

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA PAULA STAFUSSA

ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA: EXTRAÇÃO E BIOSSORÇÃO EM
SACCHAROMYCES CEREVISIAE



CURITIBA
2014

ANA PAULA STAFUSSA

ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA: EXTRAÇÃO E BIODISSOLUÇÃO EM
SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Giselle Maria Maciel.

CURITIBA
2014

Stafussa, Ana Paula

Antocianinas do bagaço de uva: extração e bioissorção em *saccharomyces cerevisiae* / . – Curitiba, 2014.

81 f. : il.; grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Charles Windson Isidoro Haminiuk

Coorientadora: Giselle Maria Maciel

Bibliografia: p. 69-81

1. *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Antocianidinas. I. Haminiuk, Charles Windson Isidoro. II. Maciel, Giselle Maria. III. Título.

CDD: 663.2

ANA PAULA STAFUSSA

**ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA: EXTRAÇÃO E
BIOSSORÇÃO EM *Saccharomyces cerevisiae***

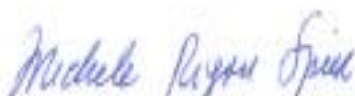
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Orientador: Prof. Dr. CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK
Campus Ecoville-Curitiba, UTFPR



Prof Dr. BOGDAN DEMCZUK JUNIOR
Campus Campo Mourão, UTFPR



Prof^a Dr^a. MICHELE RIGON SPIER
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 05 de setembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por todas as oportunidades concedidas. Por iluminar meus caminhos e me dar forças para continuar a caminhada da vida.

À minha família, pelo amor e carinho imenso que me oferecem e por sempre estarem me apoiando e incentivando em minhas escolhas.

Aos meus orientadores, Professor Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk e a Professora Dr^a. Giselle Maria Maciel por acreditarem em mim, pela orientação, amizade, dedicação e por todos os conhecimentos transmitidos durante todo o trabalho. Volto a agradecer ao Professor Dr. Charles que sempre me incentivou e me deu oportunidades para realizar atividades de pesquisas. Sou imensamente grata.

Ao Técnico Marcelo Zadorecki pela ajuda durante a realização do meu trabalho. A Técnica Sheila Slobodzian, que além de contribuir com sua ajuda foi uma excelente conselheira e amiga durante todo o período do trabalho.

À Professora Dr.^a Luciana Igarashi-Mafra por disponibilizar equipamentos e laboratórios.

Aos amigos e colegas do Programa de Pós-graduação pelas trocas de conhecimentos, auxílios e companheirismo durante o mestrado.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - PPGEAL, Paulo Krainski, pelo auxílio durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realização deste trabalho. Em especial à todos os professores do programa.

À todos que de alguma maneira colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”

Provérbios 16:3

RESUMO

Dois resíduos da indústria de alimentos foram analisados neste estudo. A biossorção de antocianinas de bagaço de uva foi avaliada pela aplicação da levedura esgotada do processo de fabricação de cerveja como biossorvente. A capacidade de biossorção da biomassa foi avaliada pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem e diferentes modelos de isothermas foram utilizados para descrever o processo de biossorção. A análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para caracterizar a interação da biomassa com antocianinas. O processo de biossorção, também foi avaliado por análise de HPLC. Os dados experimentais de isothermas foram adequadamente descrito pelo modelo de Temkin. O valor médio da energia livre (E) a partir do modelo de Dubinin-Radushkevich sugere a ocorrência de um mecanismo químico no processo de biossorção. O espectro FTIR de absorção da biomassa de levedura foi complexo. Foram observadas mudanças significativas na intensidade das bandas de absorção das células de levedura e mudanças de bandas características após biossorção.

Palavras-chaves: *Saccharomyces cerevisiae*, antocianinas, quimiossorção, Temkin, FTIR.

ABSTRACT

Two food industry residues were analyzed in this study. The biosorption of anthocyanins from grape pomace was evaluated by applying residual beer yeast as biosorbent. The biosorption capacity of the biomass was evaluated by pseudo-second order kinetic model and different isotherm models were used to describe the biosorption process. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis was carried out to characterize the interaction of the biomass with anthocyanins. The biosorption process was also evaluated by HPLC analysis. Experimental data of the isotherm profile were adequately described by the Temkin model. The mean free energy (E) value from the model of Dubinin-Radushkevich suggested the occurrence of a chemical mechanism in the biosorption process. FTIR absorption spectrum of yeast biomass was complex. Significant changes in the intensity of yeast cell absorption bands and shifts of characteristic bands were observed after biosorption.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, anthocyanins, chemisorption, Temkin, FTIR.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE UVAS E SUAS RESPECTIVAS ÁREAS CULTIVADAS EM 2010.	19
FIGURA 2 – DIAGRAMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE VINHO TINTO.	20
FIGURA 3 - IMAGEM TRANSVERSAL DE UMA UVA VERMELHA CONTENDO A CASCA, POLPA E SEMENTES E SEUS RESPECTIVOS COMPOSTOS BIOATIVOS.	23
FIGURA 4 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS ANTOCIANINAS.	25
FIGURA 5 – DIAGRAMA REPRESENTATIVO DAS PRINCIPAIS ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA.	28
FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DOS MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE ADSORÇÃO.	32
FIGURA 7 – AMOSTRAS DAS VARIEDADES DE UVAS MOIDAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE CIRCULAÇÃO DE AR POR 36 HORAS À TEMPERATURA DE 40 °C.	41
FIGURA 8 – RESÍDUO DE LEVEDURA LAVADO (A). RESÍDUO DE LEVEDURA SECO (B).....	42
FIGURA 9 - SUPERFÍCIE DE CONTORNO DA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS E GRÁFICO DOS VALORES OBSERVADOS <i>VERSUS</i> VALORES PREVISTOS PELOS MODELOS.	54
FIGURA 10 - MODELO DE PSEUDO-SEGUNDA ORDEM REPRESENTANDO O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA TANNAT E BORDÔ EM <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	56
FIGURA 11 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA TANNAT ANTES (VERMELHO) E APÓS O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO COM A LEVEDURA (AZUL). PICO INDICADO N° 3.	58
FIGURA 12 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA BORDÔ ANTES (VERMELHO) E APÓS O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO COM A LEVEDURA (AZUL). PICO INDICADO N° 2.	59
FIGURA 13 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE TEMKIN DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.	62

FIGURA 14 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE TEMKIN DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.....	62
FIGURA 15 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE FREUNDLICH DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.	63
FIGURA 16 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE FREUNDLICH DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.....	63
FIGURA 17 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE DUBININ-RADUSHKEVICH (D-R) DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.....	63
FIGURA 18 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE DUBININ-RADUSHKEVICH (D-R) DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.....	63
FIGURA 19 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE LANGMUIR DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.	64
FIGURA 20 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE LANGMUIR DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.....	64
FIGURA 21 – ESPECTROS FTIR DA <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ANTES E APÓS O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO UTILIZANDO EXTRATOS DE BAGAÇOS DE UVAS TANNAT E BORDÔ.	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PRODUÇÃO DE UVAS NO BRASIL, EM TONELADAS.....	19
TABELA 2 – PRINCIPAIS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM DIFERENTES FRAÇÕES DA UVA.....	23
TABELA 3 – ANTOCIANINAS DETECTADAS NAS AMOSTRAS DE UVA TANNAT, BORDÔ, CARBENET SAUVIGNON E MERLOT.....	26
TABELA 4 – DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL.....	43
TABELA 5 - VALORES REAIS DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES.....	43
TABELA 6 – MODELOS DE ISOTERMAS.....	46
TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS OBTIDAS NA EXTRAÇÃO PELO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL.....	50
TABELA 8 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DOS MODELOS POLINOMIAIS PARA A EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DE DIFERENTES BAGAÇOS DE UVA.....	53
TABELA 9 – PARÂMETROS DO MODELO DE PSEUDO-SEGUNDA ORDEM PARA REPRESENTAR O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA TANNAT E BORDÔ EM <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	56
TABELA 10 – AVALIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DO PROCESSO DE BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	58
TABELA 11 – PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE LANGMUIR, FREUNDLICH, TEMKIN E D-R PARA A BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	61

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- A – constante de Temkin
- B – constante de Temkin
- β – constante de modelo Dubinin-Radushkevich (D-R)
- β_0 – constante
- β_i – coeficiente de regressão linear
- β_{ii} – coeficiente quadrático
- β_{ij} – coeficiente de interação
- C_{eq} – concentração de equilíbrio na fase fluida
- C_0 – concentração inicial de adsorvato
- C_t – concentração do adsorvato no tempo t
- CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência
- DCCR – delineamento composto central rotacional
- D-R – Dubinin-Radushkevich
- E – energia livre de adsorção
- ε – potencial Polanyi
- FTIR – espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
- HPLC – high performance liquid chromatography
- k_2 – constante cinética da adsorção de segunda ordem
- K_F – constante de Freundlich
- K_L – constante de Langmuir
- m – massa do adsorvente
- n – constante de Freundlich
- q_e – capacidade de sorção em equilíbrio
- $q_{e \text{ exp}}$ – capacidade de sorção experimental
- q_{eq} – quantidade adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de adsorvente
- q_0 – capacidade máxima de adsorção
- q_s – capacidade máxima de adsorção teórica
- q_t – capacidade de sorção no tempo t
- R_L – fator de separação ou parâmetro de equilíbrio
- R – constante universal dos gases ideais

R^2 – coeficiente de determinação

RSM – metodologia de superfície de resposta

t – tempo

T – temperatura

V – volume da batelada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo Geral	17
1.1.2 Objetivos Específicos	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 ASPECTOS PROEMINENTES DA UVA	18
2.2 PROCESSAMENTO DO VINHO TINTO	20
2.3 BAGAÇO DE UVA	22
2.4 ANTOCIANINAS	24
2.5 ASPECTOS PROEMINENTES DA CERVEJA	26
2.6 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA	27
2.7 LEVEDURAS <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	30
2.8 ADSORÇÃO OU BIOSSORÇÃO	31
2.9 CINÉTICA DE ADSORÇÃO	33
2.10 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	35
3. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1 MATÉRIA-PRIMA	40
3.1.1 Bagaço de Uva	40
3.1.2 Biossorvente <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	41
3.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DA EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS	42
3.3 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS	43
3.4 CINÉTICA DE ADSORÇÃO	45
3.5 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	46
3.6 ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	46
3.7 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	47
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
4.1 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO	49
4.2 ESTUDO CINÉTICO	55
4.3 ESTUDOS DE EQUILÍBRIO - ISOTERMAS	60

4.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DA BIOMASSA DE LEVEDURA.....	65
5 CONCLUSÕES.....	69
REFERÊNCIAS.....	70

1 INTRODUÇÃO

A uva é uma das culturas frutíferas mais cultivadas ao redor do mundo e a sua composição e propriedades tem sido extensamente investigadas, com vários relatos da presença de grande quantidade de compostos fenólicos e outras substâncias bioativas (ROCKENBACH *et al.*, 2011).

Uma quantidade expressiva de resíduos são gerados a partir do processamento da uva para produção de sucos e vinhos, especialmente o bagaço de uva. Estes resíduos são geralmente subexplorados sendo utilizados na alimentação animal (com baixo valor nutricional) ou como adubo, e também são descartados representando um problema ambiental. No entanto, eles podem tornar-se produtos com retorno econômico potencial por serem fontes de compostos bioativos que podem ser aproveitados.

O bagaço de uva (essencialmente as cascas e sementes) é comprovadamente rico em antocianinas, as quais permanecem no resíduo devido a sua extração incompleta durante o processamento. Deste modo, este resíduo consiste em uma fonte barata para a extração de antioxidantes naturais, os quais podem ser utilizados como suplementos alimentares ou na produção de fitoquímicos (GONZÁLEZ-PARAMÁS *et al.*, 2004).

Estudos realizados em diferentes variedades de bagaços de uvas demonstram a existência das antocianinas 3-glicosídeos das cinco antocianinas mais comuns: cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina (RUBERTO *et al.*, 2007; LAGO-VANZELA *et al.*, 2011; MARQUEZ *et al.*, 2012) e estes flavonoides são amplamente conhecidos por suas propriedades bioativas. Neste contexto, o uso da adsorção permite a separação e concentração de antocianinas a partir de soluções diluídas obtidas de um resíduo agroindustrial. Esse processo é atraente por sua simplicidade relativa de projeto, operação fácil e baixo custo (SOTO *et al.*, 2011).

A biomassa da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o segundo maior subproduto da indústria cervejeira. Seu uso ainda é limitado, sendo basicamente utilizado como ração animal (FERREIRA *et al.*, 2010). No entanto, a biomassa fúngica vem sendo muito utilizada para o processo de biossorção

(adsorção), devido ao fato de que suas paredes celulares contêm polissacarídeos como blocos básicos de construção possuindo propriedades de troca iônica, e também proteínas e lipídios, oferecendo uma série de grupos funcionais capazes de promover a adsorção (AKSU, 2005). A obtenção de biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecidas com antocianinas é bastante interessante e atraente devido a possível atividade antioxidante e aplicações em diferentes áreas, como a farmacêutica e de alimentos.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo a agregação de valor a dois subprodutos da indústria de alimentos, o bagaço de uva e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, através de estudos de extração de antocianinas e de biossorção dessas antocianinas em biomassa fúngica.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Estudar a biossorção de antocianinas dos extratos dos resíduos de uvas oriundos da produção de vinhos utilizando como biossorvente *Saccharomyces cerevisiae* esgotada do processo fermentativo da indústria cervejeira.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Otimizar a extração das antocianinas de quatro variedades de bagaço de uva (Bordô, Cabernet Sauvignon, Merlot e Tannat).
- Realizar estudos cinéticos de biossorção das antocianinas e, obter as isotermas de adsorção.
- Avaliar o processo de biossorção através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- Avaliar o possível envolvimento dos grupos funcionais presentes na biomassa das leveduras no processo de biossorção através da técnica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS PROEMINENTES DA UVA

Registros históricos indicam que, as primeiras atividades de produção de vinho se deram na Mesopotâmia e Cáucaso há cerca de 6000 a.C. Foi por intermédio da colonização dos romanos nas regiões ao redor do Mar Mediterrâneo que possibilitou a disseminação do cultivo e produção de vinho (VILLIERS *et al.*, 2012).

Estima-se que no mundo existam mais de 10 mil variedades de uvas, as quais se adaptam a distintos tipos de solo e clima, propiciando o cultivo em várias regiões (VEDANA, 2008).

As uvas podem ser classificadas em dois grandes grupos, os denominados de *Vitis vinifera*, de origem européia, destinadas principalmente à produção de vinhos finos e o grupo das *Vitis labrusca* de origem americana, destinadas à produção de vinhos, sucos e derivados, sendo pertencentes à categoria das uvas comuns. A alta produção de *Vitis labrusca* no Brasil (80%) é devido às suas características de adaptação ao clima no país (VEDANA, 2008).

A viticultura, no ano de 2010, ocupou as maiores áreas da Espanha, França, Itália, China e Turquia, como indicado na Figura 1. O Brasil, entretanto, alcançou o vigésimo lugar na classificação mundial de área cultivada (MELLO, 2012).

