gelo. Em seguida, foram submetidos à centrifugação (15.000 rpm por 30 min e 4 °C) e os sobrenadantes foram coletados, obtendo-se, assim, os homogenatos. O conteúdo de proteínas foi determinado para correção no cálculo final e, para tal, foi utilizada a metodologia proposta por Bradford (1985).

5.3.2.9 Peroxidação lipídica sérica e tecidual

A determinação da peroxidação lipídica no soro e no homogenato do tecido hepático (Item 5.3.2.8) foi realizada através da medida da produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando-se o método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1975). Os resultados foram expressos em nmol de equivalentes de 1,1',3,3'-Tetraetoxipropano por mg de proteína (nmol TEP/mg proteína).

5.3.2.10 Capacidade antioxidante total do tecido hepático

Foram utilizados, para o experimento, os métodos lipofílico e hidrofílico e, em seguida, a soma para obtenção da atividade antioxidante total, segundo

Prior, Hoang e Gu (2003). Foram misturados 100 µL do homogenato do tecido hepático (Item 5.3.2.8), 200 µL de etanol PA e 100 µL de água deionizada, sendo, em seguida, centrifugados (14.000 rpm por 5 min). A fase orgânica contendo antioxidantes lipofílicos foi extraída utilizando duas vezes hexano PA, seguido por evaporação com N₂. O resíduo foi diluído com 0,7 % β-ciclodextrina e acetona. O resíduo hidrofílico foi misturado com 400 µL de ácido perclórico 0,5 M e centrifugado (2.500 g por 5 min). A fase superior foi diluída em tampão fosfato 75 mM (pH 7,4). Para quantificação, foi utilizada uma placa de 96 poços e adicionado o padrão Trolox[®] (100 µM) ou a mesma quantidade dos extratos com o reagente fluoresceína (40 µM). A seguir, a placa foi incubada a 37 °C durante 30 minutos. Após este período, foi adicionado, automaticamente, AAPH (135 mM), agitando-se por 10 segundos. A seguir, foi medida a fluorescência em um leitor de placas (BIOTEK[®], modelo Synergy HT, Vermont, EUA), com excitação de 493nm (filtro 485/20) e emissão em 515 nm (filtro 528/20), com leituras realizadas a cada minuto, durante 60 minutos. O resultado foi calculado através da equação de regressão entre a concentração do padrão Trolox[®] e a área sob a curva de decaimento da fluorescência (AUC), utilizando o *software* Gen5. A atividade antioxidante foi determinada e os resultados expressos em milimoles equivalentes de Trolox[®] por miligrama de proteína (mmol ET/mg proteína).

5.3.2.11 Atividade das enzimas antioxidantes

Superóxido Dismutase - A atividade da superóxido dismutase (SOD) citoplasmática foi avaliada de acordo com a metodologia de McCord e Fridovich (1969), que verifica a produção dos ânions peróxidos produzidos pela xantina oxidase em presença da xantina. O ânion superóxido reduz o citocromo C e esta redução é medida pelo aumento da densidade ótica a 550 nm à temperatura a 25 °C. O volume de xantina oxidase a ser utilizado na reação é determinado em um branco, na ausência da SOD; desta maneira, obtendo-se variação na absorbância, a 550 nm, entre 0,0250 e 0,0300/minuto. O meio de reação foi composto por citocromo C 100 µM, xantina 500 µM, EDTA 1mM e KCN 200 µM, em tampão fosfato de potássio 0,05 M pH 7,8. Ao meio reacional, foram adicionadas a xantina oxidase e o homogenato (Item 5.3.2.8). A medição foi realizada em espectrofotômetro UV-visível (VARIAN[®], modelo Cary 50 Bio,

Palo Alto, CA, EUA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína, que entende-se por uma unidade (U), a atividade da enzima que promove 50 % de inibição da reação da xantina a 25 °C em pH 7,8.

Catalase - A catalase é responsável pela oxidação do peróxido de hidrogênio a H_2O e O_2 . A metodologia empregada foi descrita por Beutler (1975), quantificando a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio pela enzima mediante o decréscimo da densidade ótica a 230nm (coeficiente de extensão molar $0,0071 \text{ nM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) a 37 °C. O meio reacional foi composto por H_2O_2 10mM e tampão Tris HCl 1 M EDTA 5 mM pH 8,0. As frações citosólicas dos homogenatos (Item 6.3.2.8) foram incubadas a 37 °C no próprio espectrofotômetro e foram realizadas leituras das absorbâncias a cada um minuto durante seis minutos. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade (U) da catalase corresponde à atividade da enzima que realiza a hidrólise de 1 μmol de H_2O_2 por minuto a 37 °C em pH 8,0.

Glutathione Peroxidase - A atividade da glutathione peroxidase (GPx) na fração citosólica foi determinada pela metodologia de Sies et al. (1979). Este método fundamenta-se na medição do decaimento da densidade ótica, a 340 nm, promovido pela oxidação do NADPH a 30 °C (coeficiente de extinção molar igual a $6,22 \text{ nM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) durante a redução da glutathione oxidada (GSSG) catalisada pela glutathione redutase. O meio de reação contém GSH 1 mM, glutathione redutase 0,1 U/mL, NADPH 20 mM, EDTA 5 mM pH 7,0 e tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0. Inicialmente, foi tomado o meio de reação e, em seguida, foram acrescentados o homogenato da amostra (Item 6.3.2.8) e a solução de peróxido de terc-butila 0,5 mM; a solução foi incubada a 30 °C e as leituras realizadas a cada minuto, no período de 6 minutos. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade (U) da enzima é definida como atividade da enzima que oxida 1 μmol de NADPH por minuto a 30 °C em pH 7,0.

Glutathione Reduzida - A atividade da glutathione reduzida (GR) na fração citosólica foi determinada pela metodologia de Sies et al. (1979). Este método fundamenta-se na medição do decaimento da densidade ótica, a 340 nm, promovido pela oxidação do NADPH a 30 °C (coeficiente de extinção molar

igual a $6,22 \text{ nM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) durante a redução da glutathiona oxidada (GSSG) catalisada pela glutathiona redutase. O meio de reação contém GSSG 50 mM, NADPH 4 mM, EDTA 5 mM pH 7,0 e tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0. Inicialmente, foi tomado o meio de reação e, em seguida, foram acrescentados o homogenato da amostra (Item 5.3.2.8) e a solução de peróxido de terc-butila 0,5 mM; a solução foi incubada a 30 °C e as leituras realizadas a cada minuto, no período de 6 minutos. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade (U) da enzima é definida como atividade da enzima que oxida 1 μmol de NADPH por minuto a 30 °C em pH 7,0.

5.3.2.12 Citocinas inflamatórias nos tecidos hepático e adiposo retroperitoneal

Uma fração dos tecidos congelados foi homogeneizada em tampão PBS, contendo inibidor de protease (Complete Mini, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1.000 g e 4 °C por 10 minutos e o sobrenadante foi coletado. A determinação das citocinas fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas 6 (IL-6), 10 (IL-10), 4 (IL-4), 1 β (IL-1 β), proteína inflamatória de macrófago 3 (MIP-3) e citocina quimioatrativa de neutrófilos 2a (CINC-2a) foi realizada por *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), seguindo-se as instruções do fabricante (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA).

5.3.2.13 Expressão gênica da inflamação no tecido adiposo retroperitoneal

A expressão gênica dos marcadores TNF- α , IL-1 β , IL-6, homólogo em rato para o fator de crescimento epidérmico 1 em humanos (F4/80), adiponectina e leptina foi realizada através da técnica de PCR em tempo real em equipamento Rotor gene 3000 (Corbett Research PTY, Mortlake, NSW, Austrália). Uma amostra de 100 mg de tecido pulverizado em nitrogênio líquido foi homogeneizada em reagente (Trizol[®], Life Technologies, Gaithersburg, MA, EUA) para extração do RNA. A quantificação do RNA foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific, modelo 2000, São Paulo, Brasil) e o grau de pureza foi determinado pela razão 260/280 nm. As reações de transcriptase reversa para obtenção do cDNA e amplificação foram

realizadas utilizando marcador de fluorescência (Applied Biosystems, Syber Green®, Foster city, CA, EUA). As sequências dos *primers* de interesse (Applied Biosystems®, Foster city, CA, EUA) estão demonstradas no Quadro 6.1.

A quantificação foi realizada usando método da Ct comparativa (*threshold cycle*, número de ciclos em que o produto da PCR atinge o limiar de detecção), tendo a expressão do rRNA 18S (FW 5'- GGA TCC ATT GGA GGG CAA GT – 3' RV 5'- ACG AGC TTT TTA ACT GCA GCA A – 3') como gene constitutivo.

Quadro 5.1 Sequência de *primers* e temperatura de amplificação para cada expressão gênica estudada (PCR-RT Syber green®).

Genes	Sequência do <i>Primer</i>	
	<i>Sense</i>	<i>Anti sense</i>
F4/80	TTGCCTGGACACTGTGGGTG	TGCTTGCCAAGGGACCAATC
TNF- α	TACTGAACTTCGGGGTGATTGGTCC	CAGCCTTGTCCCTTGAAGAGAACC
IL-1 β	TGATGTTCCCATAGACAGC	GAGGTGCTGATGTACCAGTT
IL-6	TCCTACCCCAACTTCCAATGCTC	TTGGATGGTCTTGGTCCTTAGC
Adiponectina	ACTCAGCATTTCAGCGTAGGC	TGGTCGTAGGTGAAGAGAACGG
Leptina	GTGCCTATCCACAAAGTCCAGG	CGCAGGTTCTCCAGGTCATG

A temperatura de *melting* para todos os *primers* utilizados foi de 60 °C. F4/80: homólogo em rato para o fator de crescimento epidérmico 1 em humanos; TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa; IL-1 β : interleucina 1 beta.

5.3.2.14 Histologia e análise morfométrica do tecido adiposo

Os cortes histológicos (35 μ m) do tecido adiposo epididimal congelado foram obtidos a -27 °C em criostato (Leica Microsystems, modelo CM1850, Wetzlar, Alemanha) e transferidos para lâminas gelatinizadas. Após permanecerem em placa aquecida a 37 °C por 24 horas, as lâminas foram fixadas em formalina 10% e coradas pela técnica Hematoxilina e Eosina (HE).

Para análise quantitativa, foram capturadas imagens no microscópio (Leica Microsystems, modelo DM IRB, Heidelberg, Alemanha) e obtidos campos aleatórios de cada lâmina que, em seguida, foram fotografados. Para mensuração de diâmetro, perímetro e área dos adipócitos, foi utilizado o programa Image-Pro® Plus versão 6.0.

5.3.2.15 Análise estatística dos dados

Os resultados das análises foram inicialmente submetidos ao teste de Hartley para avaliação quanto à homogeneidade das variâncias. As amostras não-homogêneas ($P_{\text{Hartley}} < 0,05$) foram submetidas ao teste de Box-Cox (1964) para sua transformação. Em seguida, os dados dos óleos foram submetidos ao teste t, enquanto os dados biológicos foram submetidos ao teste ANOVA univariada, seguido do teste paramétrico de Tukey a 5 % de significância. Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos pelo valor médio $\pm$ desvio-padrão (DP) ou erro padrão da média (EPM). Foram utilizados o programa Statistica (Statsoft, versão 11, Tulsa, EUA) e o *software* (GraphPad, Prism 6.0, San Diego, CA, EUA) para todas as análises estatísticas.

5.4 Resultados

5.4.1 Composição química dos óleos

Os ácidos graxos poli-insaturados são majoritários no OSU (72,50 %). Proporções similares de AGPI no perfil do óleo de soja também foram verificadas; no entanto, apresentaram menor concentração do ácido graxo linoleico (52,94 %), quando comparado ao OSU. Na avaliação da razão n-6/n-3 no OSU, foi obtido conteúdo aproximadamente três vezes maior do que no ODS, conforme apresentado na Tabela 5.2.

No que diz respeito aos isômeros de vitamina E, encontrados nos dois óleos, pode-se verificar que os tocotrienóis e os tocóis são predominantes no OSU e no ODS, respectivamente – destacando-se a particularidade do OSU, que apresenta elevada concentração do isômero γ -tocotrienol (γ -T3). Sendo que a razão γ (T/T3) foi 59/1 e 1/920 para ODS e OSU, respectivamente (Tabela 5.2).

Foi observado aumento de 60 % no conteúdo de fitosteróis para o ODS (20,87 mg/100 g) quando comparado ao OSU (12,82 mg/100 g) e em ambos os casos o composto majoritário foi o β -sitosterol (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 Composição de ácidos graxos, vitamina E e fitosteróis dos óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS).

	ODS	OSU
Ácidos Graxos (g/100g)		
C16:0	10,65 ± 0,03*	6,26 ± 0,07
C18:0	3,34 ± 0,01	3,42 ± 0,08
C18:1 n-9	22,31 ± 0,08*	15,83 ± 0,07
C18:2 n-6	52,94 ± 0,15	74,15 ± 0,20*
C18:3 n-3	0,38 ± 0,01*	0,21 ± 0,01
C20:1 n-9	6,16 ± 0,02	n.d.
<i>Saturados</i>	13,99 ± 0,04*	9,72 ± 0,14
<i>Monoinsaturados</i>	28,47 ± 0,10*	15,92 ± 0,07
<i>Poli-insaturados</i>	53,32 ± 0,16	74,36 ± 0,20*
<i>n-6/n-3</i>	139:1	353:1*
Vitamina E (mg/100g)		
α-Tocoferol	14,78 ± 0,31*	1,76 ± 0,01
γ-Tocoferol	99,41 ± 5,07*	0,49 ± 0,02
γ-Tocotrienol	1,68 ± 0,24	450,99 ± 10,34*
<i>Atividade Vitamina E**</i>	40,18 ± 1,39*	1,88 ± 0,01
<i>Razão γ (T/T3)</i>	59:1	1:920*
Fitosteróis (mg/100g)		
Campesterol	5,79 ± 0,74*	1,28 ± 0,03
Estigmasterol	4,21 ± 0,65	3,20 ± 0,53
β-sitosterol	10,86 ± 1,55*	8,35 ± 0,12
<i>Soma***</i>	20,87 ± 2,94*	12,82 ± 0,69

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n=3). *Resultados diferem estatisticamente entre si pelo Teste t. OSU: óleo de semente de uva, ODS: óleo de soja. **A atividade da Vitamina E foi expressa em α-tocoferol equivalente. ***Soma de fitosteróis (campesterol, estigmasterol e β-sitosterol).

