



DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS COM RESÍDUOS DE VINÍCOLAS

Paula V. Cristante¹, Bruno H. Fontoura², Solange T. Carpes¹.

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curso de Química, Pato Branco, Paraná, Brasil.

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pós-graduação-Doutorado em Agronomia, Pato Branco, Paraná, Brasil.

Paula.2025@alunos.utfpr.edu.br

Palavras-Chave: Sustentabilidade, Atividade Antioxidante, Compostos bioativos.

Introdução

A produção mundial de vinho gera grandes volumes de resíduos agroindustriais, constituídos principalmente por cascas, sementes e engaços de uva, que ainda apresentam elevada concentração de compostos bioativos, especialmente fenólicos, com reconhecida atividade antioxidante.¹ Apesar do potencial biotecnológico desses subprodutos, grande parte dos resíduos provenientes das vinícolas é descartada de forma inadequada, o que pode acarretar impactos ambientais e desperdício de matérias-primas de interesse industrial.²

Nos últimos anos, o aproveitamento de resíduos agroindustriais tem recebido destaque devido à busca por processos mais sustentáveis e alinhados aos princípios da economia circular. Nesse contexto, resíduos vinícolas vêm sendo estudados como fontes naturais de antioxidantes para aplicações alimentícias, farmacológicas, cosméticas e medicinais. Os compostos fenólicos presentes nesses resíduos são capazes de atuar na neutralização de radicais livres, contribuindo para a redução de processos oxidativos em sistemas biológicos e alimentares.¹

Associada a esse cenário, a nanotecnologia surge como uma alternativa promissora para aumentar a estabilidade, a proteção e a biodisponibilidade de compostos bioativos.² Entre os sistemas nanoestruturados, destacam-se as nanopartículas obtidas por reticulação iônica com polímeros biocompatíveis, como a quitosana, devido à sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e ao potencial de encapsulação. A utilização de polietilenoglicol (PEG) também pode contribuir para melhorar a estabilidade e as propriedades físico-químicas das nanopartículas.³

Material e Métodos

Os resíduos foram coletados na vinícola Simioni (Mariópolis) e enviados para a secagem em estufa por 42 horas a 40 °C e moídos logo após. Os extratos foram preparados na concentração de 0,2 g/mL com etanol 80%(v/v), em banho-maria a 70 °C por 1 hora. Os extratos foram filtrados e armazenados a -12 °C. Foram realizadas duplicatas para análises e realizadas triplicatas para cada ensaio.



Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Compostos fenólicos totais foram determinados por meio do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando ácido gálico como padrão de referência³. Em uma alíquota de 500 μL de extrato, foram adicionados 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 10% e foi deixado em repouso por 5 minutos. Em seguida, foram acrescentados 2 mL de carbonato de sódio 4% e foi posto em repouso no escuro por 2 horas. As leituras de absorbância foram realizadas a 740 nm.

DPPH foi realizado por meio de soluções padrão de Trolox⁴. Com uma alíquota de 500 μL de extrato, foram adicionados 3 mL de etanol absoluto e 300 μL de DPPH (0,5 mM). Também foi realizado o controle de decaimento determinado com 3,5 mL de etanol P.A e 300 μL de DPPH. A leitura foi realizada em absorbância a 517 nm.

O método FRAP foi realizado com soluções padrão de sulfato ferroso como referência⁵. Inicialmente, foi preparado o reagente FRAP com 50 mL de tampão de acetato (0,3 M), 5 mL de TPTZ (10 mM) e 5 mL de cloreto férrico (20 mM). Com uma alíquota de 90 μL de extrato, foram adicionados 270 μL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. Os tubos foram transferidos ao banho-maria a 30 minutos a 37 °C. A leitura em absorbância foi de 595 nm.

A determinação do ABTS foi realizada com Trolox como solução padrão⁶. Inicialmente, foram adicionados 5 mL de uma solução de ABTS (7 mM) e 88 μL de persulfato de potássio (140 mM), mantendo a solução em repouso por 16 horas em um local escuro. Em seguida, foi realizada a calibração do ABTS em absorbância de 0,700 a 734 nm. Com uma alíquota de 30 μL de extrato, foram adicionados 3 mL da solução de ABTS⁺ e posto em repouso no escuro por 6 minutos.

Produção de nanopartículas

Primeiramente, 30 mg de quitosana e 90 mg de PEG foram solubilizados em 15 mL de solução de ácido acético a 1% em agitação constante à temperatura de 60 °C, por aproximadamente 1 hora. Após a solubilização, a solução foi submetida ao ajuste de pH 5 com solução de hidróxido de sódio. Com 15 mL desta solução foram adicionados lentamente 3 mL do extrato com auxílio de uma bureta. Logo após, foi adicionado 1 mL de tripolifosfato de sódio (0,027 mol L⁻¹) sob agitação constante por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, foi centrifugada por 1 hora a 4000 rpm, para separação do sobrenadante. As nanopartículas foram submetidas à lavagem com água destilada e novamente centrifugadas por mais 30 minutos. As nanopartículas foram secas em estufa a 35 °C por 24 horas. O sobrenadante, a água de lavagem e as nanopartículas foram armazenados para futuras análises.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises químicas dos extratos de resíduos de vinícolas de compostos fenólicos totais, DPPH, ABTS e FRAP foram expressos em mg de equivalente de



ácido gálico(EAG)/g de resíduo, mmol de Trolox/g de resíduo, mM de Trolox/g de resíduo e mmol de Fe_2SO_4 /g de resíduo, respectivamente. São apresentados na Tabela 1 estes resultados.