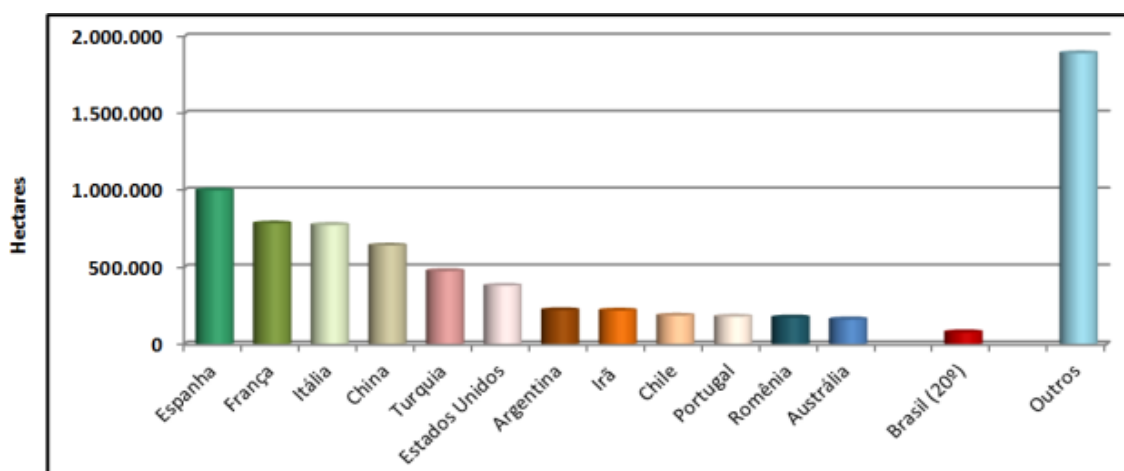


FIGURA 1 – PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE UVAS E SUAS RESPECTIVAS ÁREAS CULTIVADAS EM 2010.
 FONTE: MELLO (2012).

Segundo dados de 2012, houve um aumento na produção de uvas nos Estados de Pernambuco (7,71%), Minas Gerais (3,09%), Santa Catarina (4,64%) e Rio Grande do Sul (1,29%), em relação ao ano de 2011 (Tabela 1) (MELLO, 2013).

Em 2012, a produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 830,92 milhões de quilos, o que representa 57,07% da produção nacional. O restante da produção (42,93%) foi destinado ao consumo *in natura* (MELLO, 2013).

TABELA 1 – PRODUÇÃO DE UVAS NO BRASIL, EM TONELADAS.

Estado/Ano	2008	2009	2010	2011	2012
Pernambuco	162.977	158.515	168.225	208.660	224.758
Bahia	101.787	90.508	78.283	65.435	62.292
Minas Gerais	13.711	11.773	10.590	9.804	10.107
São Paulo	184.930	177.934	177.538	177.227	176.902
Paraná	101.500	102.080	101.900	105.000	70.500
Santa Catarina	58.330	67.546	66.214	67.767	70.909
Rio Grande do Sul	776.027	737.363	692.692	829.589	840.251
Brasil	1.399.262	1.345.719	1.295.442	1.463.481	1.455.809

FONTE: Adaptado de MELLO (2013).

No Brasil, houve nas últimas décadas, um significativo aumento da qualidade da produção vitivinícola interna, com expansão de regiões produtoras e desenvolvimento de novos polos de produção (SARMENTO *et al.*, 2008).

2.2 PROCESSAMENTO DO VINHO TINTO

O diagrama representativo do processo de fabricação do vinho tinto, exposto na Figura 2, consiste na etapa de plantio e colheita; recepção da matéria-prima; esmagamento e desengace; fermentação; clarificação; maturação; filtragem; engarrafamento e rotulagem e, finalmente envelhecimento.

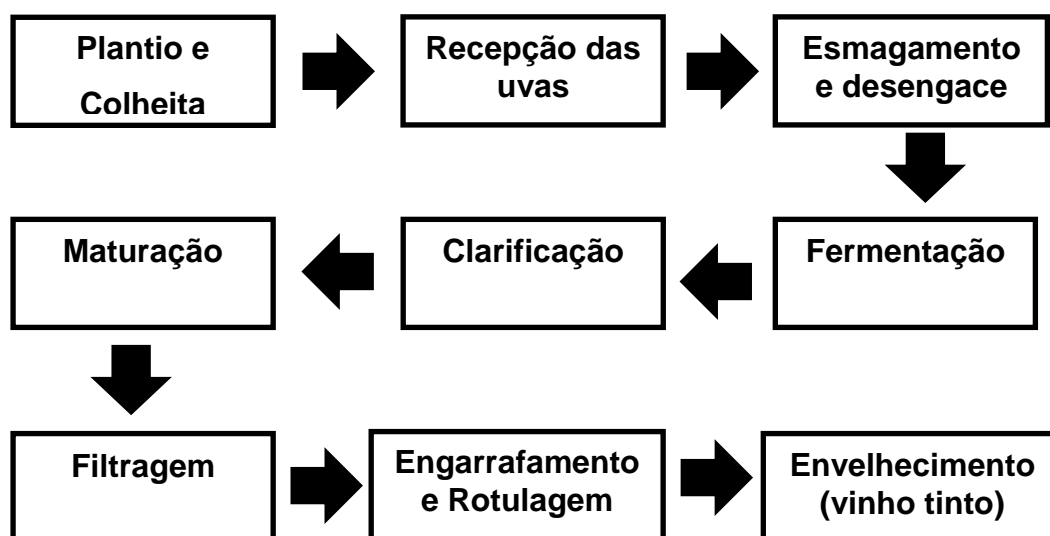


FIGURA 2 – DIAGRAMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE VINHO TINTO.

O cultivo e a colheita são as duas primeiras etapas no processo de beneficiamento do vinho. Ambas estão ligadas à qualidade do produto final e, por conseguinte, devem ser supervisionadas para indicar os períodos corretos de plantio e colheita, evitando que o açúcar nas uvas seja em baixa concentração, o que causará uma baixa fermentação, ou que a uva passe do

ponto de maturação, quando a excessiva fermentação ocasiona um excesso de álcool e baixa acidez do vinho (PEREIRA; RIBEIRO, 2008).

Na etapa de recepção, por sua vez, é de importância que as uvas sejam mantidas em condições higiênicas adequadas nos tanques de recebimento e, para maior controle de produção, deve-se efetuar registros de dados referentes a peso, data, hora, fornecedor, região da colheita, tipo de uva e conteúdo de açúcares (SANTOS *et al.*, 2007).

Após a recepção, inicia-se a etapa de esmagamento e desengace. As bagas são rompidas por compressão ou choque dependendo da esmagadeira utilizada. Recomenda-se que, posteriormente o esmagamento, seja realizada a remoção do engaço através de desengaçadeira, visto que, sua permanência pode conferir características indesejáveis ao vinho (DIAS, 2009).

Com o mosto preparado, a etapa de fermentação é instaurada em pipas específicas. Normalmente essas pipas oferecem controle automatizado de temperatura (25 °C a 30 °C), permitindo controle da fermentação, por meio de troca de calor. Na fermentação, o contato com o ar deve ser evitado, tal que, o mesmo em contato com o vinho provoca a oxidação. Ao término da fermentação é acrescentado ácido ascórbico como antioxidante. Em seguida, o vinho é decantado e encaminhado para a segunda fermentação ou fermentação malolática (FERREIRA, 2010).

Finalizada a fermentação, o vinho bruto é submetido à etapa de clarificação, operação que tem por finalidade eliminar todas as substâncias em suspensão e outras em dissolução existentes nos vinhos, permitindo que o volume produzido se torne límpido e cristalino (SANTOS *et al.*, 2007).

O processo de maturação do vinho se inicia após sua fermentação e clarificação. Este processo tradicionalmente ocorre em barris de carvalho ou em tanques de aço inoxidável. Durante a maturação, o vinho sofre inúmeras alterações acompanhadas por modificações de cor, aroma e de sabor (FERREIRA, 2010).

Em seguida, ocorre a etapa de filtração, visando à remoção de partículas em suspensão, passando-se o líquido por um elemento filtrante. Isso permite que o vinho tinto adquira aspecto límpido e brilhante para então ser engarrafado. O engarrafamento consiste em inserir no recipiente certa quantidade de vinho, deixando um espaço vazio, necessário para aplicar o

sistema de vedação, assim como, para controlar eventual dilatação do recipiente (RIZZON; MENEGUZZO, 2006).

Estando o produto devidamente engarrafado, o mesmo é então destinado ao envelhecimento em caves climatizadas, que pode ter duração de um mês a vários anos. Nessa etapa ocorre acréscimo de qualidade do vinho, verificando a transformação do aroma em ésteres voláteis (SANTOS *et al.*, 2007), e a estabilização da cor do vinho.

2.3 BAGAÇO DE UVA

Na elaboração do vinho, o bagaço resultante da etapa de esmagamento ou prensagem das uvas é o principal subproduto, e representa cerca de 20% do peso original das uvas. Este é formado, em média, por 58% de cascas, 20% de engaços e 22% de sementes. O resíduo gerado pelas vinícolas tem elevadas quantidades de compostos fenólicos, conhecidos como antioxidantes naturais (FERREIRA *et al.*, 2012).

Os compostos fenólicos encontrados no bagaço de uva são principalmente antocianinas, flavonóis, flavonoides, ácidos fenólicos e resveratrol (SANTOS *et al.*, 2011; ROCKENBACH *et al.*, 2012). A distribuição geral e o conteúdo de compostos fenólicos presentes na uva estão representados na Figura 3 e na Tabela 2.

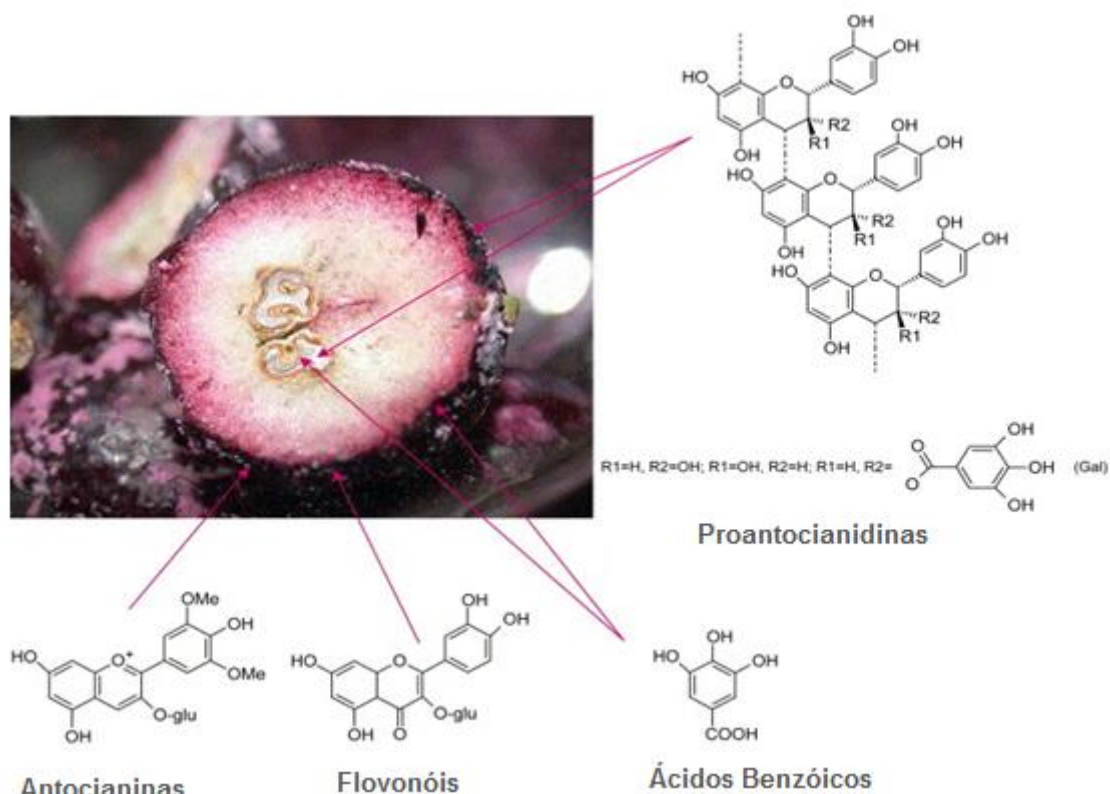


FIGURA 3 - IMAGEM TRANSVERSAL DE UMA UVA VERMELHA CONTENDO A CASCA, POLPA E SEMENTES E SEUS RESPECTIVOS COMPOSTOS BIOATIVOS.
 FONTE: Adaptado de PINELO; ARNOUS; MEYER (2006).

TABELA 2 – PRINCIPAIS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM DIFERENTES FRAÇÕES DA UVA

Compostos (mg g ⁻¹)	Bagaço de uva	Casca	Semente	Engaço
Ácidos Fenólicos	0,03 - 8,31	0,17 - 8,23	0,10 - 0,11	0 - 0,04
Favan-3-óis totais	0,34 - 4,25	0,12 - 3,38	3,56 - 6,15	0,22 - 0,89
Antocianinas totais	11,47 - 29,82	11,47 - 29,82	-	-
Flavonois totais	0,03 - 0,63	0,48 - 0,63	0,02 - 0,05	0 - 0,22

FONTE: Adaptado de PINELO; ARNOUS; MEYER (2006).

As antocianinas são compostos fenólicos mais importantes na casca da uva vermelha, mas existem alguns compostos secundários importantes para a sua atividade antioxidante, como a catequina, epicatequina, quercetina, rutina e trans-resveratrol. Eles são comprovadamente potentes antioxidantes e têm importantes propriedades biológicas, farmacológicas e medicinais (IACOPINI *et al.*, 2008; MORELLI; PRADO, 2012; MARQUÉS *et al.*, 2013).

O bagaço da uva vem sendo utilizado como ração animal e como adubo de vinhedos, beneficiando os sistemas agrícolas. No entanto, um destino mais nobre pode ser dado a esses resíduos industriais pela extração de substâncias com propriedades farmacológicas que estão presentes no bagaço de uva como antioxidantes e ácidos graxos (CAMPOS *et al.*, 2008; BRAHIM, *et al.*, 2014).

O emprego da extração de antocianinas do bagaço da uva constitui um custo-benefício promissor, ou seja, matéria-prima barata destinada a preparação de suplementos alimentares ou nutracêuticos; como ingrediente funcional e como aditivo para produtos alimentares, farmacêuticos e cosméticos (CACACE; MAZZA, 2003; ROCKENBACH *et al.*, 2011; LACHMAN *et al.*, 2013).

Por meio da recuperação deste composto antioxidante, os desperdícios contínuos da indústria de vinho passariam a representar um avanço significativo na manutenção do equilíbrio do meio ambiente, visto que nas vinícolas as grandes quantidades de resíduos gerados apresentam sérios problemas de armazenagem, de transformação, ou de eliminação, em termos ecológicos e econômicos. Esta situação explica o interesse crescente em explorar os subprodutos da vinificação (ROCKENBACH *et al.*, 2008; BARCIA *et al.*, 2014).

2.4 ANTOCIANINAS

As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonoides, sendo um grande grupo de pigmentos vegetais solúveis em água responsáveis por coloração de frutas e flores por iniciativa própria ou em conjunto com outros fitoquímicos (KAMIYA *et al.*, 2014; KRUGER *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2014). Seu espectro de cor varia do vermelho ao azul, apresentando-se também como mistura de ambas as cores, resultando em tons de púrpura (VOLP *et al.*, 2008).

Elas podem ser encontradas no vinho tinto, alguns cereais e vegetais de raiz (berinjelas, feijão, repolho, rabanete, cebola), mas principalmente à

presença em frutas vermelhas como cerejas, morangos, ameixas, amoras, framboesas, uvas, groselhas (FERNANDES *et al.*, 2014).

Atualmente, são conhecidas mais de 600 estruturas moleculares de antocianinas e 23 antocianidinas, enquanto que, apenas seis deles são comuns na natureza: cianidina, pelargonidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, como apresentado na Figura 4 (HAMINIUK *et al.*, 2012; KALISZ *et al.*, 2013). As principais diferenças entre as antocianinas individuais são o número de grupos hidroxilados; a natureza do composto; o número de açúcares ligados à sua estrutura; a presença de carboxilatos alifáticos ou aromáticos ligados ao açúcar na molécula e; a posição das ligações (KONG *et al.*, 2003).