5.4.2 Avaliações alimentar, ponderal total e tecidual

A maior dose administrada (6 mL/Kg), independentemente do óleo utilizado, foi capaz de induzir ao menor consumo diário de ração, refletindo-se, assim, em maiores valores do coeficiente de eficácia alimentar (CEA). Esta mudança no comportamento alimentar não foi significativa a ponto de interferir no ganho de peso final dos animais, em comparação ao grupo controle (Tabela 5.3).

Quando avalia-se o consumo relacionado a um componente específico presente na dieta, como o caso do AL, verifica-se uma resposta dose-dependente para ambos os óleos. Quanto ao consumo relativo à concentração de vitamina E, verificou-se maior atividade estatisticamente significativa para o grupo ODS6 (Tabela 5.3).

Apesar de não se observar alteração no ganho de peso ponderal e tecidual (hepático e cardíaco), foi verificado efeito dose-dependente no ganho de peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal (Tabela 5.3).

Em relação ao acúmulo de gordura hepática, foi possível verificar o depósito mais expressivo de gordura, de maneira não dose-dependente, para ambos os óleos (OSU e ODS). As duas doses do OSU apresentaram porcentagem de gordura hepática estatisticamente mais elevada do que no grupo controle (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 Efeito da dieta nos parâmetros de crescimento de ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.

Parâmetros	C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
Ganho de Peso	265,46 ± 28,93	271,67 ± 21,66	259,53 ± 26,14	274,38 ± 12,44	272,12 ± 16,66
Consumo médio (g/dia/animal)	24,50±5,40 ^a	22,80±4,20 ^{ab}	20,90±4,30 ^b	23,50±4,60 ^{ab}	21,10±3,40 ^b
Consumo médio de AL (g/dia/animal)	0,60±0,03 ^e	0,93±0,01 ^d	1,20±0,03 ^b	1,07±0,01 ^c	1,50±0,01 ^a
Consumo médio de vitamina E (mg/dia/animal)	0,56±0,02 ^c	0,80±0,01 ^b	0,99±0,03 ^a	0,55±0,01 ^c	0,51±0,01 ^d
CEA	0,17±0,02 ^b	0,19±0,01 ^{ab}	0,20±0,02 ^a	0,18±0,00 ^{ab}	0,20±0,01 ^a
<i>Peso final dos tecidos (g/100 g peso corporal)</i>					
Adiposo retroperitoneal	1,10 ± 0,27 ^b	1,31 ± 0,32 ^b	1,65 ± 0,21 ^a	1,30 ± 0,17 ^b	1,52 ± 0,40 ^a
Hepático	3,06 ± 0,22	3,03 ± 0,28	3,18 ± 0,23	2,96 ± 0,21	3,12 ± 0,14
Cardíaco	0,27 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01
<i>Porcentagem de gordura no tecido (g/100 g tecido)</i>					
Hepático	3,99 ± 0,73 ^c	5,30 ± 1,11 ^{bc}	5,46 ± 1,32 ^{bc}	5,80 ± 1,11 ^{ab}	5,57± 0,91 ^{ab}

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n=8). Letras diferentes diferem estatisticamente entre si (p≤0,05). Onde CEA corresponde ao Coeficiente de Eficácia Alimentar de cada grupo de animais, representado pela razão entre o consumo (g/dia/animal) pela quantidade em calorias (Kcal) ingerida diariamente por animal. C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg, AL: ácido linoleico. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal.

5.4.3 Análise da gordura total e do perfil de ácidos graxos dos tecidos adiposos retroperitoneal e hepático

Dos ácidos graxos saturados quantificados no tecido adiposo retroperitoneal, somente foi verificada diferença no ácido graxo mirístico (C14:0), que foi menos incorporado ao tecido adiposo dos animais do grupo suplementado com óleo de uva na maior dose (OSU6) (Tabela 5.4).

Não foram observadas diferenças nas concentrações na maioria dos ácidos graxos monoinsaturados, com exceção para o ácido graxo nervônico (C24:1, n-9), que foi encontrado em menor quantidade nos animais tratados com óleo de soja (grupos ODS3 e ODS6) e óleo de uva na maior concentração (OSU6). A incorporação do AL para os animais suplementados com ODS foi dose-dependente. Foi observada redução significativa nos teores do ácido γ -linolênico (C18:3, n-3) nos grupos tratados com OSU em comparação ao grupo tratado com ODS. O grupo tratado com OSU6 obteve maior valor da razão n-6/n-3 quando comparado aos demais grupos tratados (Tabela 5.4).

Para o tecido hepático, após o consumo dos dois óleos, não foram observadas alterações significativas para os ácidos graxos saturados e monoinsaturados. Porém, ocorreu maior incorporação dos AGPI em todos os animais dos grupos OSU3, OSU6 e ODS6 quando comparado ao controle (Tabela 5.5).

O presente estudo observou relação de dose-dependência para os grupos suplementados com OSU na razão n-6/n-3. Este comportamento não foi acompanhado para os grupos suplementados com ODS, mantendo seus teores estatisticamente iguais ao grupo controle. Observou-se que a razão n-6/n-3 do grupo OSU6 foi estatisticamente maior ($p < 0,05$), comparado aos demais grupos (Tabela 5.5).

Ocorreu maior incorporação do ácido graxo essencial linoleico (C18:2, n-6) nos dois grupos tratados com a maior dose dos óleos (OSU6 e ODS6). Para o AA (C20:4, n-6), houve aumento significativo na incorporação para as duas doses de óleo de uva (OSU3 e OSU6) (Tabela 5.5).

Tabela 5.4 Perfil de ácidos graxos (g/100g) no tecido adiposo retroperitoneal de ratos tratados com óleos de uva (OSU) e óleo de soja (ODS) durante 65 dias.

AG	Nome	Controle	Controle isocalórico		Grupo tratado	
		C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
<i>Saturados</i>						
C14:0	Mirístico	0,916±0,181 ^a	0,670±0,180 ^{ab}	0,686±0,103 ^{ab}	0,777±0,252 ^{ab}	0,601±0,178 ^b
C15:0	Pentadecanoico	0,283±0,065 ^a	0,182±0,045 ^b	0,181±0,052 ^b	0,168±0,076 ^b	0,171±0,027 ^b
C16:0	Palmítico	19,609±4,454	15,872±3,937	16,352±2,488	16,956±4,703	14,408±2,723
C17:0	Margárico	0,227±0,057	0,180±0,043	0,183±0,043	0,155±0,068	0,188±0,033
C18:0	Esteárico	2,905±0,681	2,790±0,520	2,898±0,517	2,836±0,675	3,126±0,371
C20:0	Eicosanoico	n.d.	0,036±0,051	0,084±0,038	0,148±0,223	0,076±0,099
C22:0	Docosanoico	n.d.	0,224±0,216	n.d.	0,266±0,456	0,066±0,087
ΣAGS		23,940±5,438	19,953±4,993	20,385±3,241	21,305±6,454	18,637±3,518
<i>Monoinsaturados</i>						
C16:1 n-7	Hexadecenoico	2,735±0,997	2,015±1,182	2,272±0,573	2,367±1,402	1,661±0,715
C18:1 n-9	Oleico	22,450±5,734	21,227±5,735	23,211±4,484	20,503±5,847	20,807±3,299
C20:1 n-9	Paulínico	0,109±0,104	0,121±0,063	0,120±0,063	0,125±0,090	0,145±0,062
C24:1 n-6	Nervônico	0,294±0,087 ^a	0,182±0,026 ^{abc}	0,129±0,058 ^{bc}	0,243±0,139 ^a	0,162±0,043 ^{bc}
ΣAGMI		25,792±7,020	23,633±7,065	25,845±5,204	23,328±7,539	22,919±4,139

AG	Nome	Controle	Controle isocalórico		Grupo tratado	
		C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
<i>Poli-insaturados</i>						
C18:2 n-6	Linoleico	39,600±10,256 ^b	34,277±7,121 ^b	43,630±1,023 ^{ab}	45,381±11,514 ^{ab}	57,828±7,000 ^a
C18:3 n-6	α-linolênico	0,170±0,039	0,178±0,038	0,205±0,044	0,142±0,099	0,158±0,027
C18:3 n-3	γ-linolênico	2,504±1,197 ^{ab}	2,087±1,759 ^a	3,423±0,784 ^a	1,939±0,499 ^{bc}	1,520±0,232 ^c
C20:2	Eicosadienoico	0,407±0,092	0,548±0,269	0,359±0,148	0,747±0,637	0,371±0,099
C20:3 n-6	Eicotrienoico	0,158±0,030	0,216±0,084	0,174±0,066	0,327±0,032	0,189±0,062
C20:4 n-6	Araquidônico	1,141±0,275 ^a	0,773±0,232 ^{ab}	0,722±0,188 ^b	1,096±0,425 ^{ab}	0,816±0,217 ^{ab}
C22:5 n-6	Eicosapentaenoico	0,056±0,063	n.d.	n.d.	0,037±0,051	n.d.
C22:5 n-3	Docosapentaenoico	0,153±0,040 ^a	0,073±0,064 ^b	0,068±0,020 ^b	n.d.	n.d.
C22:6 n-3	Docosaexaenoico	0,223±0,068 ^a	0,125±0,089 ^{ab}	0,114±0,056 ^b	0,109±0,090 ^b	n.d.
ΣAGPI		40,530±12,118 ^{ab}	38,491±19,724 ^b	49,004±11,536 ^{ab}	50,039±14,008 ^{ab}	61,141±7,706 ^a
Σ (n-6)		41,827±10,618 ^b	41,078±10,877 ^b	45,219±10,072 ^{ab}	47,971±11,595 ^{ab}	59,525±7,046 ^a
Σ (n-3)		3,216±0,686 ^a	3,395±0,455 ^a	3,606±0,855 ^a	2,091±0,625 ^b	1,520±0,232 ^b
n-6/n-3		12,940±0,962 ^c	11,837±2,052 ^c	12,641±0,867 ^c	23,423±2,796 ^b	39,566±5,006 ^a
C18:0/C18:1		0,130±0,006 ^b	0,135±0,017 ^{ab}	0,126±0,010 ^b	0,141±0,017 ^{ab}	0,152±0,015 ^a
C16:0/C16:1		7,579±1,622	9,221±2,857	7,512±1,652	8,445±2,975	9,951±3,953

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n = 8/grupo). A determinação de gordura foi calculada, a partir do triglicerídeo do ácido tridecanoico, que foi utilizado como padrão interno. Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p<0,05), n.d. = não detectado. Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL / Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal.

Tabela 5.5 Perfil de ácidos graxos (g/100g) no tecido hepático de ratos tratados com óleos de semente de uva (OSU) e óleo de soja (ODS) durante 65 dias.

AG	Nome	Controle	Controle isocalórico		Grupo tratado	
		C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
Saturados						
C14:0	Mirístico	0,009±0,002	0,007±0,005	0,010±0,003	0,010±0,001	0,007±0,005
C16:0	Palmitico	0,657±0,153	0,804±0,191	0,787±0,187	0,790±0,156	0,762±0,114
C17:0	Margárico	0,024±0,003	0,025±0,006	0,022±0,004	0,028±0,007	0,024±0,005
C18:0	Esteárico	0,686±0,111 ^b	0,873±0,186 ^{ab}	0,899±0,143 ^{ab}	0,927±0,219 ^{ab}	1,003±0,167 ^a
C20:0	Eicosanoico	0,002±0,002	0,006±0,006	0,008±0,003	0,006±0,012	0,020±0,025
C22:0	Docosanoico	0,010±0,007	0,016±0,006	0,014±0,004	0,012±0,003	0,016±0,016
C24:0	Lignocérico	0,025±0,005	0,031±0,008	0,032±0,006	0,031±0,007	0,029±0,012
ΣAGS		1,421±0,285	1,777±0,422	1,797±0,361	1,825±0,416	1,877±0,358
Monoinsaturados						
C16:1 n-7	Hexadecenoico	0,016±0,008	0,012±0,010	0,012±0,005	0,013±0,004	0,008±0,006
C18:1 n-9	Oleico	0,215±0,070	0,330±0,114	0,363±0,138	0,290±0,093	0,265±0,089
C20:1 n-9	Paulínico	0,008±0,002	0,018±0,015	0,014±0,007	0,011±0,003	0,013±0,007
C24:1 n-6	Nervônico	0,014±0,008	0,029±0,015	0,038±0,007	0,046±0,003	0,059±0,007
ΣAGMI		0,264±0,025	0,398±0,158	0,434±0,159	0,371±0,106	0,354±0,110
Poli-insaturados						
C18:2 n-6	Linoleico	0,779±0,170 ^b	1,184±0,296 ^{ab}	1,297±0,435 ^a	1,248±0,308 ^{ab}	1,267±0,366 ^a

AG	Nome	Controle	Controle isocalórico		Grupo tratado	
		C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
C18:3 n-3	α -linolênico	n.d.	0,046 $\pm$ 0,022	0,060 $\pm$ 0,028	0,035 $\pm$ 0,011	0,022 $\pm$ 0,011
C18:3 n-6	γ -linolênico	0,008 $\pm$ 0,004	0,019 $\pm$ 0,006	0,017 $\pm$ 0,007	0,016 $\pm$ 0,006	0,018 $\pm$ 0,006
C20:2 n-6	Eicosadienoico	0,032 $\pm$ 0,011	0,048 $\pm$ 0,015	0,046 $\pm$ 0,028	0,053 $\pm$ 0,015	0,067 $\pm$ 0,014
C20:3 n-6	Eicotrienoico	0,018 $\pm$ 0,008	0,030 $\pm$ 0,009	0,042 $\pm$ 0,019	0,026 $\pm$ 0,009	0,033 $\pm$ 0,007
C20:4 n-6	Araquidônico	1,048 $\pm$ 0,169 ^b	1,271 $\pm$ 0,274 ^{ab}	1,238 $\pm$ 0,252 ^{ab}	1,409 $\pm$ 0,316 ^a	1,438 $\pm$ 0,184 ^a
C20:5 n-3	Eicosapentaenoico	0,015 $\pm$ 0,006	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:5 n-3	Docosapentaenoico	0,038 $\pm$ 0,011	0,047 $\pm$ 0,014	0,048 $\pm$ 0,028	0,032 $\pm$ 0,008	0,027 $\pm$ 0,011
C22:6 n-3	Docosaexaenoico	0,199 $\pm$ 0,036	0,233 $\pm$ 0,065	0,235 $\pm$ 0,052	0,211 $\pm$ 0,047	0,195 $\pm$ 0,028
ΣAGPI		2,136 $\pm$ 0,370	2,892 $\pm$ 0,714	2,992 $\pm$ 0,851	3,055 $\pm$ 0,731	3,096 $\pm$ 0,635
Σ (n-6)		1,913 $\pm$ 0,333	2,596 $\pm$ 0,531	2,686 $\pm$ 0,715	2,823 $\pm$ 0,569	2,910 $\pm$ 0,531
Σ (n-3)		0,237 $\pm$ 0,047	0,326 $\pm$ 0,071	0,343 $\pm$ 0,088	0,278 $\pm$ 0,056	0,245 $\pm$ 0,041
n-6/n-3		8,179 $\pm$ 1,186	7,995 $\pm$ 0,579	7,829 $\pm$ 0,563	10,164 $\pm$ 0,939	11,956 $\pm$ 1,632
C18:0/C18:1		3,367 $\pm$ 0,812	2,867 $\pm$ 0,968	2,729 $\pm$ 0,854	3,485 $\pm$ 1,199	4,102 $\pm$ 1,303
C16:0/C16:1		45,369 $\pm$ 9,258	57,312 $\pm$ 14,429	64,619 $\pm$ 16,297	64,433 $\pm$ 15,383	79,064 $\pm$ 14,331
% gordura total		3,992 $\pm$ 0,730 ^b	5,299 $\pm$ 1,111 ^{ab}	5,461 $\pm$ 1,322 ^{ab}	5,799 $\pm$ 1,107 ^a	5,575 $\pm$ 0,910 ^a

Resultados expressos em média $\pm$ desvio-padrão (n = 8/grupo). A determinação de gordura foi calculada, a partir do triglicerídeo do ácido tridecanoico, que foi utilizado como padrão interno. Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p < 0,05), n.d. = não detectado. Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL / Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal.