O teor médio de CFT dos extratos etanólicos do resíduo de vinícola foi de 20 mg EAG/g de resíduo (Tabela 1). Neste estudo, a capacidade antioxidante do extrato de resíduos de vinícola foi avaliada por meio de três métodos *in vitro* distintos: sequestro de radicais livres (DPPH e ABTS) e poder redutor de ferro (FRAP) (Tabela 1). Segundo vários autores^{5,8}, os diferentes agentes antioxidantes apresentam mecanismos de ação distintos; portanto, a utilização de diversos métodos analíticos é importante para compreender a atividade biológica de antioxidantes naturais e assim obter dados precisos que nos permitam uma melhor comparação com outros estudos.

Tabela 1: Compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante dos resíduos de vinícola

Produção	CFT (mg EAG/g)	DPPH (mmol ET/g)	FRAP ($\mu\text{mol FESO}_4$ /g)	ABTS (mM ET/g)
1	20 $\pm$ 0,5	236 $\pm$ 3	4,1 $\pm$ 2,0	23 $\pm$ 0,2
2	19 $\pm$ 0,1	191 $\pm$ 1	9,7 $\pm$ 0,2	12 $\pm$ 0,4
Média	20 $\pm$ 0,3	213 $\pm$ 2	6,9 $\pm$ 1,2	18 $\pm$ 0,3

EAG: Equivalente em ácido gálico; ET: Equivalente em Trolox

Já o rendimento das nanopartículas, obtido após a secagem na estufa a 35°C está detalhado na Tabela 2.

Tabela 2: Rendimento de nanopartículas em massa (g)

Produção	Rendimento (g)
1ª Batelada	0,4684
2ª Batelada	0,3964
Média	0,4324

Os extratos do resíduo de vinícola apresentaram alto teor de compostos fenólicos totais e expressiva atividade antioxidante, possivelmente relacionados à presença de compostos bioativos, como os polifenóis extraídos desses resíduos. Observou-se uma variação no rendimento, atribuível à diferença na concentração de compostos fenólicos entre os extratos utilizados. Neste estudo preliminar, verificamos a necessidade de ajustes na elaboração das nanopartículas de quitosana/PEG a partir de extratos de resíduos de vinícola, a fim de alcançar a padronização dos resultados. Além disso, fazem-se necessárias análises para confirmar o tamanho das partículas por meio da dispersão do tamanho hidrodinâmico, do índice de polidispersão e da determinação de parâmetros de potencial zeta utilizando equipamento de dispersão da luz dinâmica (DLS). Essas análises serão realizadas em breve.



Em contrapartida, obtivemos a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais do sobrenadante, da água de lavagem e das nanopartículas, que apresentam a média das duplicatas realizadas em cada análise na Tabela 3. Para realizar as análises com as nanopartículas, foram realizados extratos com 0,25 g de cada produção e dissolvidos em 10 mL de etanol P.A.

Tabela 3: CFT* e atividade antioxidante da produção de nanopartículas

Composto	CFT (mg EAG/g)	DPPH (mmol ET/g)	FRAP (μ mol FESO ₄ /g)	ABTS (mM ET/g)
Nanopartículas	4,11 $\pm$ 0,2	3,1 $\pm$ 0,7	0,72 $\pm$ 0,03	1,33 $\pm$ 0,02
Sobrenadante	0,05 $\pm$ 0,004	0,54 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,04	0,05 $\pm$ 0,001
Água de lavagem	0,09 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,005	0,28 $\pm$ 0,004

EAG: Equivalente em ácido gálico; ET: Equivalente em Trolox

Conclusões

Neste estudo, os extratos etanólicos dos resíduos apresentaram teor de compostos fenólicos com atividade antioxidante favorável, possibilitando o uso no desenvolvimento de produtos nanotecnológicos que auxiliam a proteção dos compostos bioativos, melhorando sua biodisponibilidade e possibilitando aplicações em produtos medicinais, farmacológicos, cosméticos e alimentícios. Até o momento, os resultados parecem ser promissores, pois foi observada a presença de compostos fenólicos com atividade antioxidante. As nanopartículas obtidas foram armazenadas para futuras análises de caracterização física e química das partículas e avaliação biológica das nanopartículas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UTFPR-PB, à Fundação Araucária e ao CNPq, pelo incentivo e patrocínio. Agradecemos também ao Sr. Renato, da Vinícola Simioni de Mariópolis, Paraná, pela doação dos resíduos.

Referências

- 1 Rockenbach, I.I., Gonzaga, L.V., Rizelio, V.M., Gonçalves, A.E.S.S., Genovese, M.I., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 44, 897–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049>
- 2 Beres, C., Costa, G.N.S., Cabezero, I., da Silva-James, N.K., Teles, A.S.C., Cruz, A.P.G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R.V., Cabral, L.M.C., & Freitas, S.P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- 3 Buratto, A.P., Fontoura, B.F., Carpes, S.T., Almeida, C.A.P. 2023. Preparation and characterization of chitosan/polyethylene glycol and cobalt ferrite magnetic-polymeric nanoparticles as resveratrol carriers: preparation, analytical methodology validation and in vitro applicability. *Soft Materials*, 21, 161-173. <https://doi.org/10.1080/1539445X.2023.2172042>
- 4 Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).



5 Fontoura BH, Perin EC, Teixeira SD, et al (2023) Multivariate and machine learning approaches for prediction of antioxidant potential in *Bertholletia excelsa* barks. J King Saud Univ - Sci 35:102792. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102792>.

5 Re, R., Pellegrini, N., Proteggemnte, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology Medicine, 26, 1234-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3).

6 Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 3396-3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>