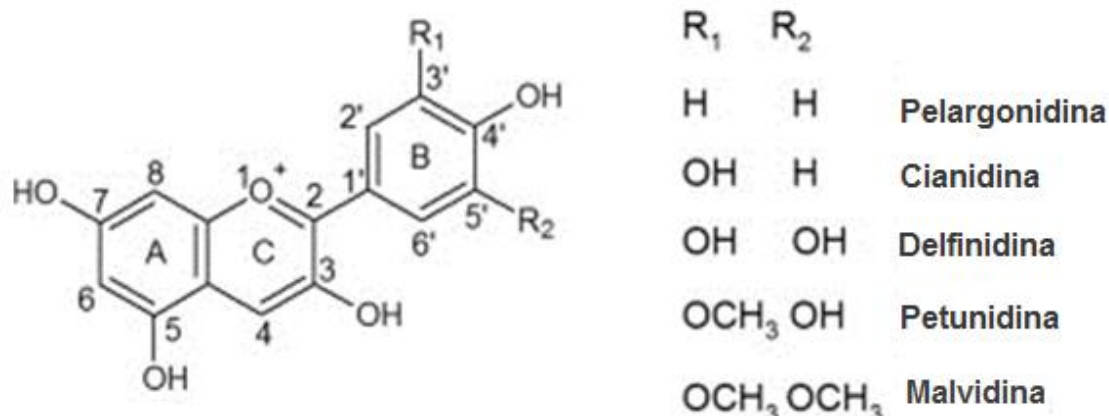


FIGURA 4 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS ANTOCIANINAS.
 FONTE: Adaptado de KALISZ *et al.* (2013).

As antocianinas têm propriedades físico-químicas que lhes conferem características de cor única e estabilidade. Elas são moléculas altamente reativas e portanto, sensível às reações de degradação. Oxigênio, temperatura, luz, enzimas e pH estão entre os fatores que podem afetar as antocianinas e consequentemente, a sua estabilidade e cor. As antocianinas podem ser degradadas por vários processos que ocorrem durante a sua extração, processamento e armazenamento de alimentos (CASTAÑEDA–OVANDO *et al.*, 2009; FERNANDES *et al.*, 2014).

Estudos epidemiológicos sugerem que o consumo de antocianinas reduz o risco de doença cardiovascular, câncer, diabetes e artrite, devido, pelo menos em parte, a sua atividade antioxidante e antiinflamatórias (WANG; STONER, 2008; SÓLYOM *et al.*, 2014; BURIN *et al.*, 2014).

A Tabela 3 apresenta estudos realizados com quatro variedades de uvas: Tannat, Bordô, Cabernet Sauvignon e Merlot, sendo apresentados os tipos de antocianinas mais importantes encontradas em suas respectivas amostras.

TABELA 3 – ANTOCIANINAS DETECTADAS NAS AMOSTRAS DE UVA TANNAT, BORDÔ, CARBENET SAUVIGNON E MERLOT

Autor/Ano	Uva	Antocianinas
González-Neves et al, 2012.	Tannat	Delfinidina; cianidina; petunidina; peonidina; malvidina.
Lago-Vanzela et al., 2011.	Bordô	Delfinidina-3,5-diglicosídeo; cianidina-3,5-diglicosídeo; petunidina-3,5-diglicosídeo; peonidina-3,5-diglicosídeo; malvidina-3,5-diglicosídeo; Malvidina-3-glicosídeo; delfinidina-3-glicosídeo; petunidina-3-glicosídeo; peonidina-3-glicosídeo; cianidina-3-glicosídeo.
Ruberto et al., 2007.	Cabernet Sauvignon.	peonidina-3-glicosídeo; delfinidina-3-glicosídeo; petunidina-3-glicosídeo; malvidina-3 glicosídeo;
Marquez et al., 2012.	Merlot	Delfinidina-3-glicosídeo; cianidina-3-glicosídeo; peonidina-3-glicosídeo; petunidina-3-glicosídeo; malvidina-3-glicosídeo;

2.5 ASPECTOS PROEMINENTES DA CERVEJA

A história da cerveja está intrinsecamente relacionada com o desenvolvimento da humanidade. Com a expansão do cultivo de cereais, uma forte ligação entre a produção de cereais e a fabricação da bebida começou particularmente no antigo Egito, na Mesopotâmia e no Oriente Médio em torno de 6000 a.C. (MARDEGAN *et al.*, 2013).

No Brasil, o hábito de tomar cerveja foi trazido por D. João VI, no início do século XIX, durante a permanência da família real portuguesa em território brasileiro. Nessa época, a cerveja consumida era importada de países europeus. Mais tarde, em 1888, foi fundada na cidade do Rio de Janeiro a Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia. e, poucos anos depois, em 1891 na cidade de São Paulo, a Companhia Antártica Paulista (VENTURINI, 2010).

Devido à alta produção da bebida em escala mundial, a cerveja é considerada a bebida mais amplamente consumida no mundo e, provavelmente, a mais antiga dentre as alcoólicas, sendo a terceira bebida mais popular em geral, depois da água e chá (CETÓ *et al.*, 2013).

Até agora, diferentes estilos de cerveja foram criadas em todo o mundo, distinguindo em características como, sabor, cor e aroma. Resultante desta variabilidade de composição, a cerveja é geralmente classificada em dois tipos principais, baseados na levedura utilizada para a fermentação. O primeiro são as cervejas do tipo *Ale*, que tem por característica alta fermentação. O segundo grupo, conhecido como cervejas do tipo *Lager*, utilizam baixa fermentação (GUTIÉRREZ *et al.*, 2013).

De acordo com estatísticas, a produção de cerveja subiu 3,7% de 2010 a 2011, marcando seu 27^o ano consecutivo de crescimento, intitulado a China o maior país produtor do mundo pelo décimo ano consecutivo, sendo os Estados Unidos o segundo maior produtor. A China teve um acréscimo de produção de 10,7% em 2011 com relação ao ano de 2010. O Brasil alcançou em 2011 um crescimento de 3,4%, depois de reportar um aumento anual de 18,2% em relação a 2010, sendo o terceiro maior país produtor de cerveja, ultrapassando países como a Rússia, além de alcançar a marca de crescimento percentual significativos nos últimos 11 anos (BALDO *et al.*, 2014).

2.6 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA

A cerveja é obtida pela fermentação da cevada, que consiste na conversão em álcool dos açúcares presentes nos grãos de cevada. A fermentação é a principal etapa do processo cervejeiro e sua efetividade

depende de várias operações anteriores, incluindo o preparo das matérias-primas (SANTOS; RIBEIRO, 2005).

A Figura 5 apresenta o diagrama representativo das principais etapas da produção de cerveja.

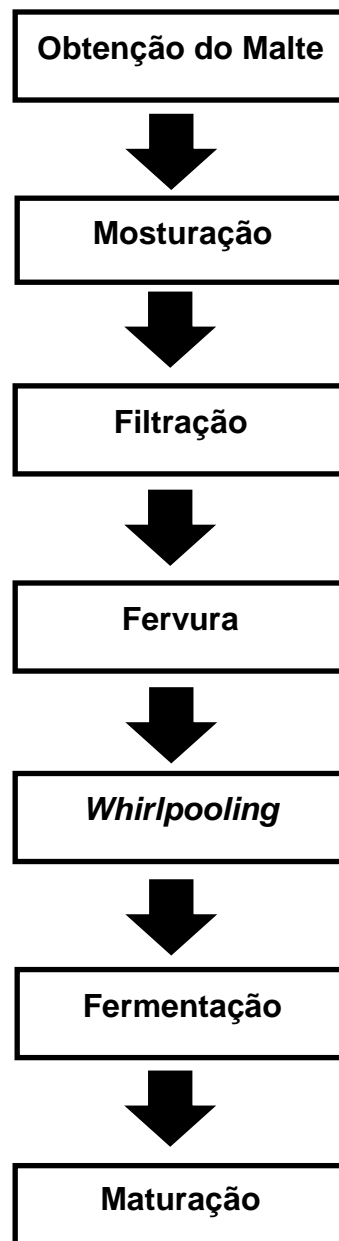


FIGURA 5 – DIAGRAMA REPRESENTATIVO DAS PRINCIPAIS ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA.

A fabricação da cerveja consiste primeiramente na obtenção do malte de cevada através da germinação de grãos da cevada em condições especiais.

Este malte é moído ou triturado e misturado com água. As enzimas presentes no próprio malte, que são ativadas de acordo com um perfil de temperaturas controladas, irão hidrolisar os polímeros presentes, como: amido em dextrinas, mono, di e trissacarídeos e proteínas em peptídeos e aminoácidos. Essa fase do processo é denominada mosturação. A fração insolúvel do mosto obtido é então filtrada, normalmente utilizando-se a própria casca do malte como camada filtrante (CARVALHO *et al.*, 2007).

Após a mosturação, dá-se início a etapa de fervura do mosto, onde é acrescentado o lúpulo, visando a aquisição das características de amargor. Neste estágio, pode-se adicionar ou não o adjunto de alto teor de maltose como complemento ao mosto cervejeiro. Ao término da fervura e obtenção da concentração desejada do mosto, ocorre a etapa do *whirlpooling*, onde há a precipitação de proteínas, compostos fenólicos e outros materiais insolúveis que constituem um sedimento denominado de *trub*. Este sedimento é removido e o mosto é resfriado até a temperatura de fermentação, quando normalmente é aerado e inoculado (SILVA, 2005).

O processo de fermentação tem como objetivo principal a conversão de açúcares em etanol e gás carbônico e compostos aromáticos pela levedura sob condições anaeróbicas. As leveduras produzem os compostos do aroma e do sabor da cerveja como subprodutos da síntese de substâncias necessárias ao seu crescimento e metabolismo, e os teores destes compostos variam com os padrões de crescimento celular, que são influenciados pelas condições de processo (VENTURINI, 2005).

Logo após a fermentação ocorre a maturação, ou também denominada de fermentação secundária, sendo que os principais objetivos são: estabilizar o diacetil, composto formado na fermentação primária; iniciar a clarificação da cerveja pela sedimentação de células de leveduras e proteínas; propiciar a carbonatação (quando em baixa temperatura, o gás carbônico é absorvido pela cerveja); melhorar o odor e sabor da cerveja, pela redução de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico (BORTOLI *et al.*, 2013).

Finalmente, a cerveja é estabilizada pelo resfriamento a temperatura igual ou inferior a 0 °C por um período de até três dias. Diferentes agentes estabilizantes, como sílica gel e taninos, podem ser utilizados. Leveduras e complexos entre proteínas e compostos fenólicos irão precipitar, sendo filtrados

em seguida. A carbonatação, a pasteurização e o envase finalizam o processo de produção (CARVALHO *et al.*, 2007).

2.7 LEVEDURAS *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

As leveduras são microrganismos eucarióticos predominantemente unicelulares do reino Fungi. Sua reprodução vegetativa se faz, geralmente por gemulação ou brotamento (CARVALHO *et al.*, 2006).

As leveduras cervejeiras catabolizam os açúcares mais simples em dois caminhos metabólicos: via respiratória e via fermentativa. No início, sob condições de aerobiose, elas oxidam as moléculas simples de açúcar e produzem gás carbônico, água e energia. Quando o oxigênio acaba, as leveduras utilizam a via fermentativa, onde, em anaerobiose, fermentam uma molécula simples de açúcar produzindo duas moléculas de etanol, duas de gás carbônico e energia (BORTOLI *et al.*, 2013).

O Brasil produz atualmente uma grande quantidade de biomassa de levedura, como subproduto das indústrias de cerveja e das destilarias produtoras de etanol (PÁDUA *et al.*, 2000).

A biomassa da levedura *Saccharomyces* é o segundo maior subproduto da indústria cervejeira. Seu uso ainda é limitado, sendo basicamente utilizado como ração animal (FERREIRA *et al.*, 2010).

Segundo estudos de Machado *et al.* (2008) e Khakpour *et al.* (2014), as células de levedura possuem capacidade de acumular uma ampla gama de metais pesados em diversas condições externas. Assim, eles também constituem uma alternativa de tratamento de águas residuais, onde a rentabilidade é a atração principal.

Jianlong (2002) e Gohari *et al.* (2013), afirmam que a absorção de íons metálicos de soluções aquosas a partir da biomassa ocorre através de interações com grupos funcionais (proteínas, lipídeos e carboidratos), que formam a parede da célula. Para maximizar a eficiência da biomassa, a identidade dos grupos funcionais responsáveis pela ligação de metais é muito importante.

As leveduras recebem pouca atenção como uma mercadoria negociável, e sua disposição muitas vezes é um problema ambiental. No entanto, pode ser de valor como uma matéria-prima com diferentes utilizações. Várias tentativas têm sido feitas para utilizá-los em processos biotecnológicos, como por exemplo, em processos fermentativos para a produção de compostos de valor acrescentado, tais como o etanol; como substrato para o cultivo microrganismos, ou simplesmente matéria-prima para a extração de compostos (FERREIRA *et al.*, 2010).

2.8 ADSORÇÃO OU BIOSORÇÃO

A adsorção é um fenômeno físico-químico de transferência no qual um ou mais constituintes em uma fase gasosa ou líquida (adsorvato) são transferidos para a superfície de uma fase sólida (adsorvente) (RUTHVEN, 1984).

Os mecanismos de transferência de massa presentes no processo de adsorção são os seguintes: 1) difusão do soluto do seio da fase fluida para a superfície do adsorvente (difusão no filme líquido estagnado); 2) Adsorção do soluto na superfície do adsorvente; 3) Difusão do soluto nos poros do adsorvente. Essas etapas estão ilustradas na Figura 6 (BORBA *et al.*, 2012).

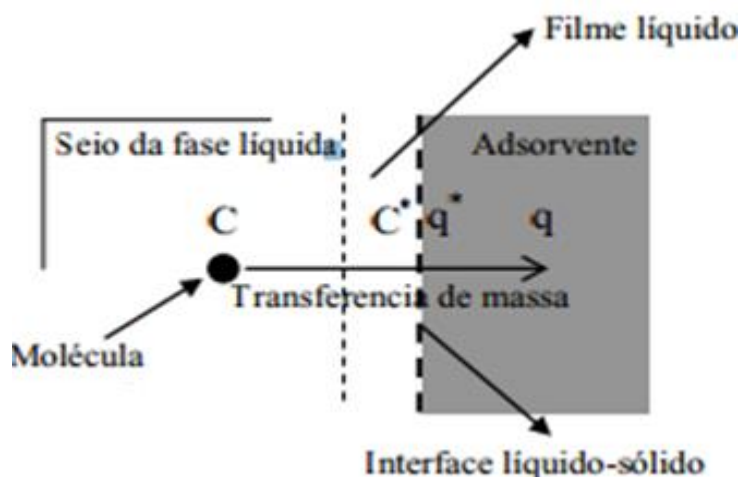


FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DOS MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE ADSORÇÃO.

FONTE: BORBA *et al.*(2012).

A adsorção pode ser de natureza química ou física. Na adsorção química (quimiossorção) a energia de ligação envolvida é da mesma ordem de grandeza das ligações químicas de formação das substâncias. Por esse motivo, a adsorção química é quase sempre irreversível. Já as forças envolvidas na adsorção física (fisiossorção) incluem forças de Van der Waals (repulsão e dispersão) e interações eletrostáticas compreendendo as interações de polarização e dipolo (RUTHVEN, 1984; YOUSSEF *et al.*, 2004).

A adsorção de base biológica mais conhecida com biossorção tem sido definida como a propriedade de determinadas biomoléculas (ou tipos de biomassa) para ligar e concentrar íons selecionados ou outras moléculas a partir de soluções aquosas. Ao contrário de um fenômeno muito mais complexo de bioacumulação com base no transporte metabólico ativo, a biossorção por biomassa morta (ou por algumas moléculas e/ou seus grupos ativos) é passiva e baseada principalmente na "afinidade" entre o bioabsorvente e adsorvato (VOLESKY, 2007).

O processo de biossorção envolve uma variedade de mecanismos destacando-se a: troca iônica, complexação, adsorção física e/ou química, coordenação, quelação e microprecipitação inorgânica (BORBA *et al.*, 2006).