6.4.4 Parâmetros séricos

Não foi possível verificar alterações entre os grupos tratados para a concentração plasmática das enzimas AST e ALT, glicemia, resposta ao teste oral de tolerância à glicose, colesterol total, triglicerídeos totais e HDL-colesterol, conforme Tabela 5.6.

Quanto à concentração de LDL-colesterol, não houve diferença entre os animais tratados, independentemente da dose, com o controle. Porém, os animais do grupo ODS6 apresentaram menor concentração, quando comparado ao grupo OSU3. Por consequência dos menores níveis séricos de LDL-colesterol, a razão HDL/LDL-colesterol aumentou para o grupo ODS6 (Tabela 5.6).

No que diz respeito à susceptibilidade à peroxidação lipídica, verificou-se que o grupo OSU3 foi 63,98 % superior aos demais grupos tratados, com exceção do OSU6.

O consumo de óleos de soja e de semente de uva, independentemente da dose administrada, não promoveu aumento da concentração sérica das citocinas inflamatórias IL-6 e TNF- α , quando comparado com o controle. No entanto, os animais tratados do grupo OSU3 apresentaram maiores concentrações destas citocinas (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 Efeito da dieta nos parâmetros bioquímicos, inflamatórios e peroxidação lipídica séricos em ratos tratados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.

	C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
Enzimas					
Dano Hepático					
(U/L)					
AST	320,00 ± 78,68	332,75 ± 44,20	305,71 ± 68,70	389,12 ± 58,40	320,29 ± 75,90
ALT	73,62 ± 15,70	70,63 ± 7,46	76,00 ± 15,01	76,13 ± 10,55	71,43 ± 3,00
Lipidograma					
(mg/dL)					
CT	68,50 ± 8,90	74,50 ± 2,90	72,63 ± 7,70	80,00 ± 11,20	79,25 ± 9,74
TAG	60,38 ± 17,34	52,50 ± 16,11	62,88 ± 21,59	46,75 ± 12,35	59,00 ± 12,78
HDL	31,14 ± 5,34	32,12 ± 2,50	33,87 ± 2,70	31,87 ± 3,14	34,00 ± 4,28
LDL	31,26 ± 6,02 ^{abc}	31,87 ± 3,75 ^{abc}	26,17 ± 7,93 ^c	38,77 ± 8,58 ^a	33,45 ± 6,75 ^{abc}
HDL/LDL	0,96 ± 0,18 ^b	1,02 ± 0,18 ^{ab}	1,41 ± 0,50 ^a	0,85 ± 0,18 ^b	1,04 ± 0,17 ^{ab}
Glicemia					
GLI	116,75 ± 19,30	123,38 ± 26,40	133,75 ± 22,45	111,50 ± 13,27	117,00 ± 17,10
(mg/dL)					
TOTG	18181,13 ±	18995,88 ±	18210,25 ±	17712,38 ±	17803,38 ±
(AUC)	1522,19	1440,85	701,68	942,64	1079,38
Peroxidação					
Lipídica					
(μmol/mL)					
TBARS	80,00 ± 0,01 ^{bc}	90,00 ± 0,01 ^{bc}	70,00 ± 0,01 ^c	110,00 ± 0,02 ^a	90,00 ± 0,01 ^{ab}
Citocinas					
Inflamatórias					
(pmol/mL)					
TNF-α	8,75 ± 5,19 ^{ab}	6,85 ± 1,13 ^b	11,99 ± 2,90 ^{ab}	12,58 ± 2,13 ^a	11,48 ± 2,82 ^{ab}
IL-6	253,29 ±	181,35 ± 52,42 ^b	310,43 ±	428,66 ±	406,33 ±
	153,18 ^{ab}		105,54 ^{ab}	106,44 ^a	98,56 ^{ab}

Resultados expressos em média ± DP (n=8). Letras diferentes entre si na mesma linha são estatisticamente diferentes (p≤0,05). Onde, C: grupo controle (água), ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal. AST: aspartato transferase; ALT: alanina transferase; CT: colesterol total; TAG: triglicérides; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL/LDL: razão entre lipoproteína de alta e baixa densidades; GLI: conteúdo de glicose total; TOTG: teste oral de tolerância à glicose; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; TNF-α: fatores de necrose tumoral alfa; IL-6: interleucina 6.

5.4.5 Tecido cardíaco: Uma avaliação da peroxidação lipídica e da atividade das enzimas antioxidantes

Tabela 5.7 Efeito da dieta na atividade antioxidante e na atividade de enzimas antioxidantes do tecido cardíaco em ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.

	C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
Enzimas antioxidantes					
SOD (U/mg)	43,56±10,75 ^{ab}	41,57±4,01 ^{ab}	38,08±3,04 ^b	51,41±8,96 ^a	50,46±4,99 ^a
GPx (U/μg)	366,16±80,95 ^{bc}	353,79±32,08 ^c	340,05±29,83 ^c	480,75±85,61 ^a	444,44±42,01 ^{ab}
GR (U/μg)	2,02±0,43 ^b	2,00±0,19 ^b	1,88±0,17 ^b	2,52±0,34 ^a	2,38±0,25 ^a
CAT (U/mg)	17,22±1,90 ^{bc}	13,19±4,19 ^c	17,74±3,42 ^{bc}	24,01±6,15 ^a	21,85±2,63 ^{ab}
Peroxidação Lipídica (nmol/mg de proteína)					
TBARS	1,51±0,24 ^{bc}	1,37±0,13 ^c	1,43±0,16 ^c	2,47±0,41 ^a	1,92±0,31 ^{ab}

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n = 8/grupo). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p<0,05). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal. SOD: enzima superóxido desmutase; GPx: enzima glutational peroxidase; GR: enzima glutational redutase; CAT: enzima catalase; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Nota-se aumento na atividade das enzimas CAT e GPx nos grupos tratados com OSU nas duas doses, se comparados ao grupo tratado com ODS. Estes resultados foram acompanhados pelo aumento da suscetibilidade à peroxidação lipídica no tecido (Tabela 5.7).

5.4.6 Tecido hepático: uma avaliação da peroxidação lipídica, da atividade das enzimas antioxidantes e das citocinas inflamatórias

A maior suscetibilidade à peroxidação lipídica, observada no soro para os animais do grupo OSU3, não foi verificada no tecido hepático (Tabela 5.8). Com o tratamento, não se verificaram diferenças significativas na atividade antioxidante deste tecido.

O tratamento com os óleos de semente uva e soja promoveu maior atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx, quando comparado ao controle. Em relação à enzima CAT, apenas para os grupos ODS6 e OSU3 foi exibida maior atividade. Comportamento dose-dependente foi verificado para as enzimas SOD e CAT nos animais tratados com ODS – o que não foi acompanhado pelos animais suplementados com OSU (Tabela 5.8).

No que diz respeito aos marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-1 β , CINC-2a e MIP-3), verificou-se que o tratamento crônico com óleo de semente de uva, independentemente da dose, não foi capaz de mudar a concentração desses parâmetros (Tabela 5.8).

Porém, verifica-se que os grupos OSU3 e OSU6 possuíram maiores valores para as razões TNF- α /IL-4 e IL6/IL4 do que o controle. Quanto à razão IL-1 β /IL-10, verificou-se depleção no grupo ODS3 em relação ao controle, mas estatisticamente igual aos demais grupos (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 Efeito da dieta na atividade antioxidante e na atividade de enzimas antioxidantes do tecido hepático e marcadores inflamatórios em ratos alimentados com óleos de semente de uva (OSU) e soja (ODS) por 65 dias.

	C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
Atividade Antioxidante (mmol ET/mg de proteína)					
ORAC	667,53±93,74 ^{ab}	787,37±263,91 ^{ab}	881,70±127,18 ^a	772,49±231,79 ^{ab}	630,69±80,01 ^b
Enzimas antioxidantes					
SOD (U/mg)	77,38±10,19 ^c	95,67±15,54 ^b	109,43±6,93 ^a	104,04±5,75 ^{ab}	98,49±5,46 ^{ab}
GPx (U/μg)	19,34±3,31 ^b	23,69±4,44 ^{ab}	27,75±4,60 ^a	27,98±2,79 ^a	25,38±2,68 ^a
GR (U/μg)	5,94±0,41	6,41±1,13	5,53±0,68	6,36±1,20	5,85±0,78
CAT (U/mg)	374,77±58,68 ^c	448,91±57,31 ^{bc}	635,63±80,09 ^a	562,98±87,61 ^{ab}	489,47±96,68 ^{bc}
Peroxidação Lipídica (nmol/mg de proteína)					
TBARS	0,25±0,08	0,24±0,03	0,27±0,03	0,25±0,06	0,28±0,04
Marcadores inflamatórios (μg/mg de proteína)					
TNF-α	40,12±6,84	45,12±4,62	42,74±9,52	43,59±9,86	46,36±11,74
IL-6	215,93±36,51	260,26±79,53	213,80±47,89	238,73±73,41	283,25±66,23
IL-4	51,03±14,65 ^a	39,98±9,43 ^{ab}	35,72±7,65 ^b	38,58±8,98 ^{ab}	38,93±4,95 ^{ab}
IL-10	226,42±43,89	287,12±85,35	236,66±41,46	263,93±77,46	249,57±65,22
IL-1β	233,14±50,75	201,14±46,51	194,39±22,81	209,53±69,76	200,59±30,10
CINC-2a	165,24±27,46	131,57±8,52	138,81±22,24	148,43±43,96	139,02±18,19
MIP-3	76,68±16,60	66,99±14,57	62,88±6,13	63,83±15,41	63,79±6,42
TNF-α/IL-10	0,18±0,04	0,17±0,03	0,18±0,03	0,17±0,02	0,19±0,03
TNF-α/IL-4	0,82±0,17 ^b	1,17±0,15 ^a	1,19±0,32 ^a	1,15±0,23 ^a	1,11±0,15 ^a
IL-1β/IL-10	1,06±0,30 ^a	0,74±0,20 ^b	0,84±0,15 ^{ab}	0,83±0,23 ^{ab}	0,80±0,06 ^{ab}
IL-1β/IL-4	4,66±0,58	4,86±0,50	5,57±0,61	5,37±0,83	5,49±0,87
IL-6/IL-10	0,96±0,11	0,91±0,11	0,91±0,14	0,92±0,18	1,07±0,14
IL-6/IL-4	4,03±0,69 ^b	6,08±1,69 ^{ab}	5,67±1,63 ^{ab}	6,22±1,40 ^a	7,29±1,55 ^a

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n = 8/grupo). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p < 0,05). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal. ORAC: atividade antioxidante pelo método de Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio; SOD: enzima superóxido desmutase; GPx: enzima glutathione peroxidase; GR: enzima glutathione redutase; CAT: enzima catalase; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; TNF-α: fatores de necrose tumoral alfa; IL-6: interleucina 6; IL-4: interleucina 4; IL-10: interleucina 10; IL-1β: interleucina 1 beta; CINC-2a: citocina quimioatrativa de neutrófilos 2a; MIP-3: proteína inflamatória de macrófago.

5.4.7 Tecido adiposo retroperitoneal: análise da expressão gênica de citocinas, histologia e morfometria

Observa-se aumento estatisticamente significativo no diâmetro e no perímetro dos adipócitos dos dois grupos suplementados com OSU, quando comparados aos dois grupos tratados com ODS (Figura 5.2A e 5.2B).

A hipertrofia foi verificada para os grupos ODS6, OSU3 e OSU6. Os valores de diâmetro médio para os três grupos foram de aproximadamente 30, 40 e 41 %, respectivamente. Já os valores de perímetro médio apresentaram 25, 38 e 40 %, respectivamente. Os grupos C e ODS3 não apresentaram diferença estatística entre si.

O tratamento com o óleo de semente de uva não interferiu na expressão gênica dos marcadores TNF- α , F4/80, IL-6 e dos hormônios leptina e adiponectina. Por outro lado, diferença estatística foi verificada apenas para a maior expressão da citocina IL-1 β no grupo OSU3, quando comparado ao grupo ODS6; porém, ambos foram similares ao grupo controle (Figura 5.3).

Figura 5.2 Diâmetro (a) e perímetro (b) médios dos adipócitos após tratamento por 65 dias. Imagem representativa dos adipócitos (resolução 100x) (c, d, e, f) do tecido adiposo retroperitoneal. Resultados expressos em média $\pm$ DP ($n = 4/\text{grupo}$). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal.

Figura 5.3 Expressão de genes ligados a parâmetros inflamatórios (a) TNF- α , (b) F4/80, (c) IL-6, (d) IL-1 β , (e) adiponectina e (f) leptina no tecido adiposo retroperitoneal de ratos tratados por 65 dias. Resultados expressos em média $\pm$ EPM (n = 8/grupo). Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p < 0,05). Onde C: grupo controle, ODS: óleo de soja (grupo isocalórico) e OSU: óleo de semente de uva (grupo tratado), nas concentrações 3 e 6 mL/Kg. A dose em mL foi administrada através do cálculo em função do peso em Kg de animal. TNF- α : fatores de necrose tumoral alfa; F4/80: homólogo em rato para o fator de crescimento epidérmico 1 em humanos, IL-6: interleucina 6; IL-1 β : interleucina 1 beta.

Quadro 5.2 Resumo das relações entre dietas suplementadas com óleo de semente de uva e soja em ratos *Wistar* durante 65 dias.