Existem vários fatores que podem influenciar a melhoria no desempenho do fenômeno de biossorção, dentre eles estão: o tipo de

biomassa, o pH da solução, temperatura da solução, a presença de outros íons concorrentes (cátions e ânions) e a força iônica (OLIVEIRA, 2012).

Apesar dos altos graus de desestabilização do sistema, o processo de biossorção apresenta vantagens como, aplicação de um material adsorvente de baixo custo e biodegradáveis, e a realização de elevada eficiência de remoção de substâncias em baixas concentrações (CAPRIO *et al.*, 2014). Sendo assim, a biossorção tem sido empregada principalmente na remoção de metais pesados a partir de soluções aquosas, sendo uma alternativa viável tecnicamente e economicamente atraente para os métodos convencionais para a remoção de metais pesados a partir de águas residuais industriais. Por isso a biossorção se tornou um dos métodos preferidos para a remoção de metais pesados nos últimos anos (TAŞAR *et al.*, 2014).

No caso de adsorção de antocianinas, existem estudos apenas utilizando adsorventes sintéticos (SCORDINO *et al.*, 2004; LIU *et al.*, 2007; CHANG *et al.*, 2012; KOHNO *et al.*, 2014). Sendo que não há relatos de utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para esse processo.

2.9 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

Os modelos cinéticos envolvem a relação da concentração do adsorvato com o tempo de agitação. A concentração do adsorvato em solução decresce com o tempo, até atingir um valor constante. Neste ponto, a quantidade do adsorvato que está sendo adsorvida pelo adsorvente encontra-se em equilíbrio dinâmico com a quantidade que está se desorvendo. O tempo necessário para alcançar este estágio é chamado de tempo de equilíbrio e, a quantidade do adsorvato retido neste tempo reflete a capacidade de adsorção no equilíbrio em condições de operação estabelecidas. A massa de adsorvato retido por unidade de massa de matéria adsorvente (q_t) no tempo t (mg g^{-1}), é calculada por meio de um balanço de massa de acordo com a Equação 1 (DABROWSKI, 2001).

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)}{m} V \quad (1)$$

Sendo que:

C_0 : é a concentração inicial de adsorvato (mg L^{-1});

C_t : concentração de adsorvato no tempo t (mg L^{-1});

V : volume da batelada (L);

m : massa do material adsorvente (g).

A fim de examinar os mecanismos de controle do processo de adsorção, o modelo de cinética pseudo-segunda ordem foi utilizada para testar os dados experimentais (OZTURK; KAVAK, 2005).

A Equação 2 expressa a equação de pseudo-segunda ordem :

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (2)$$

Onde q_e e q_t são a capacidade de sorção em equilíbrio e no tempo t , respectivamente (mg g^{-1}) e k_2 é a constante da taxa de pseudo-segunda ordem de sorção ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$) (HO; MCKAY, 1998).

Depois de integrar a Equação 2 para condições de contorno $q_t = 0$ em $t = 0$ e $q_t = q_t$ em $t = t$, a seguinte Equação (3) linearizada pode ser obtida:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3)$$

Em seguida, as constantes q_e e k_2 podem ser determinadas experimentalmente a partir da inclinação e interceptação no gráfico de t/q_t versus t (HAMAYUN *et al.*, 2014).

2.10 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

A isoterma de adsorção é a relação de equilíbrio entre a concentração na fase fluida e a concentração nas partículas adsorventes a uma dada temperatura (MCCABE *et al.*, 1993).

Em geral, a isoterma de adsorção descreve como adsorvatos interagem com adsorventes e por isso é essencial para a otimização da utilização de adsorventes (ANIRUDHAN; RADHAKRISHNAN, 2008).

Alguns dos modelos mais aplicados para isotermas são as Isotermas de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich.

O modelo de isoterma de Langmuir assume que todas as forças que atuam na adsorção são similares em natureza àquelas que envolvem uma reação química e que a sorção se resume em uma única camada de moléculas da substância sobre a superfície das partículas sólidas (LANGMUR, 1918).

A Isoterma Langmuir é representada pela Equação 4:

$$q_{eq} = \frac{q_0 K_L C_{eq}}{1 + K_L C_{eq}} \quad (4)$$

Em que, C_{eq} (mg L^{-1}) é a concentração de equilíbrio na fase fluida e q_{eq} (mg g^{-1}) a quantidade adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de adsorvente. O parâmetro q_0 (limite de saturação mg g^{-1}) está relacionado com a capacidade máxima de adsorção e K_L (constante de Langmuir) (L mg^{-1}) é a razão entre a constante cinética de adsorção e constante cinética de dessorção.

A isoterma der Langmuir pode ser linearizada, obtendo – se a Equação 5:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_0 K_L} + \frac{C_e}{q_0} \quad (5)$$

Um outro parâmetro importante do modelo isotérmico de Langmuir é o termo " R_L ", que é uma constante adimensional e chamado de fator de separação ou parâmetro de equilíbrio, e é representada pela Equação 6:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (6)$$

Onde, C_0 (mg L^{-1}) expressa concentração inicial adsorvido em solução aquosa, K_L (L mg^{-1}) é a constante de Langmuir. O parâmetro R_L dá importantes sinais sobre a compatibilidade de adsorção para o par adsorvente-adsorvato selecionado (BERA *et al.*, 2013). Há quatro possibilidades para o valor de R_L valor:

No caso de $0 < R_L < 1$, a adsorção é favorável.

No caso de $R_L > 1$, a adsorção é desfavorável.

$R_L = 1$ indica linearidade de adsorção.

No caso de $R_L = 0$, a adsorção é irreversível.

O modelo de isoterma de Freundlich considera que a adsorção ocorre em multicamadas e é útil para descrever a adsorção em superfícies altamente heterogêneas (FREUNDLICH, 1906). A Equação 7 descreve a isoterma de Freundlich:

$$q_{eq} = k_F C_{eq}^{\frac{1}{n}} \quad (7)$$

Sendo que a forma linearizada da isoterma de Freundlich é expressa pela Equação 8:

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (8)$$

Onde K_F ($L g^{-1}$) e n são constantes empíricas. K_F está relacionado com a capacidade de adsorção do adsorvente e n representa a intensidade de adsorção. A adsorção é favorável quando $1 < n < 10$.

A isoterma de Temkin propõe um modelo que considera os efeitos das interações indiretas entre as moléculas de adsorvato. Este modelo parte do princípio que o processo de adsorção é caracterizado por uma distribuição uniforme da energia de ligação, até a um máximo de ligação de energia (ΔL_{max}) e o calor de adsorção de todas as moléculas da camada diminui linearmente com o grau de cobertura, devido as interações adsorvente-adsorvato (TEMKIN; PYZHEV, 1940). A isoterma de Temkin é dada pela Equação 9:

$$q_e = \frac{RT}{b} [\ln (A C_e)] \quad (9)$$

A Equação 9 pode ser expressa na sua forma linear, obtendo-se a Equação 10:

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad (10)$$

Tal que, $B=RT/b$, T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante universal dos gases ($8,314 J.mol^{-1}K^{-1}$). A constante adimensional B está relacionada com o calor de adsorção. De acordo com a Equação 10, um gráfico de q_e versus $\ln C_e$ permite a determinação das constantes A e B da isoterma (FARAH *et al.*, 2007).

A isoterma de Dubinin-Radushkevich é aplicada para distinguir se o processo de adsorção é de natureza física ou química. Baseando-se no modelo de Dubinin-Radushkevich, a vizinhança da superfície do sólido é caracterizada por uma série de equipotenciais superficiais tendo o mesmo potencial de sorção. A isoterma de Dubinin-Radushkevich pode ser representada pela Equação 11 (DUBININ; RADUSHKEVICH, 1947):

$$q_e = q_s \exp(\beta \varepsilon^2) \quad (11)$$

A forma linear da isoterma pode ser expressa de acordo com a Equação 12:

$$\ln q_e = \ln q_s - \beta \varepsilon^2 \quad (12)$$

Onde q_s representa a capacidade máxima teórica (mol g^{-1}), β é a constante de modelo Dubinin-Radushkevich (D-R) [$\text{mol}^2 (\text{kJ}^2)^{-1}$], ε é o potencial Polanyi, que pode ser calculado pela Equação 13 (ABDELWAHAB; AMIN, 2013):

$$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (13)$$

Onde R é a constante universal dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e T é a temperatura da solução absoluta (298,15 K) (CHOY *et al.*, 1999).

Um gráfico de $\ln q$ versus ε^2 é usado para estimar q_s e a constante β . A constante β representa a energia livre de adsorção (E) e é calculada utilizando a Equação 14 (HAMAYUN *et al.*, 2014):

$$E = \frac{1}{\sqrt{-2\beta}} \quad (14)$$

O valor de E pode ser aplicado para determinar se a adsorção ocorre como um mecanismo de adsorção química ou física. Quando E situa-se entre 8

e 16 kJ mol^{-1} a adsorção é um processo químico e quando $E < 8 \text{ kJ mol}^{-1}$ esse processo é físico (MACIEL *et al.*, 2013).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

3.1.1 Bagaço de Uva

As amostras dos bagaços das uvas foram obtidas do processo de fabricação de vinhos, sendo que três amostras dos bagaços das uvas são da espécie *Vitis vinifera*, das variedades Merlot, Cabernet Sauvignon e Tannat, e uma amostra da espécie *Vitis labrusca*, da variedade Bordô. As uvas foram cultivadas, colhidas e processadas na região de Toledo – PR, Brasil.

Todas as amostras foram submetidas ao processo de secagem em estufa de circulação de ar por 36 horas a temperatura de 40 °C (Figura 7). Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas e acondicionadas em embalagens plásticas de polietileno de baixa densidade (PEBD) seladas a vácuo e ao abrigo da luz. As amostras foram armazenadas à -20 °C em congelador até o momento das análises.



FIGURA 7 – AMOSTRAS DAS VARIEDADES DE UVAS MOIDAS APÓS A SECAGEM EM ESTUFA DE CIRCULAÇÃO DE AR POR 36 HORAS À TEMPERATURA DE 40 °C.

3.1.2 Biossorvente *Saccharomyces cerevisiae*

O biossorvente utilizado nos experimentos foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* esgotada do processo fermentativo alcoólico da produção de cerveja do tipo Pilsen, realizado na Micro Cervejaria Bier Hoff, localizada na cidade de Curitiba – PR, Brasil.

O resíduo da levedura foi lavado com água destilada (Figura 8A) e seco em estufa de circulação de ar a 40°C por 24 horas (Figura 8B). Em seguida, foi triturado em moinho de facas, armazenado em embalagens

plásticas de polietileno de baixa densidade (PEBD) seladas a vácuo e, refrigerado a 5 °C até a realização dos experimentos.

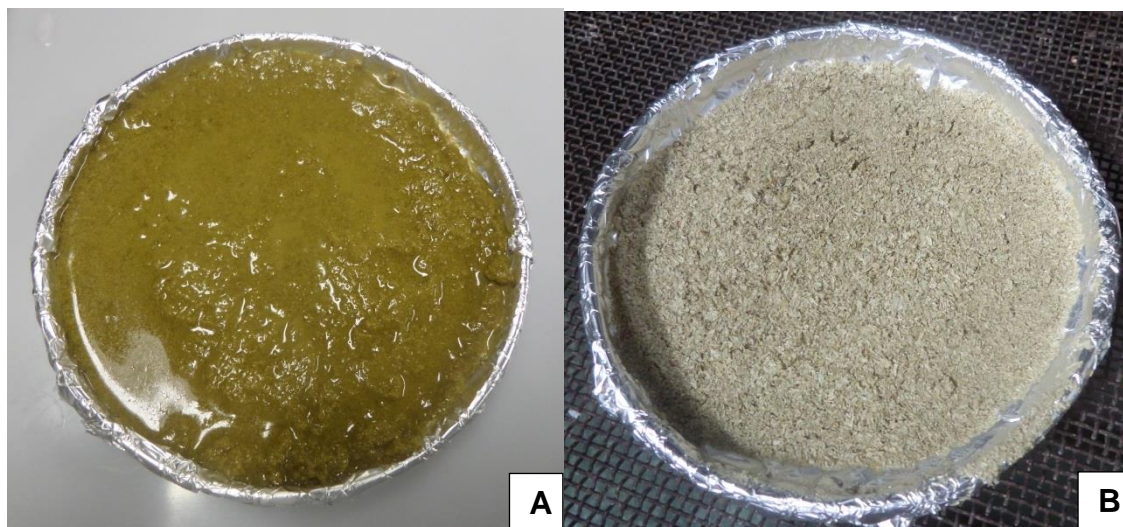


FIGURA 8 – RESÍDUO DE LEVEDURA LAVADO (A). RESÍDUO DE LEVEDURA SECO (B)

3.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DA EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS

O planejamento experimental foi realizado para a otimização da extração de antocianinas dos bagaços das uvas. Foi avaliada a influência de três variáveis independentes do processo de extração (temperatura, razão sólido-líquido e concentração de solventes – água e etanol) sobre a variável dependente (concentração de antocianinas). Para o planejamento experimental foi utilizado o Delineamento Composto Central Rotacional com oito pontos fatoriais, seis axiais e cinco repetições no ponto central, totalizando dezenove experimentos. Os níveis codificados das variáveis independentes e o número de experimentos estão apresentados na Tabela 4 e os valores reais das variáveis estão dispostos na Tabela 5.

TABELA 4 – DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL.

Experimentos	Temperatura (°C)	Razão Sólido – Líquido (1:X)	Concentração do Solvente (%)
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0

TABELA 5 - VALORES REAIS DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES

Variáveis independentes	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Temperatura (°C)	23,2	30	40	50	56,8
Razão sólido-líquido (1:X)	13,2	20	30	40	46,8
Concentração do solvente (%)	6,4	20	40	60	73,6

Após a obtenção da variável resposta “concentração de antocianinas” (mg L^{-1} de extrato) de cada variedade de bagaço de uva, foram realizadas as extrações em uma incubadora refrigerada com agitação (100 rpm) nas condições ótimas de temperatura, razão sólido-líquido e concentração de solventes utilizando água e etanol para a realização da biossorção.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

A quantificação das antocianinas totais presente nas amostras (bagaço de uva e levedura) foi realizada pelo método de diferencial do pH proposto por Giusti & Wrolsted (2001). As soluções tampão utilizadas foram o tampão

cloreto de potássio ($0,025 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0) e tampão acetato de sódio ($0,4 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5). As amostras foram diluídas na proporção 1:20, onde $200 \mu\text{L}$ de extrato foram misturados com $3800 \mu\text{L}$ de cada solução tampão. Após a diluição, os extratos foram mantidos em repouso por 15 minutos a temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e ao abrigo de luz. A absorbância A de 510 e 700 nm foi calculada pela Equação 15:

$$A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (15)$$

Sendo que, $A_{510\text{nm pH}1,0}$ e $A_{700\text{nm pH}1,0}$ são as absorbâncias das amostras na diluição do pH1,0 a 510 e 700nm, respectivamente. Enquanto $A_{510\text{nm pH}4,5}$ e $A_{700\text{nm pH}4,5}$ são as absorbâncias das amostras na diluição do pH 4,5 para 510 e 700 nm.

A concentração do pigmento de antocianina (MA) foi expressa em gramas de cianidina-3-glicosídeo 1000 mL^{-1} de extrato, e foi calculada de acordo com a Equação 16:

$$MA = \frac{A \times M \times FD \times 1000}{\epsilon \times L} \quad (16)$$

Sendo que, A é a absorbância calculada na Equação 15; M é massa molar de cianidina-3-glicosídeo ($449,2 \text{ g mol}^{-1}$); FD é o fator de diluição (4,0); ϵ é o coeficiente de extinção molar ($26\,900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e L é o comprimento do caminho óptico (1 cm).