	OSU3 vs ODS3	OSU3 vs OSU6	OSU6 vs ODS6
Consumo médio de AL	↑	↓	↑
TBARS soro	↑	-	↑
IL-6 soro	↑	-	-
TNF- α soro	↑	-	-
AGPIs n-3 fígado	-	-	↓
n-6/n-3 fígado	↑	↓	↑
CAT fígado	-	-	↑
ORAC fígado	-	-	↓
SOD coração	-	-	↑
GPx coração	↑	-	↑
GR coração	↑	-	↑
CAT coração	↑	-	-
TBARS coração	↑	-	↑
Peso relativo tecido adiposo	-	↓	-
AGPIs n-3 tecido adiposo	↓	-	↓
n-6/n-3 tecido adiposo	↑	↓	↑
C18:0/C18:1 tecido adiposo	-	-	↑
Diâmetro adipócito	↑	-	↑
Perímetro adipócito	↑	-	↑

5.5 Discussão

Em geral, pôde-se observar, no presente trabalho, que os animais suplementados com óleo de semente de uva apresentaram aumento do peso final do tecido adiposo retroperitoneal, com a incorporação do AL, e hipertrofia dos adipócitos. Foram verificados, também, aumento na peroxidação lipídica sérica, elevação das enzimas antioxidantes endógenas do tecido hepático e depleção da atividade antioxidante total avaliada pelo método ORAC. No tecido cardíaco, foi observado aumento na peroxidação lipídica, acompanhado da elevação na atividade das enzimas antioxidantes CAT e GPx. Estes resultados foram comparados com os dos animais que foram suplementados com óleo de soja. Podemos, assim, inferir que o óleo de semente de uva afetou de forma significativa importantes parâmetros avaliados; portanto, deve-se ter cautela com o seu consumo.

Para ambos os óleos, o AL destaca-se como ácido graxo majoritário, sendo que o OSU revela-se com mais de 70 % deste AG essencial da família n-6 presente em sua composição. Os óleos vegetais são fontes alimentares de fitosteróis (ENNOURI et al., 2006), sendo que, no presente estudo, o ODS apresentou concentrações superiores ao OSU.

As concentrações de cada isômero de vitamina E, em ambos os óleos, foram bem distintas e, por consequência, a razão $\gamma(T/T3)$ foi 59/1 e 1/920 para ODS e OSU, respectivamente. O OSU apresentou, como isômero majoritário, o γ -tocotrienol e o ODS apresentou o γ -tocoferol.

A maior presença de tocoferóis no ODS se refletiu diretamente no elevado conteúdo de vitamina E oferecido pela suplementação; de modo que, quanto maior era o consumo de OSU pelos animais, menor era o conteúdo de vitamina E obtido da dieta.

Os animais suplementados na maior dose de óleos de soja e de semente de uva (grupos ODS6 e OSU6, respectivamente) atingiram porcentagem de lipídios na dieta de aproximadamente 9 %, o que correspondeu a 21,63 % de aporte energético em relação à ingestão de gordura. Para os animais suplementados na menor dose (ODS3 e OSU3), este valor foi aproximado de 6 % (16,06 % de aporte energético em gordura). Constata-se, portanto, que a quantidade ofertada de gordura aos animais não

modificou a característica normolipídica da dieta, que é definida por conteúdo inferior a 30 % de energia proveniente da gordura da dieta (HARIRI; THIBAUT, 2010).

Foi possível observar que houve mudança no comportamento alimentar (avaliado pelo cálculo do CEA) dos grupos suplementados com maior dose dos dois óleos (ODS6 e OSU6). Porém, não foi significativo a ponto de interferir no ganho de peso dos animais. Resultados similares foram encontrados para animais submetidos à dieta com óleos de milho e de algodão e suas respectivas misturas (RADCLIFFE et al., 2001), óleo de peixe (HOSOMI et al., 2013) e óleo de soja (KAWABATA et al., 2013).

Ao avaliar os parâmetros bioquímicos no soro, foi possível verificar que somente o grupo suplementado com ODS6 apresentou menor concentração de LDL-colesterol sérico, em relação ao grupo OSU3 (Tabela 5.6). Uma possível explicação para este fato reside no maior conteúdo de fitosteróis no ODS, o que equivale aproximadamente 60 % a mais de fitosteróis do que no OSU. É conhecido o efeito benéfico dos fitosteróis em prevenir ou retardar o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, por interferência na absorção de colesterol (ENNOURI et al., 2006; LAAKSO, 2005).

Kim et al. (2010), estudando os óleos de semente de uva e soja (8 g/100 g de ração) por 32 dias, verificaram que o OSU promoveu significativa redução do colesterol plasmático em ratos, quando comparado ao óleo de soja. Além disso, Asadi, Shahriari e Chahardah-Cherik (2010) investigaram o efeito *long-term* em ratos com opcional ingestão de óleos durante 10 semanas utilizando, inclusive, o óleo de semente de uva. Os autores verificaram significativa diminuição nos níveis de TAG do fígado após ingestão opcional do OSU pelos animais. Deve-se ressaltar que, para estes dois estudos, foram utilizadas doses superiores à administrada no presente estudo, sendo possível observar alterações nestes parâmetros.

Em relação à atividade das enzimas relacionadas ao dano hepático (ALT e AST), não foram verificadas diferenças estatísticas significativas nas concentrações séricas, indicando que a administração do OSU e do ODS não comprometeu o metabolismo hepático destes animais durante todo o período de tratamento. Da mesma forma, este comportamento foi também observado por Tso et al. (2012), que verificaram que 10 % da adição de óleo de cártamo

na dieta, por 90 dias em ratos, não conferiram alterações nos parâmetros dessas enzimas.

Foi observado, no presente trabalho, que o aporte energético dos grupos de maior dose de óleo (21,63 % calorias), assim como o excesso de C18:2 obtido da dieta rica em OSU e ODS, não alteraram a homeostase dos níveis plasmáticos de glicose em jejum e quando submetidas à sobrecarga de glicose (teste oral de tolerância à glicose).

Torres-Leal et al. (2011) discutiram sobre a relação entre AG da dieta com a sensibilidade à insulina e concluíram que a alteração do metabolismo da glicose está diretamente relacionada ao tempo de exposição à dieta, ao tipo e a quantidade do ácido graxo majoritário oferecida aos animais. Bautista et al. (2014) avaliaram a concentração de glicose em jejum sérica e também não verificaram alteração neste parâmetro para os ratos suplementados com óleo de canola (elevado teor de ácidos oleico e linoleico) por 10 semanas.

Pode-se observar que a razão n-6/n-3 tecidual aumentou significativamente nos animais tratados com maior dose de óleo de semente de uva (OSU6), tanto no tecido hepático como no tecido adiposo retroperitoneal (Tabelas 5.4 e 5.5). Notadamente, foi verificado aumento na incorporação do AL (C18:2) no tecido adiposo retroperitoneal para o grupo OSU6 quando comparado ao ODS3. Este ácido graxo, quando incorporado, em decorrência de seu uso na cadeia dos eicosanoides pela via n-6, é submetido à ação de enzimas elongases e dessaturases, formando, assim, o ácido araquidônico (C20:4) (PATTERSON et al., 2012). Porém, não foi possível observar relação da maior incorporação de C18:2 com o aumento do C20:4 pelos animais.

Em relação ao ácido graxo linolênico (C18:3, n-3), nos grupos tratados com a maior dose de óleo de soja (ODS6), foi observada maior incorporação no tecido hepático. Isso se deve ao AG estar presente em concentração 55,26 % maior no óleo de soja do que no óleo de semente de uva.

A menor incorporação do ácido linolênico nos grupos suplementados com OSU teve como consequência a diminuição de forma significativa nos teores dos ácidos C22:5 n-3 e C22:6 n-3 (DHA), sugerindo que isto ocorra por serem AG resultantes da metabolização via cadeia de eicosanoides da família n-3. Por outro lado, os grupos administrados com ODS, nas duas doses, foram capazes de manter as concentrações desses AG da família n-3. Importante

constatação se faz devido DHA e EPA serem AG reconhecidos pelo efeito anti-inflamatório (TSUDUKI et al., 2011).

O tecido hepático é um importante órgão que participa do metabolismo lipídico e, por isso, é sensível às mudanças na composição lipídica tecidual promovida por dieta baseada em diferentes fontes lipídicas (HASSAN et al., 2014). Foi observada maior incorporação do ácido graxo essencial linoleico (C18:2, n-6) nos dois grupos tratados com a maior dose dos óleos (OSU6 e ODS6). Para o AA (C20:4, n-6), houve aumento significativo na incorporação para as duas doses de óleo de semente de uva (OSU3 e OSU6). Diferença foi encontrada no produto final da cadeia dos eicosanoides, o ácido docosapentaenoico da série n-6 (C22:5), para os dois grupos tratados com óleo de uva nas duas doses (OSU3 e OSU6), quando comparado ao grupo ODS6, resultado da maior incorporação de AL (n-6) no tecido destes animais.

Matsuda e Shimomura (2013) postularam que a maior incorporação de AL e AA nos tecidos pode causar peroxidação lipídica e inflamação, que podem estar associadas à superexpressão de citocinas, ao metabolismo lipídico e ao conteúdo de adipócitos. No presente estudo, a inclusão de OSU na dieta dos ratos, independentemente da dose, afetou a susceptibilidade à peroxidação lipídica sérica, medida por TBARS. Porém, não foi possível verificar diferença estatística nestes valores no tecido hepático, tanto dos animais suplementados com OSU quanto com ODS.

A relação entre o AL e AA com a maior suscetibilidade à peroxidação lipídica refere-se ao número de insaturações presentes nestes AG. Uma vez que haja formação de ERO na fase inicial da oxidação, uma reação em cadeia desenvolve-se até formação do produto final da peroxidação lipídica, conhecido como malonaldeído (MDA) (WILLIAMS; BUTTRISS, 2006).

O aumento dos teores de TBARS, após consumo de dieta rica em AGPI, também foi verificado por Tsuduki et al. (2011), que avaliaram o efeito da peroxidação lipídica em camundongos suplementados com óleo de girassol e peixe; assim como Haggag, Elsanhoty e Ramadan (2014), que verificaram que a inclusão de 7 % de óleos de girassol e milho, ricos em AL, aumentou significativamente os valores de peroxidação lipídica após tratamento.

No tecido cardíaco dos animais dos grupos tratados com OSU, independentemente da dose, verificou-se maior suscetibilidade à peroxidação

lipídica, acompanhada de maior atividade das enzimas antioxidantes CAT e GPx. Correlações moderadas e positivas dos valores de TBARS com as enzimas GR ($r=0,577$; $p=0,000$), GPx ($r=0,637$; $p=0,000$) e CAT ($r=0,673$; $p=0,000$) do tecido cardíaco foram observadas. Isso sugere que, no intuito de evitar todo processo oxidativo gerado pela incorporação de AL, o organismo age prontamente, através da indução da ação de mecanismo de defesa antioxidante endógeno (GR, GPx e CAT), a fim de anular o aumento dos produtos da peroxidação lipídica (VALKO et al., 2007).

São encontrados relatos na literatura que correlacionam a peroxidação lipídica com a atividade das enzimas antioxidantes endógenas em ratos. No estudo de Reena e Lokesh (2011) com óleos de coco, gergelim e arroz (e as misturas de seus interesterificados), os autores observaram maior susceptibilidade à peroxidação lipídica na proporção do número de insaturações presentes nos óleos e no consequente aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT em ratos, na intenção de anular o efeito da peroxidação lipídica acarretada.

Um importante parâmetro também de estudo do estresse oxidativo nos animais é a avaliação da atividade antioxidante, que é uma ação acumulativa de todos os antioxidantes presentes no organismo, o que providencia uma análise do delicado balanço entre oxidantes e antioxidantes (VALKO et al., 2007). Deste modo, foi observada a diminuição na atividade antioxidante no fígado dos ratos suplementados com óleo de semente de uva com maior aporte energético (OSU6) quando comparado ao grupo ODS6; ou seja, sugere-se que, diferentemente do que ocorreu para o ODS, os compostos minoritários presentes no OSU não foram capazes de estimular e/ou providenciar a melhora do quadro homeostático antioxidante destes animais, não conferindo, assim, proteção ao fígado após maior incorporação de AL.

Existem relatos na literatura sobre as contradições relacionadas com o consumo de OSU, que tanto pode agir no aumento (HURTADO DE CATALFO; ALANIZ; MARRA, 2013) como na depleção (KIM et al., 2010) das defesas antioxidantes do organismo, e fica claro que a indução do estresse oxidativo do OSU dependerá de sua própria estabilidade intrínseca, que está relacionada

diretamente ao conteúdo de compostos minoritários antioxidantes presentes no óleo.

Outros trabalhos evidenciaram o efeito de micronutrientes (como as vitaminas) na estabilidade de óleos vegetais, como o caso de Khan et al. (2010), que verificaram que o óleo de arroz possuía consideráveis concentrações de tocoferóis e tocotrienóis. Devido à presença desses importantes antioxidantes naturais, este óleo tem sido recomendado para desordens metabólicas, como doenças coronarianas, diabetes, obesidade e hipertensão.

Porém, foi verificado, para o presente estudo, que, apesar da elevada concentração do isômero γ -tocotrienol no OSU, este não foi capaz de manter a atividade antioxidante total dos animais ao nível basal. Com isso, os animais apresentaram elevado teor de TBARS no tecido cardíaco, acompanhado do aumento das enzimas antioxidantes CAT e GPx.

Em relação ao conteúdo das citocinas, foi observado, no presente estudo, que poucas alterações ocorreram com a administração do OSU e do ODS. Foi observada depleção na concentração da citocina IL-4 no fígado dos animais suplementados com ODS6, sugerindo menor quadro pró-inflamatório, quando comparado aos teores basais apresentados pelos animais do grupo controle; porém, não foi verificada diferença com os demais grupos tratados. A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória secretada pelos linfócitos, especificadamente o do tipo Th2 (linfócito T-helper 2), atuando na resposta imune celular. Mesmo sabendo que a produção da IL-4 está relacionada diretamente à inibição de macrófagos, não foi observada correlação entre a IL-4 e a expressão de F4/80 no tecido adiposo retroperitoneal.

Os demais parâmetros inflamatórios avaliados no tecido hepático não sofreram alterações após suplementação com os dois óleos (Tabela 6.8). O presente estudo corrobora dados observados por Jangale et al. (2013), que estudaram o efeito na expressão gênica de TNF- α e IL-6 em ratos saudáveis tratados com 10 % de óleos de linhaça e de peixe na ração e não verificaram alterações nesses parâmetros inflamatórios após 35 dias de tratamento.

No soro dos animais tratados, não foi observado comportamento dose-dependente nos parâmetros inflamatórios. No entanto, ocorreu aumento das citocinas TNF- α e IL-6 no grupo OSU3 em relação ao grupo ODS3, não

ocorrendo diferença entre os grupos administrados com a maior dose dos óleos (Tabela 6.6). Sugere-se, assim, que o consumo de OSU na menor dose aumentou a resposta pró-inflamatória em ratos. Estes resultados corroboram aqueles encontrados por Masi et al. (2012), que avaliaram o efeito nas concentrações de TNF- α e IL-6 no fígado de camundongos C57BL/6 com suplementação de óleo de girassol (rico em AL, aproximadamente 70 % da composição de AG) na dose de 2 g/Kg de peso corpóreo, 3 vezes na semana, por 12 semanas, e observaram diferença estatística entre os grupos nas concentrações da citocina IL-6, porém não verificaram aumento com a citocina TNF- α .

Com o aumento de ácidos graxos provenientes da dieta, o organismo tem duas alternativas: aumentar o gasto energético ou o acúmulo (por hipertrofia e/ou hiperplasia) dos órgãos estoque (SIRIWARDHANA et al., 2013). Com isso, foi possível observar, no presente estudo, diferença estatística do peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal dos grupos ODS6 e OSU6 em relação aos demais grupos. Adicionalmente, foi visto aumento do diâmetro dos adipócitos, em torno de 15 %, para os grupos OSU6, em relação ao grupo ODS6. Vale ressaltar que a hipertrofia apresentada pelos adipócitos demonstra pior quadro inflamatório do que quando comparado ao aumento do peso relativo do tecido (adiposidade) (VIRTUE; VIDAL-PUIG, 2008), corroborando o estudo de Bautista et al. (2014), que também verificaram o aumento do tecido adiposo após o consumo elevado de óleo de canola por 10 semanas.

Vale salientar que o aumento no depósito da gordura localizada na região visceral (retroperitoneal) está diretamente associado ao risco de comorbidades, como doenças cardiovasculares, hipertensão, dislipidemia, inflamação, diabetes do tipo 2 e alguns tipos de câncer (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013).

Os achados do presente estudo, sugerem que o ODS e o OSU geram maior adiposidade corporal no coxim retroperitoneal e que o AL presente no coxim retroperitoneal foi correlacionado moderadamente com o diâmetro ($r=0,489$; $p=0,001$) e o perímetro ($r=0,507$; $p=0,001$) dos adipócitos. Este efeito deve-se principalmente à via de formação do AA, que estimula a diferenciação/proliferação dos adipócitos (MUHLHAUSLER et al., 2010).

Assim, os maiores diâmetro e perímetro dos adipócitos correlacionaram-se também de maneira forte e positiva com a quantificação da citocina IL-6 no soro dos animais ($r=0,964$; $p=0,008$ e $r=0,974$; $p=0,005$, respectivamente), confirmando que a hipertrofia dos adipócitos está ligada à infiltração de macrófagos no tecido adiposo e à secreção de proteínas pró-inflamatórias (RAPHAEL; SORDILLO, 2013).

A infiltração de macrófagos é considerada a principal causa de inflamação no tecido adiposo, sendo a expressão gênica de F4/80 um marcador desse processo (SORISKY; MOLGAT; GAGNON, 2013). Porém, no presente estudo, não foi observada diferença estatística entre os grupos tratados para este marcador (Figura 5.3). Possivelmente, o processo não tenha ocorrido por ordem temporal, ou seja, com maior tempo de exposição dos animais à dieta poderia terem sido observadas alterações nos parâmetros inflamatórios, característica de uma inflamação de baixo grau, como observado em ratos obesos (TORRES-LEAL et al., 2011; CINTRA et al., 2006).

Em resumo, vê-se, para os parâmetros inflamatórios propostos para análise, que não foram dose-dependente para ambos os óleos e não foram observadas alterações no perfil sérico e tecidual hepático e na expressão do coxim retroperitoneal.

5.6 Conclusões

- Pode-se identificar que, apesar da elevada carga lipídica oferecida aos animais, não foram observadas mudanças nos parâmetros bioquímicos e nos marcadores pró-inflamatórios avaliados no soro dos animais tratados com óleo de semente de uva prensada a frio.
- O tratamento com óleo de semente de uva resultou em maior incorporação de gordura no tecido hepático; por conseguinte, no tecido adiposo, verificou-se maior incorporação do ácido linoleico nos animais suplementados. Foi observado também aumento dos valores de TBARS sérico, o qual está relacionado com o maior aporte dos ácidos graxos poli-insaturados, mais suscetíveis à oxidação.
- Para os animais suplementados com óleo de semente de uva, foi observado no tecido hepático aumento da enzima antioxidante catalase. Já no tecido cardíaco, foi observado aumento da suscetibilidade à peroxidação lipídica, acompanhado da elevação da atividade das enzimas antioxidantes catalase e glutathione peroxidase e da consequente redução da atividade antioxidante total nestes animais.
- Pode-se observar, no coxim retroperitoneal, hipertrofia dos adipócitos de ratos suplementados com óleo de semente de uva, nas duas doses; porém, não acompanhada de aumento da expressão das proteínas inflamatórias.

5.7 Referências

ALVHEIM, A. R.; TORSTENSEN, B. E.; LIN, Y. H.; LILLEFOSSE, H. H.; LOCK, E. J.; MADSEN, L.; HIBBELN, J. R.; MALDE, M. K. Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-arachidonoylglycerol and anandamide in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and mice, and induces weight gain and inflammation in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 8, p. 1508-1517, 2013.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5 ed. Champaign: Editor of Analytical Methods, 2004.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis**, Arlington, Official Method, 2002.

ASADI, F., SHAHRIARI, A., POURKABIR, M., MACLAREN, R. Short and long-term effect of corn oil on serum lipid and lipoprotein and visceral abdominal fat pad parameters of rats. **Journal of Food Lipids**, v. 15, n. 1, p. 68-80, 2008.

ASADI, F.; SHAHRIARI, A.; CHARHARDAH-CHERIC, M. Effect of long-term optional ingestion of canola oil, grape seed oil, corn oil and yogurt butter on serum, muscle and liver cholesterol status in rats. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2454-2457, 2010.

BAUTISTA, R.; CARREÓN-TORRES, E.; LUNA-LUNA, M.; KOMERA-ARENAS, Y.; FRANCO, M.; FRAGOSO, J. M.; LÓPZ-OLMOS, V.; CRUZ-ROBLES, D.; VARGAS-BARRÓN, J.; VARGAS-ALARCÓN, G.; PÉREZ-MÉNDEZ, O. Early endothelial nitrosylation and increased abdominal adiposity in Wistar rats after long-term consumption of food fried in canola oil. **Nutrition**, v. 30, n. 9, p. 1055-1060, 2014.

BEUTLER, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. Grune & Straton, 1975, New York.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of

microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n. 1-2, p.677-685, 1985.

BUETTNER, R.; PARHOFER, K. G.; WOENCKHAUS, M.; WREDE, C. E.; KUNZ-SCHUGHART, L. A.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 36, n. 3, p. 485-501, 2006.

CALDER, P. C. Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, n. 1, p. 550-558, 2011.

CALDER, P. C.; GRIMBLE, R. F. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 3, p. S14-S19, 2002.

CATTA-PEDRA, M.; MARTINS, M. A.; BRUNINI, T. M. C.; MENDES-RIBEIRO, A. C.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; AGUILA, M. B. Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets. **Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 212-219, 2012.

CHOI, Y.; LEE, J. Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction from grape seeds. **Food Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 1386-1390, 2009.

CINTRA, D. E.; COSTA, A. V.; PELUZIO, M. C.; MATTA, S. L.; SILA, M. T.; COSTA, N. M. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 197-205, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standart for named vegetable oils. **Codex STAN 210-1999**. 2001

COVAS, M. I.; KONSTANTINIDOU, V.; FITÓ, M. Olive Oil and Cardiovascular Health. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 54, n. 6, p. 477-482, 2009.

CREWS, C.; HOUGH, P.; GODWARD, J.; BRERETON, P.; LEES, M.; GUIET, S.; WINKELMANN, W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6261-6265, 2006.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Radicais livres, estresse oxidativo e diabetes. **Diabetes Clínica**, v. 5, n. 5, p. 355-361, 2002.

DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; RENNE, U.; NUERNBERG, K.; LANGHAMMER, M.; HUBER, K.; BREIER, B. High-fat diets rich in ω -3 or ω -6 polyunsaturated fatty acid have distinct effects on lipid profiles and lipid peroxidation in mice selected for either high body weight or leanness. **Nutrition**, v. 29, n. 5, p. 765-771, 2013.

de CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 2, p. 304-312, 2006.

ENNOURI, M.; FETOUI, H.; BOURRET, E.; ZEGHAL, N.; ATTIA, H. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 12, p. 1382-1386, 2006.

FUKUYAMA, N.; HOMMA, K.; WAKANA, N.; KUDO, K.; SUYAMA, A.; OHAZAMA, H.; TSUJI, C.; EGUCHI, Y.; NAKAZAWA, H.; TANAKA, E. Validation of the Friedewald Equation for Evaluation of Plasma LDL-Cholesterol. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 1-5, 2008.

GOMEZ-ZORITA, S.; FERNÁNDEZ-QUINTELA, A.; LASA, A.; HIJONA, E.; BUJANDA, L.; PORTILLO, M. P. Effects of resveratrol on obesity-related inflammation markers in adipose tissue of genetically obese rats. **Nutrition**, v. 29, n. 11-12, p. 1374-1380, 2013.

HAAST, R. A. M.; KILIAAN, A. J. Impact of fatty acids on brain circulation, structure and function. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, 2014 (IN PRESS) <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2014.01.002i>

HAGGAG, M. E. S. Y. E. S.; ELSANHOTY, R. M.; RAMADAN, M. F. Impact of dietary oils and fats on lipid peroxidation in liver and blood of albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 4, n. 1, p. 52-58, 2014.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 270-299, 2010.

HASSAN, W.; DING, L.; GAO, R. Y.; SHANG, J. Interleukin-6 signal transduction and its role in hepatic lipid metabolic. **Cytokine**, v. 66, n. 2, p. 133-142, 2014.

HIRAI, S.; TAKAHASHI, N.; GOTO, T.; LIN, S.; UEMURA, T.; YU, R.; KAWADA, T. Functional Food Targeting the Regulation of Obesity-Induced Inflammatory Responses and Pathologies. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 8, 2010.

HOSOMI, R.; FUKUNAGA, K.; ARAI, H.; KANDA, S.; NISHIYAMA, T.; YOSHIDA, M. Effect of combination of dietary fish protein and fish oil on lipid metabolism in rats. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 266-274, 2013.

HOUDE, V. P.; BRÛLÉ, S.; FESTUCCIA, W. T.; BLANCHARD, P. G.; BELLMANN, K.; DESHAIES, Y.; MARETTE, A. Chronic Rapamycin Treatment causes glucose intolerance and hyperlipidemia by Upregulating hepatic gluconeogenesis and impairing lipid deposition in adipose tissue. **Diabetes**. 2010;59(6):1338-1348. doi: 10.2337/db09-1324.

HURTADO DE CATALFO, G. E.; ALANIZ, M. J. T.; MARRA, C. A. Dietary lipid-induced changes in enzymes of hepatic lipid metabolism. **Nutrition**, v. 29, n. 2, p. 462-469, 2013.

ISO, H.; SATO, S.; UMEMURA, U.; KUDO, M.; KOIKE, K.; KITAMURA, A.; IMANO, H.; OKAMURA, T.; NAITO, Y.; SHIMAMOTO, T. Linoleic Acid, Other Fatty Acids, and the Risk of Stroke. **Stroke: Journal of the American Heart Association**, v. 33, p. 2086-2093, 2002.

KAWABATA, T.; SHIMODA, K.; DOMON, M.; HAGIWARA, C.; TAKIWAMA, M.; KAGAWA, Y. Influences of stearidonic acid-enriched soybean oil on the blood and organ biochemical parameters in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 88, n. 2, p. 179-184, 2013.

KHALIFA, F. K.; KHALIL, F. A.; BARAKAT, H. A.; HASSAN, M. M. Protective role of wheat germ and grape seed oils in Chlorpyrifos-Induced oxidative stress, biochemical and histological alterations in liver of rats. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 10, p. 54-66, 2011.

KHAN, H. N.; FAROOQI, H.; ALI, S.; KHAN, J. S. Serum lipid profile and retinol in rats fed micronutrient rich edible vegetable oil blend. **European Bioscience**, v. 2, n. 3, p. 109-115, 2010.

KIM, D. J.; JEON, G.; SUNG, J.; OH, S. K.; HONG, H. C.; LEE, J. Effect of grape seed oil supplementation on plasma lipid profile in rats. **Food Science Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 249-252, 2010.

LAAKSO, P. Analysis of sterol from various food matrices. **European Journal of Lipids Science and Technology**, v. 107, n. 6, p. 402-410, 2005.

LI, G.; SINGH, A.; LIU, Y.; SUNDERLAND, B.; LI, D. Comparative effects of sandalwood seed oil on fatty acid profiles and inflammatory factors in rats. **Lipids**, v. 48, n. 2, p. 105-113, 2013.

LUOSTARINEN, R. L.; LAASONEN, K.; CALDER, P. C. α -tocopherol concentrations, lipid peroxidation and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rat heart and liver after feeding stabilized and unstabilized fish oil. **Nutrition Research**, v. 21, n. 12, p. 1529-1544, 2001

MASI, L. N.; MARTINS, A. R.; ROSA NETO, J. C.; AMARAL, C. L.; CRISMA, A. R.; VINOLO, M. A. R.; LIMA JÚNIOR, E. A.; HIRABARA, S. M.; CURI, R. Sunflower oil supplementation has proinflammatory effects and does not

reverse insulin resistance in obesity induced by high-fat diet in C57BL/6 mice. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v 2012, p. 1-9, 2012.

MCCORD, J. M. e FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: An enzymic functional for erythrocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, 1969

MIYAZAWA, T.; SHIBATA, A.; SOOKWONG, P.; KAWAKAMI, Y.; EITSUKA, T.; ASAI, A.; OIKAWA, S.; NAKAGAWA, K. Antiangiogenic and anticancer potential of unsaturated vitamin E (tocotrienol). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 2, p. 79–86, 2009.

MOHAMED, A. I.; HUSSEIN, A. S.; BHATHENA, S. J.; HAFEZ, Y. S. The effect of dietary menhaden, olive, and coconut oil fed with three levels of vitamin E on plasma and liver lipids and plasma fatty acid composition in rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 7, p. 435-441, 2002.