3.4 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

Para a realização da cinética de biossorção foram utilizados frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mg da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (peso seco) e 12,5 mL de solução obtida da extração hidroalcoólica do bagaço de uva (na região otimizada). Os Erlenmeyers foram agitados em uma incubadora refrigerada com agitação, a 140 rpm e 25 °C. As amostras foram retiradas em intervalos regulares de 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas para análise da concentração de antocianinas em solução, como descrito no tópico 3.3. Antes da quantificação de antocianinas, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 30 minutos. A quantidade adsorvida (q_t), em mg/g, foi determinada por balanço de massa conforme a Equação 1.

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)}{m} V \quad (1)$$

A modelagem cinética dos dados experimentais foi realizada empregando o modelo matemático de pseudo-segunda ordem, segundo a Equação 2.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2)$$

3.5 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

As isotermas de equilíbrio de adsorção foram obtidas em Erlenmeyers com 50 mg de levedura em 12,5 mL de solução de antocianinas em diferentes concentrações, em agitação a 140 rpm e 25 °C por 120 min (o tempo de equilíbrio que foi obtido a partir da cinética de adsorção). Foram utilizados os Modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich (Tabela 6), para descrever e avaliar o comportamento do processo de adsorção das antocianinas em *Saccharomyces cerevisiae*.

TABELA 6 – MODELOS DE ISOTERMAS

Isoterma	Equação	
Langmuir	$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_o K_L} + \frac{C_e}{q_o}$	(5)
Freundlich	$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	(8)
Temkin	$q_e = B \ln A + B \ln C_e$	(10)
Dubinin-Radushkevich	$\ln q_e = \ln q_s - \beta \varepsilon^2$	(12)

Nota: q_e = capacidade de sorção em equilíbrio (mg g^{-1}); C_e = concentração de equilíbrio na solução (mg L^{-1}); q_o = capacidade de cobertura máxima em monocamada (mg g^{-1}); K_L = constante da isoterma de Langmuir (L mg^{-1}); A = constante da isoterma de ligação de equilíbrio (L g^{-1}); B = constante da isoterma de Temkin (J mol^{-1}); K_F = constante da isoterma de Freundlich (L g^{-1}); n = intensidade de adsorção; q_s = capacidade de saturação teórica (mg g^{-1}); β = constante da isoterma de Dubinin-Radushkevich [$\text{mol}^2 (\text{kJ}^2)^{-1}$]; ε = potencial Polanyi.

3.6 ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A análise de FTIR baseia-se na excitação de vibração das ligações moleculares por absorção de energia luminosa infravermelha (apenas a secção média do infravermelho). A soma dos espectros vibracionais para uma macromolécula celular (ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos, polissacarídeos, etc.) pode produzir um espectro de absorção infravermelho que se parece com

uma "impressão digital" molecular para tal material biológico (TAHA *et al.*, 2013).

As pastilhas para a análise FTIR (Shimadzu, FTIR - 8300) foram preparadas com a adição de aproximadamente 100 mg de Brometo de Potássio (KBr) seco (padrão cromatográfico) com 1 mg da amostra adsorvida finamente moída. A mistura foi prensada em uma prensa hidráulica usando molde específico. Aplicou-se aproximadamente $360 \text{ kgf (cm}^2\text{)}^{-1}$ para produzir a pastilha transparente. As pastilhas foram posicionadas no feixe do instrumento e os espectros foram obtidos na faixa de $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$.

3.7 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A análise de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para avaliar o processo de adsorção as antocianinas dos extratos dos bagaços de uva (fingerprint) na levedura. Foi utilizado um sistema Dionex Ultimate 3000 HPLC equipado com uma bomba Ultimate 3000, coluna do compartimento de amostra Ultimate 3000, detector de fotodiodo Ultimate 3000 e software Chromeleon. Foi utilizada uma coluna de fase reversa Acclaim® 120, C18 5 μm 120 A (4,6 mm x 250 mm) para a separação das antocianinas. A coluna foi mantida a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante toda a análise e a detecção foi realizada em 517 nm. O volume de injeção das amostras foi de 5 μL . A fase móvel (A) foi composta de água acidificada com ácido fosfórico 1% e metanol fase (B). O gradiente dos solventes foi: 0-15 % B em 2 min, 15-25 % B em 5 min, 25-30 % B em 10 min, 30-35 % B em 15 min, 35-50 % B em 25 min, 50-60 % B em 30 min, 60-80 % B em 35 min, 80-100 % B em 45 min e 100-5 % B em 60 min. A vazão de trabalho foi de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. O tempo total da análise foi de 60 minutos e realizada em triplicada.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados do Delineamento Composto Central Rotacional foram expressos com os valores das médias e o desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas com o software Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

A metodologia de superfície de resposta (RSM) foi usada para modelar a extração de antocianinas dos bagaços das uvas. Para isto, um modelo polinomial de segunda ordem foi utilizado na análise dos dados experimentais. O modelo generalizado usado na análise de RSM é mostrado na Equação (17).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (17)$$

onde Y é a resposta prevista, β_0 é constante, β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão linear, quadrático e de interação, respectivamente. X_i e X_j são as variáveis independentes (BRUNS *et al.*, 2006).

A significância estatística dos termos nas equações de regressão foi examinada por meio da ANOVA para cada resposta. Os termos com resultados estatisticamente não significativos foram excluídos do modelo inicial e os dados experimentais foram testados novamente apenas para os parâmetros significativos ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi utilizada com o objetivo de determinar as melhores condições para a extração das antocianinas monoméricas das quatro amostras de bagaço de uvas estudadas pelo uso de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Em geral, a eficiência da extração de um composto é influenciado por vários parâmetros, tais como temperatura, tempo e polaridade do solvente, entre outros, e seus efeitos podem ser independentes ou interativos (MONTGOMERY, 2001). A utilização desta ferramenta estatística tem possibilitado a obtenção otimizada de biomoléculas de interesse na indústria de alimentos, que no caso deste trabalho são as antocianinas pertencentes a classe dos compostos fenólicos.

Compostos fenólicos são metabólitos secundários amplamente encontrados na natureza, representados principalmente pelos flavonoides e ácidos fenólicos. O crescente interesse nestas substâncias deve-se principalmente ao seu potencial antioxidante e associação entre o consumo e a prevenção de algumas doenças (HAMINIUK *et al.*, 2012).

A Tabela 7 apresenta as concentrações de antocianinas nas amostras dos extratos dos bagaços das uvas estudadas neste trabalho. A variedade do extrato do bagaço da uva Bordô apresentou as maiores concentrações de antocianinas monoméricas (valor médio) de acordo com o delineamento experimental ($181,52 \text{ mg L}^{-1}$), enquanto que o extrato do bagaço da uva Merlot apresentou as menores concentrações dos flavonoides estudados (valor médio). O experimento 11 do delineamento composto central rotacional, onde utilizou-se uma temperatura de $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, razão sólido-líquido de 1:13,18 e concentração de etanol de 40% resultou nas maiores concentrações de antocianinas para as quatro amostras de extratos dos bagaços das uvas avaliadas ($181,52 \text{ mg L}^{-1}$ para a Bordô, $146,95 \text{ mg L}^{-1}$ para a Tannat, $47,26 \text{ mg L}^{-1}$ para a Merlot e $46,59 \text{ mg L}^{-1}$ para a variedade Carbernet Sauvignon).

TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS OBTIDAS NA EXTRAÇÃO PELO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL

Experimentos	Temperatura (°C)	Razão sólido-líquido (1:X)	Concentração do solvente (%)	*Bordô (mg L ⁻¹)	*Cabernet (mg L ⁻¹)	*Merlot (mg L ⁻¹)	*Tannat (mg L ⁻¹)
1,0	30,00	20,00	20,00	116,39	27,89	21,88	68,80
2,0	30,00	20,00	60,00	139,10	38,57	31,73	99,36
3,0	30,00	40,00	20,00	64,12	9,52	12,19	40,58
4,0	30,00	40,00	60,00	72,81	17,37	18,70	53,44
5,0	50,00	20,00	20,00	123,24	27,55	25,22	75,81
6,0	50,00	20,00	60,00	131,25	43,08	39,08	95,52
7,0	50,00	40,00	20,00	68,13	16,87	15,53	40,58
8,0	50,00	40,00	60,00	69,97	22,04	22,04	45,09
9,0	23,18	30,00	40,00	96,85	18,54	22,38	60,95
10,0	56,82	30,00	40,00	84,66	31,90	26,38	69,13
11,0	40,00	13,18	40,00	181,52	46,59	47,26	146,95
12,0	40,00	46,82	40,00	53,77	20,21	15,20	42,75
13,0	40,00	30,00	6,36	65,63	13,69	10,02	37,74
14,0	40,00	30,00	73,64	86,33	23,88	32,40	69,30
15 (C)	40,00	30,00	40,00	92,51	25,22	23,04	67,63
16 (C)	40,00	30,00	40,00	94,18	26,05	22,21	65,46
17 (C)	40,00	30,00	40,00	91,34	24,55	21,71	66,13
18 (C)	40,00	30,00	40,00	92,18	26,22	22,04	64,63
19 (C)	40,00	30,00	40,00	93,35	26,72	23,21	69,63

* concentração de antocianinas estimada em cianidina-3-glicosídeo (massa molar 449,2 g mol⁻¹ e coeficiente de extinção molar 26.900 L (mol.cm)⁻¹).

A Tabela 8 mostra os resultados do teste de significância para os coeficientes de regressão dos modelos polinomiais da extração de antocianinas dos bagaços das uvas das variedades Bordô, Cabernet Sauvignon, Merlot e Tannat. Para avaliação dos modelos os coeficientes lineares e quadráticos avaliados foram considerados significativos para um p-valor com nível de significância menor que 0,05. De maneira geral, pode-se observar que dentre as variáveis avaliadas a razão sólido - líquido e concentração de solvente foram significativas na extração das antocianinas para as quatro amostras (coeficientes lineares e quadráticos), embora o coeficiente quadrático da concentração de solvente para o bagaço da variedade Merlot tenha apresentado um valor de $p > 0,05$. Em todos os modelos analisados os coeficientes lineares da relação soluto/solvente reduziram o rendimento da extração, enquanto que os quadráticos contribuíram positivamente. A concentração de solvente contribuiu positivamente e os efeitos quadráticos

foram significativamente negativos. A temperatura apenas influenciou de forma linear e positivamente a extração nas variedades Cabernet Sauvignon e Merlot.

Os modelos propostos usando a metodologia de superfície de resposta (MSR) foram avaliados através dos valores de F e pela ANOVA de fator único, além da avaliação da normalidade dos resíduos, de maneira a verificar o ajuste e a significância estatística de cada um. Portanto, todos os modelos encontrados foram significativos com um $p < 0,001$ e todos os coeficientes de determinação apresentaram-se com um R^2 ajustado $> 0,90$, no qual o R^2 ajustado é a correção do R^2 , levando em conta os graus de liberdade envolvidos na soma total dos quadrados e a soma dos quadrados da regressão. Esses resultados indicaram uma boa concordância entre os valores experimentais e previstos pelos modelos (Figura 9). Segundo Khajeh (2011) os modelos gerados pela metodologia de superfície de resposta com um p-valor menor que 0,05 e R^2 ajustado $> 0,70$ podem ser considerados por apresentarem boas características de predição.

Depois da obtenção dos modelos matemáticos com bons ajustes e altamente significativos foi possível determinar os pontos ótimos da extração de antocianinas para cada variedade de uva. De acordo com a Figura 9, que apresenta a superfície de resposta gerada para a concentração de solvente e razão sólido líquido durante a extração, e conforme os resultados apresentados na Tabela 7, as condições ótimas sugeridas para a extração de antocianinas foram na temperatura de 40 °C, razão sólido líquido de 13,18 mg L⁻¹ e concentração de solvente de 40%.

Há uma ampla aplicação do uso da metodologia de superfície de resposta na extração de compostos bioativos provenientes de subprodutos. Entre estes se destaca o processo extração de antocianinas, que apresenta um grande número de aplicação principalmente como corante natural na indústria de alimentos. Usando um planejamento de matriz ortogonal, Ghafoor *et al.* (2010) realizaram em seu estudo a otimização da extração por fluido supercrítico de compostos bioativos (fenólicos totais, antioxidantes e antocianinas totais) da casca de uva pela MSR. Usando a tecnologia de extração por líquido pressurizado, Santos *et al.* (2012) através de um planejamento fatorial completo 2³ realizaram a extração de antocianinas de casca de jabuticaba.

Independente do processo, a metodologia de superfície de resposta pode ser usada de forma eficaz na extração de compostos de subprodutos agroindustriais.

Com base nos resultados do estudo do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), foram escolhidos os extratos dos bagaços das uvas Tannat e Bordô para a realização dos estudos cinéticos e de isotermas, pois foram as variedades que apresentaram as maiores concentrações de antocianinas monoméricas.

TABELA 8 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DOS MODELOS POLINOMIAIS PARA A EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DE DIFERENTES BAGAÇOS DE UVA

Bagaço de uva da variedade Bordô							
Parâmetros	Coef. Estimado	GL	Erro padrão	+95% IC	+95% IC	F-valor	p-valor
Constante	92,58	-	2,16	87,96	97,21	-	<0,0001
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(L)	-32,94	1	1,58	-36,33	-29,54	433,70	<0,0001
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(Q)	9,50	1	1,56	6,14	12,86	36,86	<0,0001
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(L)	5,57	1	1,58	2,18	8,96	12,40	0,003
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(Q)	-5,23	1	1,56	-8,59	-1,88	11,18	0,005
Bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon							
Parâmetros	Coef. Estimado	GL	Erro padrão	+95% IC	+95% IC	F-valor	p-valor
Constante	25,50	-	0,86	23,66	27,35	-	<0,0001
TEMPERATURA(L)	2,83	1	0,63	1,48	4,19	20,39	0,0006
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(L)	-8,47	1	0,63	-9,82	-7,12	182,45	<0,0001
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(Q)	2,65	1	0,62	1,31	3,99	18,27	0,0009
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(L)	4,13	1	0,63	2,77	5,48	43,33	<0,0001
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(Q)	-2,51	1	0,62	-3,85	-1,17	16,43	0,0014
Bagaço de uva da variedade Merlot							
Parâmetros	Coef. Estimado	GL	Erro padrão	+95% IC	+95% IC	F-valor	p-valor
Constante	21,88	-	0,84	20,08	23,67	-	<0,0001
TEMPERATURA(L)	1,77	1	0,76	0,13	3,40	5,39	0,0359
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(L)	-7,57	1	0,76	-9,20	-5,94	99,04	<0,0001
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(Q)	2,68	1	0,75	1,08	4,28	12,87	0,0030
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(L)	5,45	1	0,76	3,81	7,08	51,29	<0,0001
Bagaço de uva da variedade Tannat							
Parâmetros	Coef. Estimado	GL	Erro padrão	+95% IC	+95% IC	F-valor	p-valor
Constante	65,11	-	2,86	58,97	71,26	-	0,00000
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(L)	-24,53	1	2,10	-29,04	-20,03	136,40	0,00000
RAZÃO SÓLIDO-LÍQUIDO(Q)	8,86	1	2,08	4,40	13,31	18,15	0,00079
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(L)	8,84	1	2,10	4,33	13,34	17,70	0,00088
CONCENTRAÇÃO DO SOLVENTE(Q)	-5,76	1	2,08	-10,21	-1,30	7,67	0,01505