MUHLHAUSLER , B. S.; COOK JOHSON, R.; JAMES, M.; MILJKOVIC, D.; DUTHOIT, E.; GIBSON, R. Opposing Effects of Omega-3 and Omega-6 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids on the Expression of Lipogenic Genes in Omental and Retroperitoneal Adipose Depots in the Rat. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2010, n. 1, p. 1-9, 2010.

NESARETNAM, K., AMBRA, R., SELVVADURAY, K. R., RADHAKRISHNAN, A., CANALI, R., & VURGILI, E. Tocotrienol-rich fraction from palm oil and gene expression in human breast cancer cells. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1031, p. 143–157, 2004.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAOI, K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by thiobarbituric Acid Reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

PACKER, L.; FUCHS, J. **Vitamin E health and disease**. New York: Marcel Dekker, 1993.

PARKER, R. A.; PEARCE, B. C.; CLARCK, R. W.; GORDON, D. A.; WRIGHT, J. J. K. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A

reductase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 15, p. 11230-11238, 1993.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health implications of High dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, p. 1-16, 2012.

PENNACCHIOTTI, G. L.; MALDONADO, E. N.; AVELDANÕ, M. I. Major clofibrate effects on liver and plasma lipids are independent of changes in polyunsaturated fatty acid composition induced by dietary fat. **Lipids**, v. 36, n. 2, p. 121-127, 2001.

POTTEIGER, J. A.; JACOBSEN, D. J.; DONNELLY, J. E. A comparison of methods for analyzing glucose and insulin areas under the curve following nine months of exercise in overweight adults. **International Journal of Obesity**, v. 26, n. 1, p. 87-89, 2002.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273-3279, 2003.

RADCLIFFE, J. D.; KING, C. C.; CZAJKA-NARINS, D. M.; IMRHAN, V. Serum and liver lipids in rats fed diets containing corn oil, cottonseed oil, or a mixture of corn and cottonseed oils. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 51-60, 2001.

RAMADAN, M. F.; MORSEL, J. T. Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 46, n. 4, p. 240-244, 2002.

RAMALHO, R.; GUIMARÃES, C. Papel do tecido adiposo e dos macrófagos no estado de inflamação crónica associada à obesidade. **Implicações clínicas**, v. 21, p. 489-496, 2008.

RAPHAEL, W.; SORDILLO, L. M. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammation: the role of phospholipid biosynthesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 21167-21188, 2013.

REENA, M. B; LOKESH, B. R. Effect of feeding blended and interesterified vegetable oils on antioxidant enzymes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 1, p. 136–143, 2011.

RICCARDI, G.; GIACCO, R.; RIVELLESE, A. A. Review: Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 447-456, 2004.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Fatty acid composition of grape (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) seed oil. **Brazilian Journal of Food Technology**, III SSA, p. 23-26, 2010.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A. M. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 3, p. 1-40, 2013.

SCHAFFER, S.; MULLER, W.E.; ECKERT, G.P. Tocotrienols: constitutional effects in aging and disease. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 2, p. 151–154, 2005.

SIES, H.; KOCH, O. R.; MARTINO, E.; BOVERIS, A. Increased Biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. **FEBS LETTERS**, v. 103, n. 2, p. 287-290, 1979.

SIMIPOULOS, A. P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 233, n. 6, p. 674-688, 2008.

SIRIWARDHANA, N.; KALUPAHANAB, M. C.; LEMIEUXA, M.; GREERD, B.; MOUSTAID-MOUSSAA, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 613–623, 2013.

SORISKY, A.; MOLGAT, A. S.; GAGNON, A. Macrophage-induced adipose tissue dysfunction and the preadipocyte: should I stay (and differentiate) or should I go? **Advances Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 67-75, 2013.

TERRA, X.; PALLARÉS, V.; ARDEVOL, A.; BLADE, C.; FERNANDEZ-LARREA, J.; PUJADAS, G.; SALVADÓ, J.; AROLA, L.; BLAY, M. Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 4, p. 380-387, 2011.

TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J. P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiological Review**, v. 93, n. 1, p. 359-404, 2012.

TORRES-LEAL, F. L.; FONSECA-ALANIZ, M. H.; TEODORO, G. F. R.; de CAPITANI, M. D.; VIANNA, D.; PANTALEÃO, L. C.; MATOS-NETO, E. M.; ROGERO, M. M.; DONATO JR, J.; TIRAPEGUI, J. Leucine supplementation improves adiponectin and total cholesterol concentrations despite the lack of changes in adiposity or glucose homeostasis in rats previously exposed to a high-fat diet. **Nutrition & Metabolism**, v. 62, n. 8, 2011.

TSO, P.; CADWELL, J.; LEE, D.; BOIVIN, G. P.; DeMICHELE, S. J. Comparison of growth, serum biochemistries and n-6 fatty acid metabolism in rats fed diets supplemented with high-gamma-linolenic acid safflower oil or borage oil for 90 days. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 6, p. 1911-1919, 2012.

TSUDUKI, T.; HONMA, T.; NAKAGAWA, K.; IKEDA, I. MIYAZAWA, T. Long-term intake of fish oil increases oxidative stress and decreases lifespan in senescence-accelerated mice. **Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 334-337, 2011.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, n. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VIRTUE, S.; VIDAL-PUIG, A. It's not how fat you are, it's what you do with it that counts. **PLoS Biology**, v. 6, n. 9, e237, 2008.

WADA, S., SATOMI, Y., MURAKOSHI, M., NOGUCHI, N., YOSHIKAWA, T., NISHINO, H. Tumor suppressive effects of tocotrienol in vivo and in vitro. **Cancer Letters**, v. 229, n. 2, p. 181–191, 2005.

WILLIAMS, C.; BUTTRISS, J. **Health benefits of polyunsaturated fatty acids (PUFAs). Improving the fat content of foods**. Boca Raton: CRC Press, 2006, p.107-140.

6. Considerações finais

Frente ao exposto, pode-se confirmar a alta porcentagem (acima de 70 %) de ácido linoleico e o alto conteúdo de compostos minoritários, como vitamina E, fitosteróis, fenólicos, carotenoides e compostos voláteis, com marcante diferença nas concentrações entre os óleos de semente de uva submetidos ao processo industrial de prensagem a frio e refino.

Em geral, os óleos apresentaram estabilidade oxidativa baixa e considerável atividade antioxidante.

Com a suplementação de ratos saudáveis com óleo de semente de uva prensado a frio, verificou-se incorporação do ácido graxo majoritário nos tecidos hepático e adiposo retroperitoneal dos animais que receberam maior dose do óleo, o que se refletiu diretamente na adiposidade no coxim retroperitoneal dos animais. Estes resultados demonstram alterações nos parâmetros de estresse oxidativo, com o aumento na atividade das enzimas antioxidantes endógenas no fígado e no coração, acompanhado do aumento da peroxidação lipídica nesses animais e da depleção da atividade antioxidante total no tecido hepático; porém, marcadores inflamatórios pouco se alteraram com o tratamento.

Os resultados obtidos indicam a necessidade de outros estudos visando avaliar o óleo de semente de uva em animais induzidos a processo oxidativo e/ou inflamatório, para se inferir sobre as proteínas relacionadas com a inflamação. Podemos, assim, concluir que o óleo de semente de uva afetou de forma significativa importantes parâmetros avaliados e deve se ter cautela com o seu consumo no país.

Apêndices

Perfil de ácidos graxos (AG) no tecido cerebral de ratos tratados com óleo de uva (OSU) e óleo de soja (ODS) durante 65 dias.

AG	Controle	Controle isocalórico		Grupo tratado	
	C	ODS3	ODS6	OSU3	OSU6
<i>Saturados</i>					
C16:0	0,88±0,13	0,87±0,13	0,82±0,08	0,92±0,06	0,91±0,09
C18:0	1,01±0,10	1,02±0,07	0,99±0,09	1,03±0,05	1,06±0,08
C24:0	0,15±0,04	0,14±0,03	0,13±0,04	0,16±0,04	0,16±0,04
<i>Monoinsaturados</i>					
C18:1 9c	1,06±0,14	1,06±0,13	1,09±0,11	1,02±0,14	1,09±0,16
C20:1	0,20±0,05	0,19±0,04	0,17±0,02	0,18±0,08	0,21±0,06
C24:1	0,22±0,06	0,22±0,05	0,20±0,04	0,22±0,05	0,24±0,05
<i>Poli-insaturados</i>					
C20:4 n-6	0,45±0,04	0,39±0,17	0,44±0,08	0,47±0,01	0,48±0,04
C22:6 n-3	0,49±0,04	0,47±0,03	0,50±0,04	0,47±0,04	0,48±0,03
% gordura total	6,19±0,77 ^a	4,41±1,82 ^{bc}	4,33±1,79 ^c	5,00±2,09 ^{abc}	5,74±0,58 ^{bc}

Resultados expressos em média ± desvio-padrão (n=8). *A determinação de gordura foi calculada a partir do triglicerídeo do ácido tridecanóico, que foi utilizado como padrão interno. Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (p<0,05), n.d. = não detectado.

Gráficos sobre efeito no tecido cerebral para atividade das enzimas antioxidantes (a) GPx , (b) SOD e (c) peroxidação lipídica, método TBARS e no tecido renal para a atividade das enzimas antioxidantes (a) CAT, (b) SOD e (c) GPx e (d) TBARS de ratos tratados com óleo de semente de uva (OSU) e óleo de soja (ODS) nas concentrações 3mL/Kg e 6mL/Kg, durante 65 dias.

Tecido Cerebral

Tecido Renal

Anexos

- Anexo 1** Parecer da comissão de ética no uso de animais
- Anexo 2** Rótulo ração animal
- Anexo 3** Currículo Lattes
- Anexo 4** Fcha do aluno

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

Ofício CEUA/FCF/82/2011

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo Certifica que o Projeto "Estudo dos compostos bioativos presentes no óleo virgem de semente de uva e seu efeito sobre marcadores bioquímicos e de estresse oxidativo em ratos" (Protocolo CEUA/FCF/332), de responsabilidade da pesquisadora **Fernanda Branco Shinagawa** sob a orientação do Prof. Dr. Jorge Mancini Filho, está de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e foi APROVADO em reunião de 05 de setembro de 2011.

São Paulo, 22 de setembro de 2011¹

Prof. Dr. Marco Antonio Stephano
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3091-3622 / Fax: (11) 3091-3677 - e-mail: ceuafcf@usp.br

100110002		NUVILAB CR-1	
Ração para animais de laboratório			
COMPOSIÇÃO BÁSICA DO PRODUTO			
<p>Misto integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio (sal comum), vitamina A, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, niacina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, sulfato de ferro, monóxido de manganês, óxido de zinco, sulfato de cobre, sódio de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, lisina, metionina, BHT.</p>			
NÍVEIS DE GARANTIA POR QUILOGRAMA DE PRODUTO			
Umidade (máx)	125 g/kg	Matéria Mineral (máx)	98 g/kg
Proteína Bruta (mín)	220 g/kg	Matéria Fibrosa (máx)	70 g/kg
Extrato Etéreo (mín)	40 g/kg		
<p><u>Vitaminas:</u> vitamina A (mín) 13.000 UI/kg; vitamina D3 (mín) 2.000 UI/kg; vitamina E (mín) 14 UI/kg; vitamina K3 (mín) 3 mg/kg; vitamina B1 (mín) 5 mg/kg; vitamina B2 (mín) 6 mg/kg; vitamina B6 (mín) 7 mg/kg; vitamina B12 (mín) 22 mg/kg; niacina (mín) 88 mg/kg; ácido pantotênico (mín) 20 mg/kg; ácido fólico (mín) 1 mg/kg; biotina (mín) 0,05 mg/kg; colina (mín) 1.000 mg/kg. <u>Minerais:</u> sódio (mín) 2.700 mg/kg; ferro (mín) 50 mg/kg; manganês (máx) 60 mg/kg; zinco (mín) 50 mg/kg; cobre (mín) 10 mg/kg; sódio (mín) 2 mg/kg; selênio (mín) 0,05 mg/kg; cobalto (mín) 1,5 mg/kg; flúor (máx) 88 mg/kg. <u>Aminoácidos:</u> Lisina (mín) 12 g/kg; metionina (mín) 4.000 mg/kg. <u>Aditivos:</u> BHT 100 mg/kg.</p>			
INDICAÇÃO: Ração pronta para uso, indicado para a alimentação de camundongos e ratos de laboratório.			
USO: Administração a vontade, através de comedouros suspensos.			
CONSERVAÇÃO: Conservar o produto em ambiente seco e arejado, sobre estôdres, evitando-se luz e calor excessivos.			
DATA DE FABRICAÇÃO:	6/3/2012	VALIDADE:	00 meses após a data de fabricação.
DATA DE VALIDADE:	2/9/2012		
PRODUTO REGISTRADO NO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SOB N.º PR-04453 93573 - INDÚSTRIA BRASILEIRA		LOTE: 0006031205	20 kg

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

Fernanda Branco Shinagawa

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5392203058086177>
Última atualização do currículo em 29/01/2015

Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2007). Mestrado no Programa de Processos Químicos e Bioquímicos pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2009). Doutorado em andamento em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo, com ênfase no estudo dos aspectos funcionais de óleos vegetais. Atuou na área de Biotecnologia com ênfase em tecnologia alternativa para conservação de alimentos, desenvolvimento de novos produtos, alimentos funcionais, probióticos e microencapsulamento. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome Fernanda Branco Shinagawa
Nome em citações bibliográficas SHINAGAWA, Fernanda Branco; SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO

Endereço

Formação acadêmica/titulação

- 2011** Doutorado em andamento em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Estudo dos óleos de semente de uva (*Vitis vinifera* L.) brasileiros e avaliação de sua influência em parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos.
Orientador: Jorge Mancini Filho.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
Palavras-chave: óleos vegetais; Alimentos Funcionais; estresse oxidativo; inflamação.
Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat-Primas Alimentares.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição.
Setores de atividade: Saúde humana e serviços sociais; Agricultura, Pecuária, Produção Florestal, Pesca e Aquicultura.
- 2007 - 2009** Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos (Conceito CAPES 6).
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.
Título: Efeito da alta pressão sobre microbiota e enzimas de polpa de mamão. Ano de Obtenção: 2009.
Orientador: Maria Alice Zarur Coelho.
Co-orientador: Amauri Rosenthal.
Bolsista do(a): Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do RJ.
Palavras-chave: polpa de mamão; alta pressão; Microbiologia; análise físico-química; Processamento; enzimas.
Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

Subárea: Tecnologia de Alimentos / Especialidade: Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Engenharia de Alimentos / Especialidade: tecnologia de alta pressão.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat-Primas Alimentares.

Sectores de atividade: Agricultura, Pecuária e Serviços Relacionados.

2002 - 2007

Graduação em Engenharia de Alimentos.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.

Título: COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE *Penicillium camemberti*

ISOLADO DE QUEIJO TIPO CAMEMBERTI.

Orientador: Djalva Nóbrega Santana.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Formação Complementar

2011 - 2011	Biomarcadores. (Carga horária: 8h). Sociedade Brasileira de Medicina Farmaceutica.
2011 - 2011	Controle Glicêmico: Participação do Pâncreas Endó. (Carga horária: 8h). Universidade Estadual de Campinas.
2009 - 2009	Ibero-American School on Nanostructured Materials. (Carga horária: 8h). International Sol-Gel Society.
2007 - 2007	Análise Sensorial. (Carga horária: 40h). Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.
2006 - 2006	Tecnologia de Bebidas. (Carga horária: 40h). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.
2005 - 2005	Logística. (Carga horária: 32h). Universidade Estadual de Campinas.
2004 - 2004	Controle Microbiológico na Indústria de Alimentos. (Carga horária: 16h). Universidade Estácio de Sá.
2004 - 2004	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle. (Carga horária: 32h). Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial.
2004 - 2004	Sistema de Gestão Integrado. (Carga horária: 32h). Conselho Regional de Química 3ª região.
2004 - 2004	Controle Estatística de Processo. (Carga horária: 32h). SENAI - Departamento Regional do Rio de Janeiro.
2003 - 2003	Técnicas de Fabricação de Pães. (Carga horária: 40h). Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial.
2003 - 2003	Qualidade da Farinha de Trigo e Panificação. (Carga horária: 16h). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.
2002 - 2002	Boas Práticas de Fabricação. (Carga horária: 12h). Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial.
2002 - 2002	Rotulagem Nutricional. (Carga horária: 12h). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.
2002 - 2002	Meio Ambiente. (Carga horária: 20h). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2011 - Atual

Vínculo: bolsista doutorado, Enquadramento Funcional: pesquisadora, Carga

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

Outras informações

horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Atividades didáticas desenvolvidas no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) junto à disciplina FBA0406 Fiscalização de Alimentos, do Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF/USP, aos alunos de graduação, sob supervisão da Profa Dra Lúcia Bicudo de Almeida Muradian. Durante os primeiros semestres de 2012 e 2013 (carga horária de 6hs semanais)

Atividades**03/2013 - Atual**

Estágios , Faculdade de Ciências Farmacêuticas, ,

Estágio realizado

Atividades didáticas sendo desenvolvidas no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE).

03/2012 - 07/2012

Estágios , Faculdade de Ciências Farmacêuticas, ,

Estágio realizado

Atividades didáticas desenvolvidas no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) junto à disciplina FBA0406 Fiscalização de Alimentos, do Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF/USP, aos alunos de graduação, sob supervisão da Profa Lúcia Bicudo.

BioLogicus, BIOLOGICUS, Brasil.

Vínculo institucional**2009 - 2010**

Vínculo: bolsista RHAE, Enquadramento Funcional: pesquisadora, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações

Bolsista RHAE/FACEP/CNPq desenvolvendo Projeto com Microcápsulas Probióticas para adição em Alimentos e Bebidas.

Agri Food and Biosciences Institute, AFBI, Irlanda do Norte.

Vínculo institucional**2007 - 2007**

Vínculo: estágio, Enquadramento Funcional: estágio, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações

Participação em parte de um grande Projeto na investigação do efeito na produção de Leite Orgânico no conteúdo de Ômega-3 e Ácido Linoleico Conjugado em Leite, por meio da cromatografia gasosa de alta resolução. Estágio fez parte do Programa IAESTE (International Association for the Exchange of Students for Technical Experience).

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, Brasil.

Vínculo institucional**2006 - 2009**

Vínculo: estágio, Enquadramento Funcional: estágio, Carga horária: 30

Outras informações

Desenvolvimento de pesquisas com sucos e polpas de frutas através de nova tecnologia de alta pressão hidrostática para conservação de alimentos.

Atividades**09/2005 - 05/2007**

Estágios , EMBRAPA Centro de Tecnologia de Alimentos, ,

Estágio realizado

microbiologia.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil.

Vínculo institucional**2003 - 2005**

Vínculo: ESTAGIÁRIA, Enquadramento Funcional: ESTAGIÁRIA, Carga horária: 8

Atividades**5/2003 - 11/2003**

Estágios , Instituto de Veterinária, Departamento de Micologia E Imunologia Veterinária.

Estágio realizado

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS E ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DE ALTA RESOLUÇÃO.

Panificadora Craque do Pão, PANIFICADORA, Brasil.

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4734374Y6>

3/11

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Latex (Fernanda Branco Shinagawa)

Vínculo institucional**2003 - 2005**

Vínculo: estágio, Enquadramento Funcional: estágio, Carga horária: 8

Atividades**09/2003 - 10/2005**

Estágios, Panificadora Craque do Pão, .

Estágio realizado

Implementação/implantação das Boas Práticas de Fabricação e monitoramento através do treinamento de funcionários, elaboração de registros e formulação de PHOS. Testes para otimização de técnicas de congelamento em Ultra Congelador de produtos de pan.

Indústria de Bebidas Matte Leão, MATTE LEÃO, Brasil.

Vínculo institucional**2005 - 2006**

Vínculo: estágio, Enquadramento Funcional: estágio, Carga horária: 40

Atividades**11/2005 - 03/2006**

Estágios, Ind. Bebidas Matte Leão, .

Estágio realizado

Atuação no Controle de Qualidade, executando revisão nos Métodos de Ensaio para análises físico-químicas e microbiológicas de bebidas e seus insumos. Participação em auditorias internas e execução de trabalho na Estação de tratamento dos efluentes..

Projetos de pesquisa**2012 - Atual**

Compostos bioativos na formulação de alimentos e suplementos:

Identificação, obtenção e caracterização de compostos bioativos, aplicação na formulação de alimentos e suplementos e seus efeitos in vitro e in vivo

Descrição: Trata-se de um projeto interdisciplinar, que reúne a competência de diferentes especialistas, incluindo químicos, farmacêuticos, nutricionistas, engenheiros e médicos, na busca de informações científicas e tecnológicas, para viabilização do desenvolvimento de alimentos e dietas saudáveis e funcionais, assim como melhor avaliar tais benefícios potenciais no organismo humano. O projeto irá abordar os seguintes temas: - Obtenção de compostos bioativos a partir de resíduos agrícolas e agroindústrias: ESALQ e FCF - Identificação de compostos bioativos na biodiversidade e sua incorporação à dieta; FSP - Estratégias para aplicação de compostos bioativos naturais na formulação de alimentos: FZEA, ESALQ, FCF, IME - Efeito do consumo de compostos bioativos na redução de risco de DCNT; FCF, FSP, FMVZ, FM, ICB. Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / Fernanda Carvalho de Santana - Integrante / Ana Mara O. Silva - Integrante / Jorge Mancini Filho - Coordenador / Inar Alves de Castro - Integrante.

2010 - 2011

DESENVOLVIMENTO DE PASTILHAS NUTRACÊUTICAS COM PROBIÓTICOS DO KEFIR BIOLOGICUS

Descrição: A BioLogicus, como empresa de biotecnologia, tem efetuado estudos sobre alimentos probióticos, nomeadamente no sentido de aumentar a sobrevivência e viabilidade das bactérias probióticas ao longo do tempo de vida do alimento e durante o trânsito gastrointestinal. Dispondo de microrganismos encapsulados numa matriz composta por materiais não-tóxicos que confere protecção aos microrganismos e permite veicular bactérias probióticas em vários tipos de produtos, a BioLogicus vê a oportunidade de introduzir alimentos funcionais e nutracêuticos no mercado, numa forma que seja facilmente assimilável pelo organismo. Ao fazer pastilhas mastigáveis, poderão ser veiculados os probióticos na quantidade necessária à manutenção da flora microbiana, além de se tratar de um produto que terá facilidade de exportação. OBJETIVOS: ERAL: Desenvolvimento de pastilhas nutracêuticas com probióticos do Kefir Biologicus. ESPECÍFICOS: 1.Avaliar a atividade probiótica das pastilhas nutracêuticas com probióticos. 2.Usar ingredientes funcionais, tais como carotenóides de microalgas, para enriquecer as pastilhas nutracêuticas com

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

probióticos. 3..Determinar a vida de prateleira das pastilhas nutracêuticas com probióticos. 4. Estudar a possibilidade de uso das pastilhas nutracêuticas com probióticos na merenda escolar. 5. Contribuir para o desenvolvimento de probióticos, buscando alternativas para a utilização dos microencapsulados probióticos..

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Mestrado acadêmico: (2) / Doutorado: (3)

..

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / Luciano Avallone Bueno - Integrante / Fátima Fonseca - Integrante / Djalma Marques - Coordenador / Eloyna Costa - Integrante / Márcio Glielmo - Integrante.

2009 - 2010

DESENVOLVIMENTO DE MICROCAPSULAS PROBIÓTICAS PARA ADIÇÃO EM ALIMENTOS E BEBIDAS

Descrição: A BioLogicus tem desenvolvido um consórcio de bactérias e leveduras probióticas CMP capazes de fermentar diferentes tipos de substratos. Para viabilizar esse processo há necessidade de imobilizar esse CMP, o que facilitará a incorporação em alimentos e bebidas para obtenção de probióticos. Para imobilizar microorganismos um dos métodos que se utiliza é o da coacervação simples. Esta aplicação está diretamente relacionada com a possibilidade de se imobilizar substâncias tais como corantes, aditivos, fármacos, enzimas, proteínas, aminoácidos, vitaminas e microorganismos. A imobilização ocorre devido à existência de grandes cadeias químicas nos coacervatos que são capazes de aprisionar o elemento ativo envolvido (no caso, microorganismos) - microencapsulamento. Nesse projeto serão estudadas as melhores matrizes que promovam a imobilização dos microorganismos na forma de microcapsulas..

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (2) / Mestrado acadêmico: (4) / Doutorado: (3)

..

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / Luciano Avallone Bueno - Coordenador / Fátima Fonseca - Integrante / Djalma Marques - Integrante / Cynthia Souza - Integrante / Leonardo Raffa - Integrante / Eloyna Costa - Integrante / Gabriel Locatelli - Integrante / Julili Brasil - Integrante. Financiador(es): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Bolsa.

2007 - 2009

Avaliação sensorial, microbiologia e enzimática de polpa de mamão pressurizada

Descrição: Desenvolvimento de pesquisas durante Mestrado com a Dissertação AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DA POLPA DE MAMÃO (Carica papaya L.) PROCESSADA POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA.

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico: (1) Doutorado: (2) .

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / Amauri Rosenthal - Coordenador / Maria Alice Coelho - Integrante.

2006 - 2007

Efeito da alta pressão e tratamento térmico sob o fungos baro e termoresistentes em suco de abacaxi

Descrição: Participação em projeto de pesquisa.

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Doutorado: (1) .

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / Amauri Rosenthal - Coordenador / elisa helenia ferreira - Integrante.

2005 - 2006

Identificação de Fungos Filamentosos por métodos cromatográficos

Descrição: Projeto de pesquisa em Iniciação Científica durante Graduação.

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Doutorado: (1) .

Integrantes: Fernanda Branco Shinagawa - Integrante / djalva - Coordenador.

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos/Especialidade: Microrganismos Imobilizados.
2. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos/Especialidade: Enzimologia.
3. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos/Especialidade: tecnologia de alta pressão.
4. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Análise Sensorial de Alimentos.
5. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos/Especialidade: Avaliação e Controle de Qualidade de Alimentos.
6. Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos/Especialidade: Alimentos Funcionais.

Idiomas

Inglês	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
Português	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

Prêmios e títulos

2009	Mestre em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
2007	Proficiência em Inglês, TOEFL.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

 ▼

1. ★ **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; deliza, rosires ; ROSENTHAL, AMAURI ; ZARUR, MARIA ALICE . Pressão hidrostática nos atributos sensoriais do néctar de mamão. Ciência Rural (UFSCar, Impresso) **JCR**, v. 43, p. 1898-1904, 2013.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1. ★ Bueno, Luciano Avallone ; Fonseca, Fátima ; Marques, Djalma ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Quadros, Cedenir ; Locatelli, Gabriel . Evaluation of probiotic containing microcapsules stability in different media. In: International Congress on Engineering and Food, 2011, Greece. Food Process Engineering in a Changing World, 2011.
2. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Fonseca, Fátima ; Eloyna ; Bueno, Luciano Avallone ; Marques, Djalma . Avaliação sensorial do Kefir Biologicus de leite, soja e frutas. In: II Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Aracaju. II Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Sergipe: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010.
3. Raffa, Leonardo ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Bueno, Luciano Avallone ; Fonseca, Fátima ; Marques, Djalma ; Eloyna . Minas Fresh Cheese containing probiotics microorganism: microbiology and sensory evaluation. In: 4 Congresso Internacional de Bioprocesso na Indústria de Alimentos, 2010, Curitiba. 4 Congresso Internacional de Bioprocesso na Indústria de Alimentos, 2010.

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4734374Y6>

6/11

4. ★ **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Amauri Rosenthal ; Hauck, Júlia . HIGH PRESSURE EFFECT ON PAPAYA PURÉE ANTIOXIDANT ACTIVITY. In: 5th International Technical Symposium on Food Processing, 2009, Postdam. 5th International Technical Symposium on Food Processing, 2009.
5. ★ **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Amauri Rosenthal ; Maria Alice Coelho . HIGH PRESSURE INACTIVATION OF POLIPHENOXIDASE FROM PAPAYA PURÉE. In: International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola ASABE ILES VIII, 2008, Foz do Iguaçu. International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola ASABE ILES VIII, 2008.
6. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Amauri Rosenthal ; deliza, rosires ; Maria Alice Coelho . AVALIAÇÃO DE TRÊS DIFERENTES CULTIVARES DE MAMÃO PARA PRODUÇÃO DE POLPA.. In: CBCTA, 2008, Belo Horizonte. Congresso Brasileiro Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 2008.
7. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; DJALVA, . COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE *Penicillium camemberti* ISOLADO DE QUEIJO TIPO CAMEMBERTI. In: Jornada Científica, 2006, Seropédica. XVI Jornada de Iniciação Científica, UFRuralRJ, 2006.