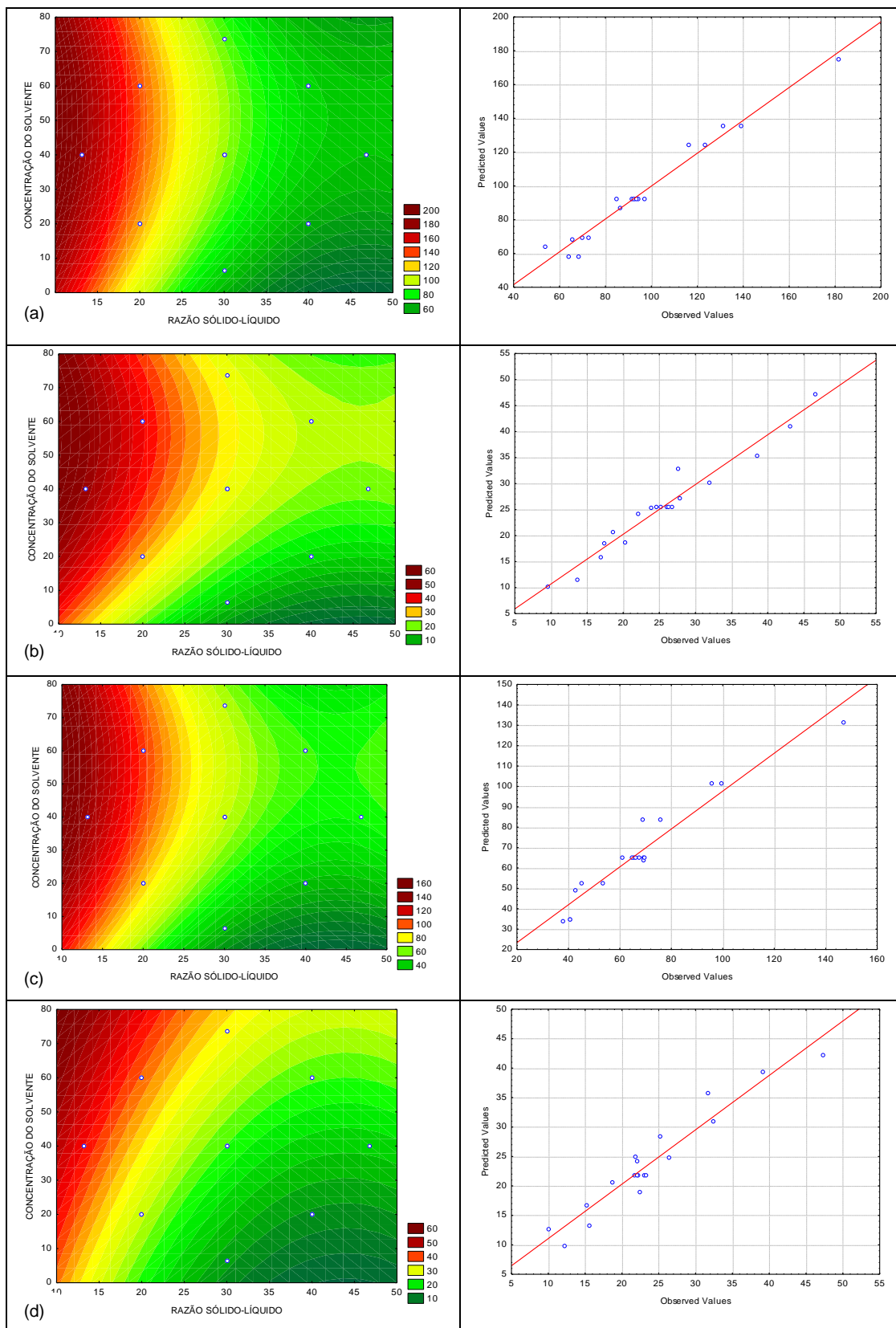


FIGURA 9 - SUPERFÍCIE DE CONTORNO DA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS E GRÁFICO DOS VALORES OBSERVADOS *VERSUS* VALORES PREVISTOS PELOS MODELOS.
 Nota: BORDÔ (a); CABERNET SAUVIGNON (b); MERLOT (c); TANNAT (d).

4.2 ESTUDO CINÉTICO

A escolha da utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para o estudo de bioadsorção deste trabalho, foi devido ao fato de que as leveduras apresentam em geral grupos funcionais que permitem a adsorção de biomoléculas (AKSU, 2005). Além de que, o Brasil produz atualmente uma grande quantidade de biomassa de levedura, como subproduto das indústrias cervejeiras (PINTO *et al.*, 2013).

Existem vários modelos cinéticos disponíveis para compreender o comportamento de bioadsorventes e também para analisar a taxa de controle do mecanismo do processo de adsorção (JOHN *et al.*, 2011).

A equação de pseudo-segunda ordem baseia-se na capacidade de adsorção da fase sólida. Ao contrário de outros modelos, este prediz o comportamento em toda a gama de adsorção (GUNAY *et al.*, 2007). Além disso, os parâmetros estatísticos obtidos pela aplicação de modelos cinéticos para descrever processos de bioadsorção são geralmente melhores para o modelo de pseudo-segunda ordem em comparação com pseudo-primeira ordem. Assim sendo, para o presente trabalho, foi proposto a utilização do modelo de pseudo-segunda ordem para avaliar o processo de bioadsorção de antocianinas extraídas dos bagaços das uvas Bordô e Tannat, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* como bioadsorvente.

De acordo com a Tabela 9, pode-se observar que o modelo de pseudo-segunda ordem concordou com o processo de reação, apresentando altos valores dos coeficientes de determinação (R^2), sendo de 0,989 para o extrato do bagaço da uva Tannat e 0,957 para o da uva Bordô. Com o gráfico t/q versus t , obteve-se uma relação linear (Figura 10), através do qual q_e e k_2 foram determinadas a partir do coeficiente angular e coeficiente linear (WU; YU, 2006).

TABELA 9 – PARÂMETROS DO MODELO DE PSEUDO-SEGUNDA ORDEM PARA REPRESENTAR O PROCESSO DE BIORSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA TANNAT E BORDÔ EM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Amostras	PARÂMETROS DO MODELO			
	$q_e \text{ exp (mg g}^{-1}\text{)}$	$q_e \text{ (mg g}^{-1}\text{)}$	$K_2 \text{ [g (mg.min)}^{-1}\text{]}$	R^2
Tannat	1,335	1,347	0,62	0,989
Bordô	0,459	0,420	0,06	0,957

Nota: $q_e \text{ exp}$ = capacidade de sorção experimental (mg g^{-1}); q_e = capacidade de sorção calculado (mg g^{-1}); K_2 = constante cinética da adsorção de segunda ordem ($\text{mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$); R^2 = coeficiente de determinação.

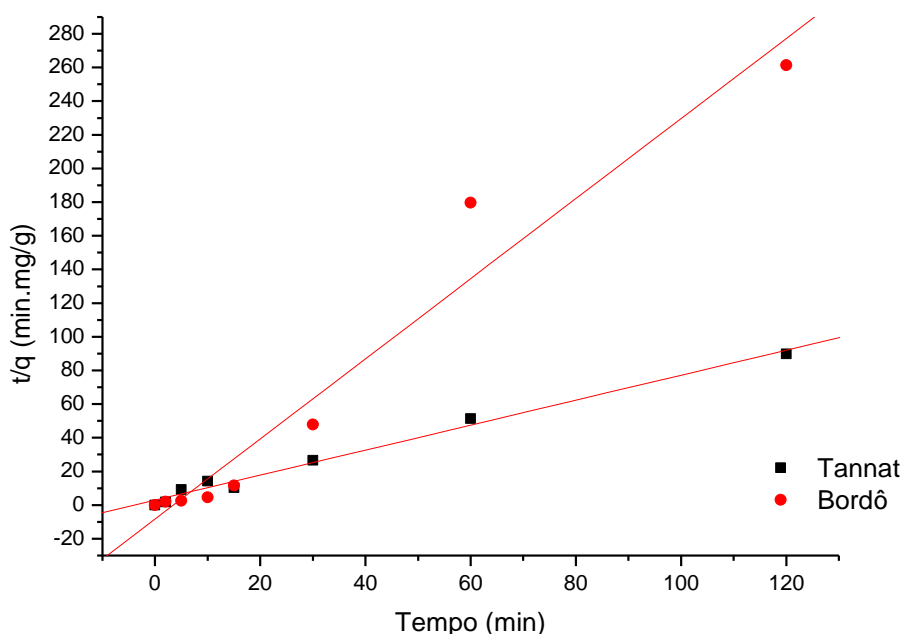


FIGURA 10 - MODELO DE PSEUDO-SEGUNDA ORDEM REPRESENTANDO O PROCESSO DE BIORSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE UVA TANNAT E BORDÔ EM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

As antocianinas do extrato do bagaço da uva Tannat foram as que apresentaram maior potencial de biossorção (maior valor de q_e), apresentando um valor de q_e de $1,347 \text{ mg g}^{-1}$ em comparação com o extrato do bagaço da uva Bordô, que resultou em um valor de q_e de $0,420 \text{ mg g}^{-1}$ (Tabela 9). As diferenças dos valores das quantidades biossorvidas podem ser devido a capacidade de ligação a um sítio sobre a macromolécula ligante, podendo influenciar diferentes locais de ligação na mesma macromolécula. Além disso,

pode ser pelo fato de que a adsorção ocorre em múltiplas camadas, com uma distribuição não uniforme de calor de adsorção e afinidades sobre a superfície heterogênea (FOO; HAMEED, 2010).

Buran *et al.* (2014) realizaram estudos de adsorção de antocianinas extraídas do mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) utilizando três resinas diferentes como adsorventes, e obtiveram valores de q_e de $1,37 \text{ mg g}^{-1}$; $2,07 \text{ mg g}^{-1}$ e $2,01 \text{ mg g}^{-1}$, o que demonstra uma certa proximidade com os resultados obtidos neste trabalho.

De acordo com estudos realizados por Mazzaracchio *et al.* (2012) e Chang *et al.* (2012), o processo de adsorção ocorre de maneira mais eficaz em soluções de antocianinas com baixos valores de pH. Os valores de pH das soluções do presente estudo foram de 3,8 para a amostra do extrato do bagaço de uva Tannat (que obteve a maior biossorção), e 2,6 da amostra do extrato do bagaço de uva Bordô e pode-se supor que houve maior afinidade do biossorvente (*Saccharomyces cerevisiae*) com as antocianinas e outros compostos existentes no extrato do bagaço da uva Tannat do que com a amostra do extrato do bagaço de uva Bordô.

Com o objetivo de avaliar o processo de biossorção das antocianinas na biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com arranjo de diodo. A CLAE é uma importante técnica de separação física efetuada na fase líquida, em que uma mistura de compostos pode ser facilmente e rapidamente separada. A cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa, é a principal técnica utilizada para a separação de compostos fenólicos em matrizes alimentares, em que a fase estacionária é menos polar do que a fase móvel. Neste trabalho, as análises foram realizadas no comprimento de onda de 517 nanômetros, pois esta é a região do espectro que apresenta a máxima absorção de antocianinas como a malvidina e a cianidina, dependendo da fase móvel e condições de separação.

A Tabela 10 apresenta a avaliação do processo de biossorção das antocianinas presentes nos extratos dos bagaços das uvas Bordô e Tannat por CLAE.

TABELA 10 – AVALIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DO PROCESSO DE BIORSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Tempo Retenção (minutos)	Tannat		% Redução da área do pico	Bordô		% Redução da área do pico
	A	B		A	B	
14,563	0,631	0,614	2,678	0,931	0,794	14,749
17,617	1,033	0,845	18,185	-	-	-
19,963	3,332	2,970	10,859	1,258	1,127	10,388

A – área do pico antes do processo de bioissorção (mAU.min), B – área do pico após o processo de bioissorção (mAU.min). Cromatograma obtido a 517 nm.

Observa-se nos dados da Tabela e dos cromatogramas (Figuras 11 e 12) a presença de três picos evidentes para o extrato do bagaço da uva Tannat e dois picos para o extrato do bagaço da uva Bordô. Através da avaliação dos espectros de absorção dos picos e pela região avaliada, pode-se inferir que estes referem-se a antocianinas.

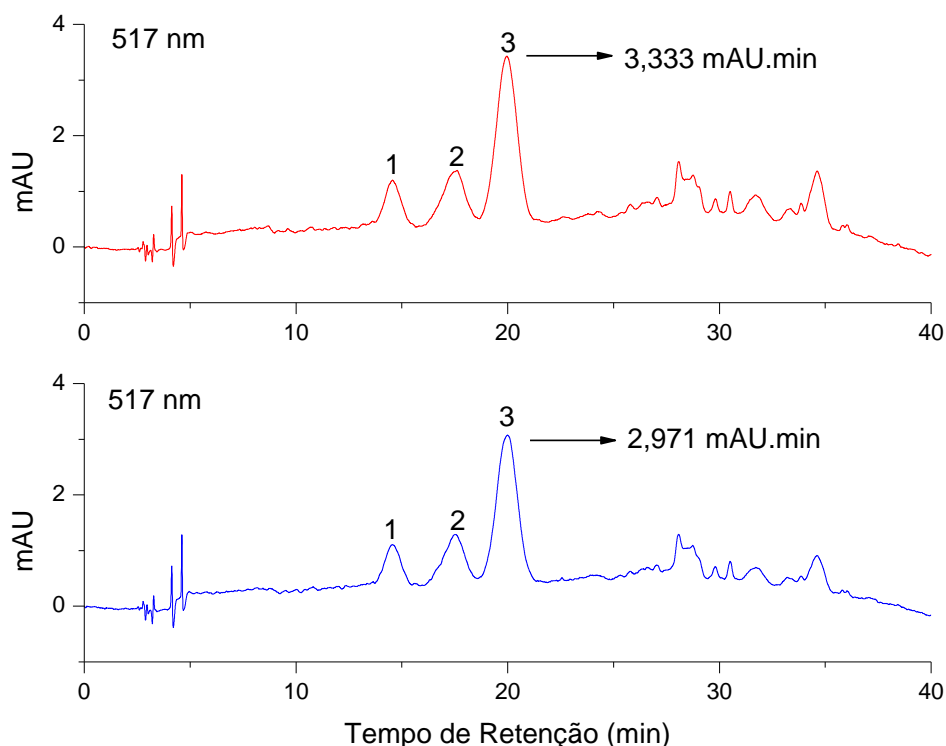


FIGURA 11 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA TANNAT ANTES (VERMELHO) E APÓS O PROCESSO DE BIORSORÇÃO COM A LEVEDURA (AZUL). PICO INDICADO N° 3.

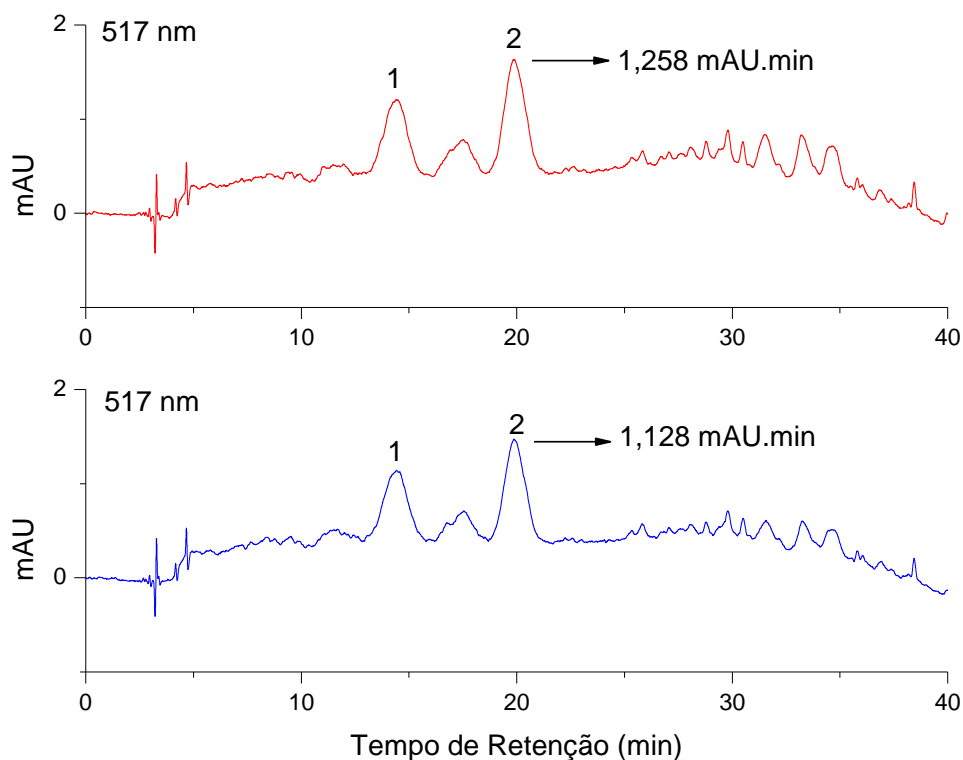


FIGURA 12 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA BORDÔ ANTES (VERMELHO) E APÓS O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO COM A LEVEDURA (AZUL). PICO INDICADO N° 2.