Resumos expandidos publicados em anais de congressos

1. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Oliveira, Lucília Rabelo ; Santana, Fernanda Carvalho ; MELO, I. L. P. ; MANCINI FILHO, J. . Caracterização química do óleo de semente de uva (*Vitis Vinifera* L.) prensado à frio. In: 12 Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013, Foz do Iguaçu. Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013. v. 38.
2. Santana, Fernanda Carvalho ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Oliveira, Lucília Rabelo ; REIS, S. L. R. ; Silva, A. M. O. ; COSTA, A. M. ; MANCINI FILHO, J. . Influência das variáveis solvente, temperatura e tempo na extração de compostos fenólicos totais em sementes de maracujá gerada no processamento industrial. In: Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013, Foz do Iguaçu. Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013. v. 38.
3. Oliveira, Lucília Rabelo ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Santana, Fernanda Carvalho ; Silva, A. M. O. ; MANCINI FILHO, J. . Suplementação dos ácidos graxos de óleos de pequi, palma e oliva sobre a peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes em fígado de ratos. In: 12 Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013, Foz do Iguaçu. Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2013. v. 38.
4. Costa, Eloyria ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Fonseca, Fátima ; Marques, Djalma ; Bueno, Luciano Avallone . Avaliação Sensorial de Bebidas Funcionais à Base de Frutas. In: II Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, 2011, Rio de Janeiro. II Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, 2011.
5. Hauck, Júlia ; Amauri Rosenthal ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** . THE IMPACT OF HIGH PRESSURE ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF YELLOW MOMBIN PULP. In: 5th International Technical Symposium on Food Processing, 2009, Postdam. International Technical Symposium on Food Processing, 2009.

Resumos publicados em anais de congressos

1. **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; Oliveira, Lucília Rabelo ; Santana, Fernanda Carvalho ; MANCINI FILHO, J. . Aumento da atividade de enzimas antioxidantes no tecido cerebral após o consumo de óleo de semente de uva por ratos. In: X Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2014, Aracaju. X Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2014.
2. YOSHIME, L. T. ; MELO, I. L. P. ; **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; Santana, Fernanda Carvalho ; MANCINI FILHO, J. . Caracterização da identidade e qualidade do óleo da semente do melão-de-são-caetano (*Mormodica charantia* L.). In: XXIV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2014, Aracaju. XXIV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2014. v. 1. p. 256.
3. YOSHIME, L. T. ; Silva, A. M. O. ; **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; Santana, Fernanda Carvalho ; MELO, I. L. P. ; Oliveira, Lucília Rabelo ; MANCINI FILHO, J. . Lipídeos e compostos bioativos: influência sobre marcadores de estresse oxidativo e inflamação. In: IX Simpósio Lipídeo e Saúde, 2014, São Paulo. IX Simpósio Lipídeos e Saúde, 2014. v. 1. p. 24.

4. **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; YOSHIME, L. T. ; Santana, Fernanda Carvalho ; Oliveira, Lucíllia Rabelo ; ARAUJO, E. S. ; MANCINI FILHO, J. . Bioactive compounds of the cold pressure grape seed oil and its correlation with oxidative stability. In: Bioactive compounds of the cold pressure grape seed oil and its correlation with oxidative stability, 2013, São Paulo. Antioxidants and redox process in health 2013-Program and abstracts, 2013. v. 1.
5. Santana, Fernanda Carvalho ; **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; Oliveira, Lucíllia Rabelo ; Silva, A. M. O. ; MANCINI FILHO, J. . Optimization of extraction of phenolic compounds from passion fruit seed recovered from juice production residue using response surface methodology. In: Antioxidants and redox process in health - Bilateral meeting Brazil Japan, 2013, São Paulo. Antioxidants and redox process in health 2013-Program and abstracts, 2013. v. 1.
6. Oliveira, Lucíllia Rabelo ; **SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO** ; Santana, Fernanda Carvalho ; Silva, A. M. O. ; MANCINI FILHO, J. . Modulation of the lipid peroxidation and antioxidant enzymes by oils supplementation from pequi almond and palm in rats kidneys. In: Antioxidants and redox process in health - Bilateral meeting Brazil Japan, 2013, São Paulo. Antioxidants and redox process in health 2013-Program and abstracts,, 2013. v. 1.
7. Santana, Fernanda Carvalho ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Oliveira, Lucíllia Rabelo ; Mancini-Filho, Jorge . Estabilidade Oxidativa de diferentes óleos vegetais e blends com óleo de soja. In: Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, 2012, Campinas. XXIII Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, 2012.
8. Oliveira, Lucíllia Rabelo ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Santana, Fernanda Carvalho ; Silva, A. M. O. ; Mancini-Filho, Jorge . Supplementation with dietary vegetable oils does not affect lipid peroxidation and biochemical parameters in rat plasma. In: XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición, 2012, Habana. SLAN XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición Promoción de Salud y Prevención de Enfermedades, 2012.
9. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Silva, A. M. O. ; Santana, Fernanda Carvalho ; Mancini-Filho, Jorge . Phenolics compounds in oils and condiments: biological effects. In: VIII Symposium on Lipids and Health, 2012, São Paulo. VIII Symposium on Lipids and Health, 2012.
10. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Oliveira, Lucíllia Rabelo ; Santana, Fernanda Carvalho ; Mancini-Filho, Jorge . Total antioxidant capacity and total phenolics content of grape seed cold pressed oil. In: XLVI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica, 2011, São Paulo. Brazilian Journal of Pharmaceutical Science. São Paulo, 2011. v. 47.
11. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Oliveira, Lucíllia Rabelo ; Silva, A. M. O. ; Mancini-Filho, Jorge . Estudo dos compostos bioativos por espectrofotometria em óleo de semente de uva prensado à frio. In: 9 Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2011, Campinas. Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2011.
12. Oliveira, Lucíllia Rabelo ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Silva, A. M. O. ; Mancini-Filho, Jorge . Antioxidant activity of pequi almond oil obtained by two different methods: handmade and cold pressing. In: XLVI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica, 2011, SÃO PAULO. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. São Paulo, 2011. v. 47.
13. Hauck, Júlia ; Amauri Rosenthal ; deliza, rosires ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** . Effet des hautes pressions hydrostatiques sur l'activité antioxydante des pulpes de prune mombin (*Spondias mombin* L.) et de papaye (*Carica papaya* L.). In: 21èmes Journées Scientifiques du Réseau de Chercheurs GP3A Génie des Procédés Appliqué à l'Agro-Alimentaire, 2010, Ville de Québec. Procédés appliqués à l'agro-alimentaire vs Santé du consommateur, 2010.
14. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Eloyña ; Fonseca, Fátima ; Souza, Cynthia S. ; Bueno, Luciano Avallone ; Graciliane ; Marques, Djalma . ELABORACIÓN DE POSTRE DE BAJA CALDRÍA CON GELEIFICANTES Y PROBIÓTICOS. In: 2 Congreso Internacional de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, 2010, Mendoza. Congreso Internacional de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, 2010.
15. Quadros, Cedenir ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Eloyña ; Marques, Djalma ; Bueno, Luciano Avallone . Desenvolvimento de Barra de Cereal Funcional. In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010.
16. **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Fonseca, Fátima ; Eloyña ; Bueno, Luciano Avallone ; Holanda, Helenice . Probiotic Limon Gelling: Microbiology and Nutritional Aspects. In: VIII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2010, São Carlos. Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 2010.

1/31/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Fernanda Branco Shinagawa)

17. SHINAGAWA, Fernanda Branco ; Amauri Rosenthal . VIABILIDADE MICROBIANA EM POLPA DE MAMÃO SUBMETIDA À ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA. In: VIII Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, UNICAMP, 2009, Campinas. VIII Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2009.

18. Fonseca, Fátima ; Marques, Djalma ; Bueno, Luciano Avallone ; Gradilane ; Souza, Cynthia S. ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** . Caracterização Microbiológica de Bebidas Fermentadas com probióticos Biológicos. In: VIII SLACA, 2009, Campinas. Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2009.

19. ferreira, elisa helena ; Amauri Rosenthal ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** . EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NA SOBREVIVÊNCIA DE *Byssodharmys nivea* EM SUCOS DE ABACAXI DURANTE ARMAZENAMENTO. In: 7 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2007, Campinas. 7 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2007.

Artigos aceitos para publicação

1. ★ SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO ; Santana, Fernanda Carvalho ; MANCINI FILHO, J. . EFEITO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA PRENSADO À FRIO NOS MARCADORES BIOQUÍMICOS E PERFIL INFLAMATÓRIO DE RATOS.. Revista de Nutrição (Impresso) **JCR**, 2015.

Apresentações de Trabalho

1. SHINAGAWA, Fernanda Branco ; Costa, Eloya ; Fonseca, Fátima ; Bueno, Luciano Avallone ; Marques, Djalma . II Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2010. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

2. Amauri Rosenthal ; ferreira, elisa helena ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** . EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NA SOBREVIVÊNCIA DE *Byssodharmys nivea* EM SUCOS DE ABACAXI DURANTE ARMAZENAMENTO. 2007. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

3. ferreira, elisa helena ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; Amauri Rosenthal . 7 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos.. 2007. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

4. SHINAGAWA, Fernanda Branco ; DJALVA, . COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE *Penicillium camemberti* ISOLADO DE QUEIJO TIPO CAMEMBERTI. 2006. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

5. SHINAGAWA, Fernanda Branco ; DJALVA, . XVI Jornada de Iniciação Científica.. 2006. (Apresentação de Trabalho/Outra).

Produção técnica

Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia

1. SILVA, A. T. ; DJALVA, ; **SHINAGAWA, Fernanda Branco** ; MELEIRO, C. H. A. ; ASSIS, A. V. R. . 13 Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos: Formação Acadêmica X Mercado de Trabalho. 2008. (Programa de rádio ou TV/Mesa redonda).

2. SHINAGAWA, Fernanda Branco . Minister welcomes international students to stormont. 2007. (Programa de rádio ou TV/Entrevista).

Demais tipos de produção técnica

1. SHINAGAWA, FERNANDA BRANCO . Ômega 3 e Fitosteróis. 2014. (Palestra).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. 12 Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Caracterização química do óleo de semente de uva (*Vitis Vinifera* L.) prensado à frio. 2013. (Congresso).
2. workshop de capacitação de pesquisadores em métodos estatísticos multivariados. workshop de capacitação de pesquisadores em métodos estatísticos multivariados. 2013. (Outra).
3. 12 ILSI Brasil International Workshop on Functional Foods': Polyunsaturated Fatty Acid. 2013. (Outra).
4. Lipídios Estruturados. 2012. (Seminário).
5. VIII Symposium on Lipids and Health. Phenolics compounds in oils and condiments: biological effects. 2012. (Seminário).
6. PIPETAS - Informações e Cuidados Gerais. 2011. (Outra).
7. Aplicações de Nanopartículas nas Áreas Médica e Farmacêutica. 2011. (Outra).
8. WORKSHOP BIOMARCADORES: EMPREGO EM PESQUISA, CLÍNICA E ÁREA REGULATÓRIA. 2011. (Outra).
9. WORKSHOP CONTROLE GLICÊMICO. 2011. (Outra).
10. 1 Workshop em Integração e oportunidades do núcleo de apoio à pesquisa em alimentos e nutrição - NAPAN. 2011. (Outra).
11. II Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Avaliação sensorial do Kefir *BioLogicus* de leite, soja e frutas. 2010. (Simpósio).
12. Ibero-American School on Nanostructured Materials. International Sol-Gel Society. 2009. (Simpósio).
13. SLACA. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NA SOBREVIVÊNCIA DE *Byssosclamyces nivea* EM SUCOS DE ABACAXI DURANTE ARMAZENAMENTO. 2007. (Simpósio).
14. XVI Jornada de Iniciação Científica. COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE *Penicillium camemberti* ISOLADO DE QUEIJO TIPO CAMEMBERTI. 2006. (Outra).
15. Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 24ª Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 2005. (Outra).
16. x Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. X Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 2004. (Encontro).
17. Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 22ª Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 2003. (Outra).
18. Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. VIII Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 2002. (Outra).
19. Semana Acadêmica de Engenharia de Alimentos. 8ª Semana Acadêmica de Engenharia Química. 2002. (Outra).

Outras informações relevantes

1/27/2015

Ficha do Aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9131 - 7500171/1 - Fernanda Branco Shinagawa

Email: fbshinagawa@usp.br
Data de Nascimento: 12/05/1983
Cédula de Identidade: RG - 13156408-0 - RJ
Local de Nascimento: Estado do Rio de Janeiro
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Engenheiro de Alimentos - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - Brasil - 2007
Mestrado: Mestre em Ciências (1) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - Brasil - 2009

Curso: Doutorado
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Bromatologia
Data de Matrícula: 17/03/2011
Início da Contagem de Prazo: 17/03/2011
Data Limite para o Depósito: 17/03/2015
Orientador: Prof(a). Dr(a). Jorge Mancini Filho - 17/03/2011 até o presente. E-Mail: jmancini@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 17/03/2011
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 08/05/2013
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Ingressou no Doutorado em 17/03/2011
Matrícula de Acompanhamento em 21/07/2014

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013)

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 21/07/2014

Impresso em: 27/01/15 09:07:25

1/27/2015

Ficha do Aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9131 - 7500171/1 - Fernanda Branco Shinagawa

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5870-6/2	Tópicos em Ciência dos Alimentos e Nutrição I	05/04/2011	13/06/2011	30	2	100	A	N	Concluída
HNT5737-3/2	Ciência de Alimentos (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	11/05/2011	22/06/2011	60	4	100	A	N	Concluída
BMB5817-1/1	Fisiopatologia do Diabetes Mellitus (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	02/08/2011	06/09/2011	60	4	100	C	N	Concluída
FBA5900-1/2	Biomodelos Experimentais Aplicados na Avaliação de Alimentos	08/08/2011	14/08/2011	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5728-3/3	Aprimoramento Didático	12/09/2011	09/10/2011	60	4	100	A	N	Concluída
HNT5759-1/2	Nutrigenômica no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	04/10/2011	08/11/2011	60	4	100	A	N	Concluída
FBA5874-5/2	Química e Análise dos Alimentos Lipídicos	06/10/2011	16/11/2011	60	0	0	-	N	Turma cancelada
MCM5725-5/4	Aspectos Atuais do Metabolismo de Lipídeos (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	23/10/2012	26/11/2012	60	4	100	A	N	Concluída
VPT5781-1/2	Hepatologia Experimental e Comparada (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo)	22/09/2014	26/10/2014	90	6	90	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	30
Estágios:			
Total:	0	20	30

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Observações:

1) Curso com validade nacional, de acordo com o disposto na Portaria nº 524, de 29.04.2008.

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 21/07/2014

Impresso em: 27/01/15 09:07:25

1/27/2015

Ficha do Aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9131 - 7500171/1 - Fernanda Branco Shinagawa

Comissão julgadora da tese de doutorado:			
NUSP	Nome	Vínculo	Função
43102	Jorge Mancini Filho	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 21/07/2014**Impresso em:** 27/01/15 09:07:25