O cromatograma do extrato do bagaço da uva Tannat (Figura 11) demonstra que houve uma redução na área do maior pico de 3,333 mAU.min (antes do processo de bioadsorção) para 2,971 mAU.min (após o processo), ou seja 10,86% de bioadsorção da antocianina representada pelo pico no tempo de retenção de 19,96 min.

Para o extrato do bagaço de uva Bordô (Figura 12), houve uma redução na área de 1,258 mAU.min (antes do processo de bioadsorção) para 1,128 mAU.min (após o processo), representando uma bioadsorção de 10,39% para antocianina determinada no tempo de retenção de 19,96 min. Ainda conforme os dados da Tabela 10, fica evidente a redução das áreas dos outros picos, para os quais também assumem-se como antocianinas, deixando evidente o processo de adsorção.

De acordo com os estudos realizados por González-Neves *et al.* (2010) com a variedade de uva Tannat e Lago-Vanzela *et al.* (2011) com a variedade

Bordô, os picos evidenciados na figura 11 e 12, no comprimento de onda de 517 nm, representam a predominância das antocianinas malvidina e cianidina.

4.3 ESTUDOS DE EQUILÍBRIO - ISOTERMAS

Isotermas de adsorção são utilizadas para descrever a relação entre a quantidade de uma substância adsorvida por unidade de massa de adsorvente a uma temperatura constante e a sua concentração da solução de equilíbrio (GIVIANRAD *et al.*, 2013; AGARWAL *et al.*, 2014). Essas isotermas são favoráveis para otimizar a utilização de biossorventes, sendo estimado a quantidade de biossorvente necessário para a captação de uma determinada concentração de soluto a partir da solução e prever a distribuição dos sítios de adsorção e as partículas adsorvidas sobre a superfície dos biossorventes (MACIEL *et al.*, 2013). Neste trabalho, foram utilizados os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Raduskevich (D-R), com o intuito de analisar as interações das antocianinas extraídas dos bagaços das uvas Tannat e Bordô com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os valores das constantes e os coeficientes de determinação (R^2) de cada modelo estão apresentados na Tabela 11.

TABELA 11 – PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE LANGMUIR, FREUNDLICH, TEMKIN E D-R PARA A BISSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DO EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Modelos de isotermas		Constantes (Tannat)		
	q_0 (mg g ⁻¹)	K_L (L mg ⁻¹)	R^2	
Langmuir	5,913	0,022	0,971	
	A (L g ⁻¹)	B (J mol ⁻¹)		
Temkin	1	5170,670	0,977	
	K_F (L g ⁻¹)	N	$1/n$	
Freundlich	0,250	1,650	0,605	0,970
	q_s (mg g ⁻¹)	E (kJ mol ⁻¹)	β	
D-R	47,087	9,423	0,005	0,975
Modelos de isotermas		Constantes (Bordô)		
	q_0 (mg g ⁻¹)	K_L (L mg ⁻¹)	R^2	
Langmuir	5,783	0,007	0,977	
	A (L g ⁻¹)	B (J mol ⁻¹)		
Temkin	0,067	1989,741	0,996	
	K_F (L g ⁻¹)	N	$1/n$	
Freundlich	0,1016	1,459	0,685	0,985
	q_s (mg g ⁻¹)	E (kJ mol ⁻¹)	β	
D-R	37,720	8,873	0,006	0,989

Nota: q_0 = capacidade de cobertura máxima em monocamada (mg g⁻¹); K_L = constante da isoterma de Langmuir (L mg⁻¹); A = constante de ligação de equilíbrio (L g⁻¹); B = constante da isoterma de Temkin (J mol⁻¹); K_F = constante da isoterma de Freundlich (L g⁻¹); n = intensidade de adsorção; q_s = capacidade de saturação teórica (mg g⁻¹); E = energia livre (kJ mol⁻¹); β = constante da isoterma de Dubinin-Radushkevich [mol²(kJ²)⁻¹].

A isoterma de Temkin é um modelo antigo que descreve a adsorção de hidrogênio sobre eletrodos de platina no interior das soluções ácidas (FOO; HAMEED, 2010). Através da relação linear entre q_e versus $\ln C_e$, as constantes A (constante isotérmica de ligação de equilíbrio (L g⁻¹)) e B (constante isotérmica de Temkin (J mol⁻¹)) foram obtidas (Figura 13 e Figura 14). De acordo com a Tabela 11, pode-se notar que o modelo de Temkin exibiu o melhor ajuste aos dados experimentais de biossorção para as duas variedades de uvas (maior valor R^2) entre todos os outros modelos. Os resultados indicam que o calor de adsorção das moléculas diminui linearmente com a cobertura da superfície do adsorvente devido às interações existentes (KUMAR *et al.*, 2010).

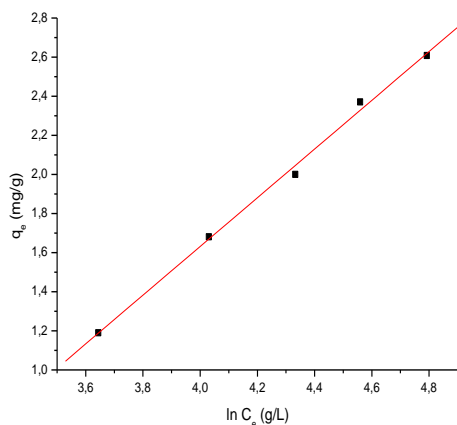


FIGURA 13 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE TEMKIN DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.

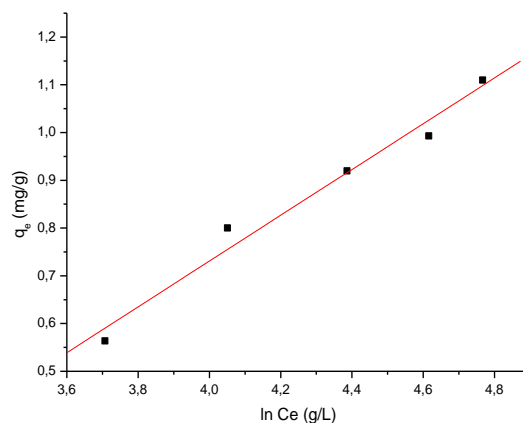


FIGURA 14 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE TEMKIN DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.

A isoterma de Freundlich é a primeira relação conhecida descrevendo a adsorção não ideal e reversível, sendo não restrita à formação de monocamada (FREUNDLICH, 1906). A constante de Freundlich (K_F) indica a capacidade de biossorção do biossorvente e a constante n , o estado de afinidade de biossorção do biossorvente com o sorbato (GOHARI *et al.*, 2013).

Para o valor da constante n no modelo de Freundlich, foram obtidos valores dentro da faixa de $0 < n < 10$, indicando que a adsorção das antocianinas foi favorável (JAMPANI *et al.*, 2014). Para a constante $1/n$ foram obtidos os valores de 0,605 para o extrato do bagaço da uva Tannat e 0,685 para o extrato do bagaço de uva Bordô, verificando-se assim que os valores estão variando entre 0 e 1, demonstram a heterogeneidade da superfície (YOUSEF *et al.*, 2011). As constantes K_F e $1/n$ foram obtidas plotando o gráfico de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$ (Figura 15 e Figura 16).

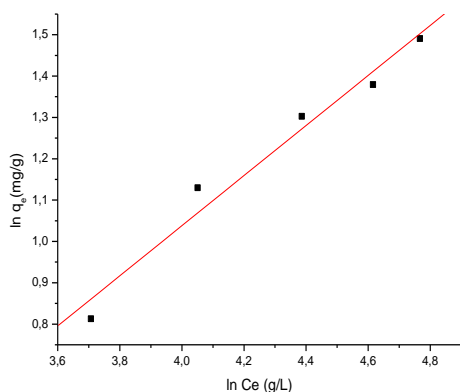


FIGURA 15 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE FREUNDLICH DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.

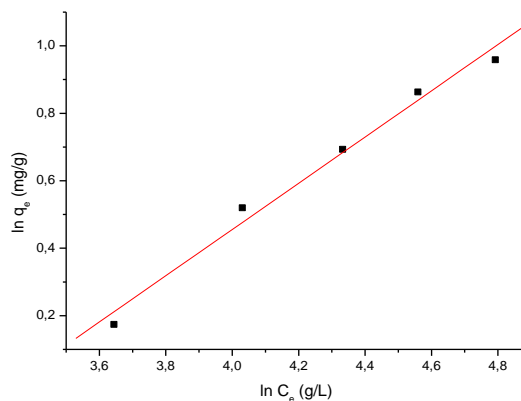


FIGURA 16 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE FREUNDLICH DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.

O modelo de isoterma de Dubinin-Radushkevich (D-R) foi aplicado principalmente para caracterizar o processo de biossorção e avaliar o tipo de interação entre sorbato e biossorvente (MACIEL *et al.*, 2013). Essa isoterma é geralmente aplicada para expressar o mecanismo de adsorção com uma distribuição de energia de Gauss sobre uma superfície heterogênea (DABROWSKI, 2001). As constantes do modelo D-R, β e q_s podem ser determinadas a partir a coeficiente angular e linear do gráfico $\ln q_e$ versus ε^2 , respectivamente (Figura 17 e Figura 18).

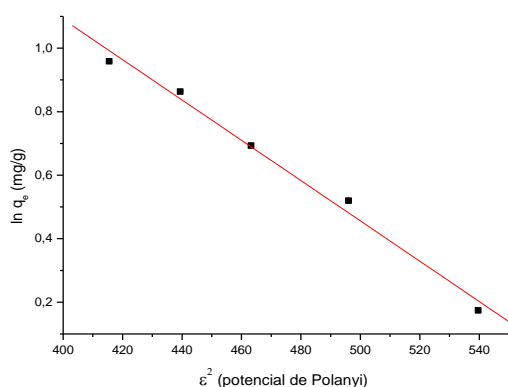


FIGURA 17 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE DUBININ-RADUSHKEVICH (D-R) DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.

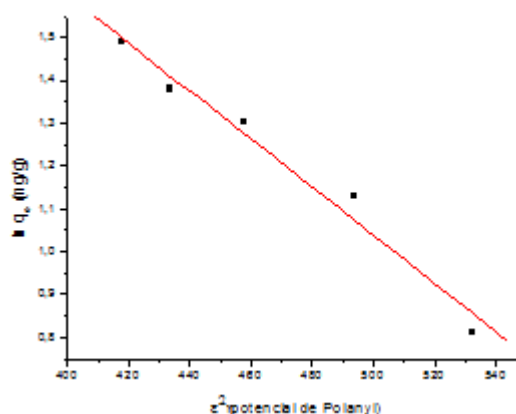


FIGURA 18 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE DUBININ-RADUSHKEVICH (D-R) DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.

Através do valor da constante E do modelo de Dubinin-Radushkevich (D-R) descritos na Tabela 9, pode-se afirmar que a biossorção ocorre de maneira química, sendo que se os valores de E forem menores do que 8 kJ mol^{-1} , predominam as forças físicas, e no caso de E estar entre os valores de 8 a 16 kJ mol^{-1} , o processo de adsorção é regido por um mecanismo químico (RAFATULLAH *et al.*, 2009).

A isoterma de adsorção de Langmuir, originalmente desenvolvida para descrever adsorção de sólido em fase gasosa sobre carvão ativado, tem sido tradicionalmente utilizada para quantificar e contrastar o desempenho de diferentes biossorbentes (LANGMUIR, 1916). O modelo de Langmuir apresentou os menores valores de R^2 com relação aos outros modelos, sendo que para o extrato do bagaço da uva Tannat obteve-se R^2 0,971 e para Bordô obteve-se R^2 0,977. O modelo empírico de Langmuir assume que a adsorção ocorre em monocamada, sendo que a adsorção apenas pode ocorrer em um número (fixo) finito de locais localizados definidos, que são idênticos e equivalentes (VIJAYARAGHAVAN *et al.*, 2006). As constantes q_0 e K_L , são determinadas a partir do coeficiente angular e coeficiente linear do gráfico C_e versus C_e/q_e (Figura 19 e Figura 20).

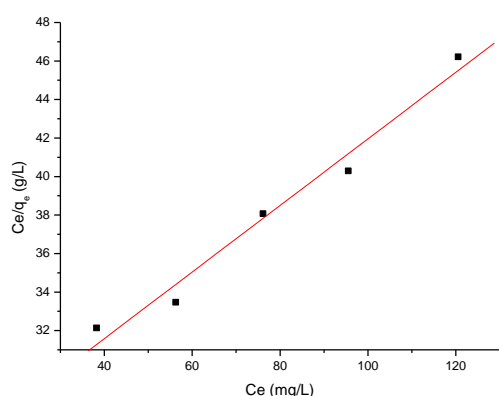


FIGURA 19 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE LANGMUIR DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA BORDÔ.

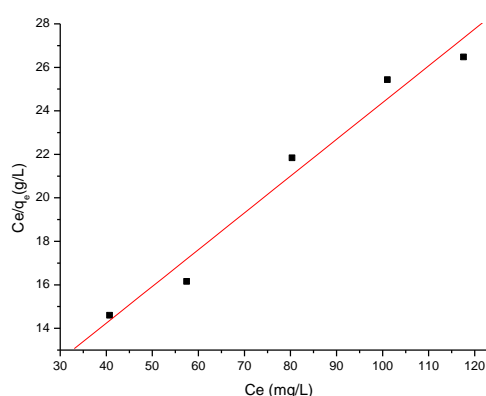


FIGURA 20 - GRÁFICO DO MODELO DA ISOTERMA DE LANGMUIR DO EXTRATO DO BAGAÇO DA UVA TANNAT.

Uma das características essenciais da isoterma de adsorção de Langmuir pode ser expressa em termos de uma constante de separação (R_L), sendo que seu valor indica se o tipo da isoterma é irreversível ($R_L = 0$), favorável ($0 < R_L < 1$), linear ($R_L = 1$) ou desfavorável ($R_L > 1$) (MOHAN *et al.*, 2002). Os valores obtidos de R_L para o extrato do bagaço da uva Tannat foi de 0,27 e para o extrato do bagaço da uva Bordô foi de 0,78, sugerindo que a biossorção de antocianinas pela *Saccharomyces cerevisiae* ocorre de maneira favorável.

4.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DA BIOMASSA DE LEVEDURA

Uma grande variedade de macromoléculas compõem as paredes celulares dos fungos, principalmente proteínas, lipídeos, quitinas, glicanas, mananas e outros polissacarídeos. Estas estruturas macromoleculares complexas apresentam sítios de ligação potenciais para muitas moléculas orgânicas e inorgânicas diferentes (FOMINA; GADD, 2014). FTIR é uma técnica útil para identificar a presença de grupos funcionais de uma biomassa, que podem estar envolvidos no processo de biossorção, e para estudar o mecanismo de biossorção.

Na Figura 21, pode ser observado o espectro de absorção de FTIR da biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* antes e depois da biossorção. Os espectros foram relativamente complexos, devido à absorção de muitas biomoléculas que apresentam vários grupos funcionais.

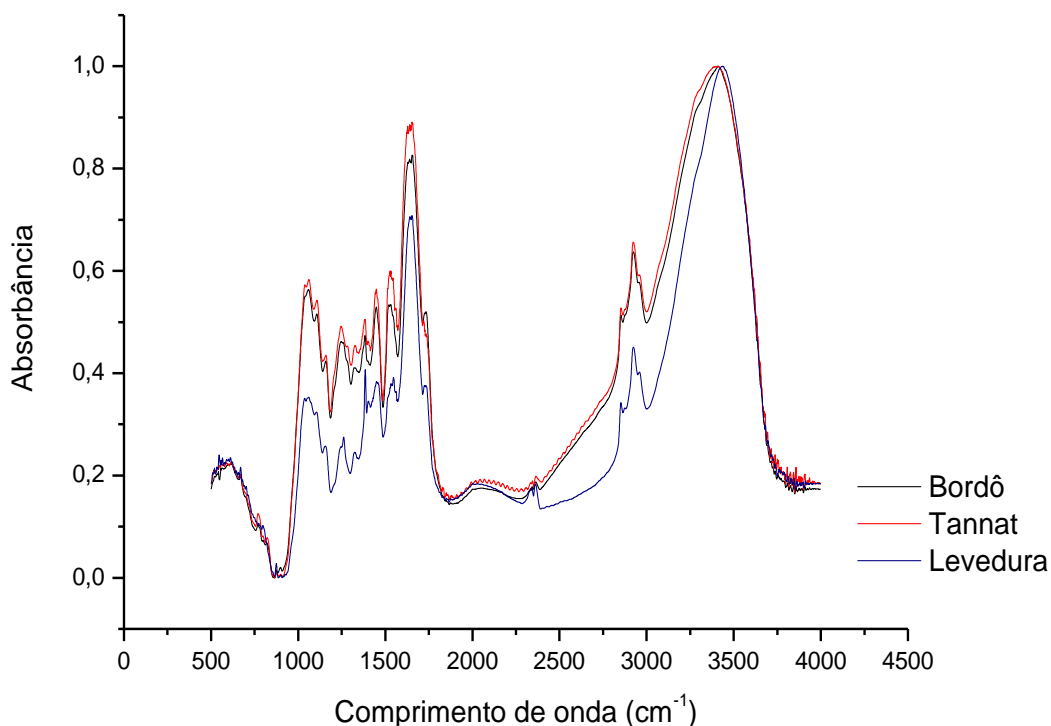


FIGURA 21 – ESPECTROS FTIR DA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ANTES E APÓS O PROCESSO DE BIOSSORÇÃO UTILIZANDO EXTRATOS DE BAGAÇOS DE UVAS TANNAT E BORDÔ.

A biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* antes do processo de bioadsorção apresentou uma banda muito larga em 3436 cm⁻¹, que corresponde à presença de grupos amino (N-H de proteínas) e a vibrações de hidroxilas de carboidratos (frequentemente detectadas na região de 3500-3200 cm⁻¹). As bandas detectadas em 2959, 2923 e 2852 cm⁻¹ estão na região da absorção de cadeias lipídicas acil (3050-2800 cm⁻¹) e correspondem ao estiramento simétrico e assimétrico dos grupos metil e metileno nos fosfolipídeos de membrana (AMI *et al.*, 2014). Os picos detectados na região entre 1700 e 1500 cm⁻¹ indicam a presença de bandas de amida I e II, principalmente a partir de ligações peptídicas de proteínas (estiramento C=O e deformação (N-H) (ZHANG *et al.*, 2010). A banda observada em 1546 cm⁻¹ na biomassa de levedura é característica do grupo funcional amida II. A absorção de infravermelho no intervalo espectral entre 1500 e 1300 cm⁻¹ contém vibrações de ácidos graxos e proteínas. Os picos a 1449 centímetros⁻¹ e 1385 cm⁻¹

podem ser atribuídos à deformação C-H do grupo funcional $-CH_2$ e à presença de bandas amida (III) ou sulfamida, respectivamente (STUART, 2004). As bandas observadas entre $1250-1000\text{ cm}^{-1}$ estão relacionadas essencialmente com as vibrações complexas dos carboidratos que compõem a biomassa fúngica, como as bandas de absorção das beta-glicanas presentes nesta faixa espectral. No entanto, os grupos fosfodiéster dos ácidos nucleico e os fosfolípídeos também podem apresentar picos de absorção nesta região espectral. O pico de absorbância observado em $\sim 1061\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuído à alditóis (C-OH) e ao estiramento de P-O-C (ZHANG et al., 2010).

A interação das antocianinas e outros compostos com a biomassa de levedura provocou alterações na intensidade das bandas de absorção das células fúngicas e o deslocamento de bandas características. As principais alterações no espectro de IR da biomassa *Saccharomyces cerevisiae* após o contato com os extratos do bagaço de uva Bordô e Tannat incluem: (1) o aparecimento de picos de absorbância em ~ 614 , $\sim 898\text{ cm}^{-1}$ nas biomassas (2) o deslocamento do pico em 3436 cm^{-1} , atribuído a absorbância de -NH/OH, para diferentes picos em 3412 e 3407 cm^{-1} no espectro de células de levedura depois da bioabsorção dos compostos fenólicos (antocianinas) a partir de extratos dos bagaços das uvas Bordo e Tannat, respectivamente. Estas alterações implicam que os grupos estavam possivelmente envolvidos no processo de bioabsorção; (3) o aumento da intensidade da banda em 1061 cm^{-1} (alditóis e estiramento de P-O-C). A absorbância do pico também foi deslocada dois cm^{-1} para uma direção de baixa frequência nas células de levedura após o contato com o extrato Bordô; (4) o pico característico do grupo funcional amida II (1546 cm^{-1}) foi deslocado 15 cm^{-1} para uma zona de baixa frequência, o que indica uma ligação química entre o grupo na superfície da célula e os compostos fenólicos (antocianinas) dos extratos dos bagaços de uva; (5) um aumento da intensidade do pico em 1449 cm^{-1} (vibração carbono-hidrogênio).

Um novo pico foi observado em 2269 cm^{-1} em células de levedura após a remoção dos compostos fenólicos do extrato do bagaço de uva Bordô. Vários novos picos de absorbância nas regiões espectrais de $523-559\text{ cm}^{-1}$, $822-1107\text{ cm}^{-1}$ e $1628-2523\text{ cm}^{-1}$ foram detectados em células de levedura após a bioabsorção dos compostos fenólicos do extrato de bagaço de uva Tannat. Várias bandas de compostos fenólicos encontrados nas uvas podem ser

observados na região entre 1680 e 900 cm^{-1} (SOUZA *et al.*, 2013). Ácidos e açúcares orgânicos poderiam contribuir com bandas na faixa entre 1060-1150 cm^{-1} (ligações C-O) (SOUZA *et al.*, 2013). Portanto, os novos picos podem indicar a presença destes compostos na biomassa.

Os sítios de ligação potenciais para antocianinas foram identificados na biomassa e incluem os grupos funcionais carboxila, amino/hidroxila, amida, entre outros. No entanto, é importante considerar que, a capacidade destes grupos funcionais na biomassa de interagirem com as antocianinas nos extratos de bagaço de uva é variável e é influenciada pela composição dos extratos, que são caracteristicamente heterogêneos (diferentes compostos fenólicos em solução com diferentes características, como tamanho molecular, carga, solubilidade e hidrofobicidade) e pelos parâmetros físico-químicos do processo (principalmente o pH, a agitação, a concentração de sorbato e a temperatura) (FOMINA; GADD, 2014).

5 CONCLUSÕES

O bagaço de uva possui altas concentrações de antocianinas. Através da otimização da extração foi possível obter o ponto ótimo de extração dos flavonoides das amostras, sendo que os extratos dos bagaços das uvas Bordô e Tannat foram as que apresentaram maiores quantidades de antocianinas monoméricas. Os dados no modelo cinético foram bem descritos pelo modelo de pseudo-segunda ordem, sendo que a amostra do extrato do bagaço de uva Tannat foi a que apresentou maior capacidade de biossorção. Os modelos Temkin e D-R mostraram que o processo de biossorção de antocianinas em leveduras ocorre pelo processo de quimiossorção. Diferentes grupos funcionais foram identificados nas células de levedura por FTIR. Grupos carboxila, amino/hidroxila e amida foram os principais grupos envolvidos no processo de biossorção. Desta forma, a biomassa *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com antocianinas pode ser um ingrediente antioxidante promissor para os produtos das indústrias de alimentos e farmacêutica.

REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, O; AMIN, N. K. Adsorption of phenol from aqueous solutions by *Luffa cylindrica* fibers: Kinetics, isotherm and thermodynamic studies. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, p. 215–223, 2013.

AGARWAL, A. K.; KADU, M. S.; PANDHURNEKAR, C. P; MUTHREJA, I. L. Langmuir, Freundlich and BET adsorption isotherm studies for zinc ions onto coal fly ash. **International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management**, v.3, p.64-71, 2014.

AMI, D.; POSTERI, R.; MEREGHETTI, P.; PORRO, D.; DOGLIA, S.M.; BRANDUARDI, P. Fourier transform infrared spectroscopy as a method to study lipid accumulation in oleaginous yeasts. **Biotechnology Biofuels**, v. 7, 1-14, 2014.

ANIRUDHAN, T. S; RADHAKRISHNAN, P. G. Thermodynamics and kinetics of adsorption of Cu(II) from aqueous solutions onto a new cation exchanger derived from tamarind fruit shell. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, p. 702–709, 2008.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 997–1026, 2005.

BALDO, T. A; SANTOS, M. O.; ALMADA-LOBO, B.; MORABITO; R. An optimization approach for the lot sizing and scheduling problem in the brewery industry. **Computers & Industrial Engineering**, v. 72, p. 58–71, 2014.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GODOY, H. T.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. **Food Chemistry**, v. 159, p. 95–105, 2014.

BERA, A.; KUMAR, T.; OJHA, K.; MANDAL, A. Adsorption of surfactants on sand surface in enhanced oil recovery: isotherms, kinetics and thermodynamic studies. **Applied Surface Science**, v. 284, p. 87–99, 2013.

BORBA, C. E.; GUIRARDELLO, R.; SILVA, E. A.; VEIT, M. T.; TAVARES, C. R. G. Removal of nickel(II) ions from aqueous solution by biosorption in a fixed bed

column: Experimental and theoretical breakthrough curves. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, p. 184–191, 2006.

BORBA, C. E.; MÓDENES, A. N.; ESPINOZA-QUINÕES, F. R.; BORBA, F. H.; BASSI, A. F.; RIBEIRO, C. Estudo da cinética e do equilíbrio de adsorção dos corantes azul turquesa QG e amarelo reativo 3R em carvão ativado. **Engevista**, v. 14, n. 2, p. 135-142, 2012.

BORTOLI, D. A. S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M.; ORELLI, A.; TOM, A.; NEME, F. F.; NASCIMENTO, D. D. Leveduras e produção de cervejas – revisão. **Bioenergia em revista**, n. 1, p. 45-58, 2013.

BRAHIM, M.; GAMBIER, F.; BROSSE, N. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 18–22, 2014.

BRUNS, R. E.; SCARMINO, I. S.; BARROS NETO, B. **Statistical design – chemometrics**. Amsterdam: Elsevier, p. 273, 2006.

BURAN, T. J.; SANDHU, A. K.; LI, Z.; ROCK, C. R.; YANG, W. W.; GU, L. Adsorption/desorption characteristics and separation of anthocyanins and polyphenols from blueberries using macroporous adsorbent resins. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p.167–173, 2014.

BURIN, V. M.; FERREIRA-LIMA, N. E.; PANCERI, C. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 155–163, 2014.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. **Journal of Food Engineering**, v. 59, p. 379–389, 2003.

CAMPOS, L. M. A. S.; LEIMANN, F. V.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Caberbet Sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8413-8420, 2008.

CAPRIO, F.; ALTIMARI, P.; UCCELLETTI, D.; PAGNANELLI, F. Mechanistic modelling of copper biosorption by wild type and engineered *Saccharomyces cerevisiae* biomasses. **Chemical Engineering Journal**, v. 244, p. 561–568, 2014.

CARVALHO, B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª parte – as leveduras. **Revista Analytica**, n. 25, 2006.

CARVALHO, G. B. M.; ROSSI, A. A.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2ª parte – a fermentação. **Revista Analytica**, n. 26, 2007.

CASTAÑEDA–OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859 – 871, 2009.

CETÓ, X.; GUTIÉRREZ-CAPITÁN, M.; CALVO, D.; VALLE, M. D. Beer classification by means of potentiometric electronic tongue. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2533 - 2540, 2013.

CHANG, X-L.; WANG, D.; CHEN, B-Y.; FENG, Y-M.; WEN, S-H. Adsorption and desorption properties of macroporous resins for anthocyanins from the calyx extract of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2368-2376, 2012.

CHOY, K. K. H.; MCKAY, G.; PORTER, J. F. Sorption of acid dyes from effluents using activated carbon. Resources. **Conservation and Recycling**, v. 27, p. 57–71, 1999.

DABROWSKI, A. Adsorption-from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 9, p. 135-224, 2001.

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

DUBININ, M. M.; RADUSHKEVICH, L. V. Equation of the characteristic curve of activated charcoal. **Proceedings of the Academy of Sciences, Physical Chemistry Section, U.S.S.R.**, v. 55, p. 331-333, 1947.

FARAH, J. Y.; EL-GENDY, N. S.; FARAHAT, L. A. Biosorption of Astrazone Blue basic dye from an aqueous solution using dried biomass of Baker's yeast. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, p. 402–408, 2007.

FERNANDES, I.; FARIA, A.; CALHAU, C.; FREITAS, V.; MATEUS, N. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 54–66, 2014.

FERREIRA, L. F. D. **Obtenção e caracterização de farinha de bagaço de uva e sua utilização em cereais matinais expandidos**. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 77-84, 2010.

FERREIRA, L. F. D.; PIROZI, M. R.; RAMOS, A. M.; PEREIRA, J. A. M. Modelagem matemática da secagem em camada delgada de bagaço de uva fermentado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 855-862, 2012.

FOMINA, M.; GADD, G. M., Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. **Bioresource Technology**, v. 160, p. 3–14, 2014.

FOO, K. Y; HAMEED, B.H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v.156, p. 2–10, 2010.

FREUNDLICH, H. Over the adsorption in the solution. **Journal Physical Chemistry**, v. 57, p.384–410, 1906.

GHAFOOR, K., PARK, J., CHOI, Y. H. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 485-490, 2010.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV Visible spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, Inc., 2001.

GIVIANRAD, M.H.; RABANI, M.; SABER-TEHRANI. M.,; ABEROORMAND-AZAR, P.; SABZEVARI, M. H. Preparation and characterization of nanocomposite, silica aerogel, activated carbon and its adsorption properties for Cd (II) ions from aqueous solution. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, p. 329–335, 2013.

GOHARI, M.; HOSSEINI, S. N.; SHARIFNIA, S.; KHATAMI, M. Enhancement of metal ion adsorption capacity of *Saccharomyces cerevisiae*'s cells by using disruption method. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, p. 637–645, 2013.

GONZÁLEZ-NEVES, G.; GIL, G.; BARREIRO, L.; FAVRE, G. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 447-454, 2010.

GONZÁLEZ-NEVES, G.; GIL, G.; FAVRE, G.; FERRER, M., 2012. Influence of grape composition and winemaking on the anthocyanin composition of red wines of Tannat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 900–909, 2012.

GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; ESTEBAN-RUANO, S.; SANTOS-BUELGA, C.; PASCUAL-TERESA, S.; RIVAS-GONZALO, J.C. Flavanol content and antioxidant activity in winery by products. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 234-238, 2004.

GUNAY, A.; ARSLANKAYA E.; TOSUN, I. Lead removal from aqueous solution by natural and pretreated clinoptilolite: Adsorption equilibrium and kinetics. **Journal of Hazardous Materials**, v.146, p. 362–371, 2007.

GUTIÉRREZ, J. M.; HADDI, Z.; AMARI, A.; BOUCHIKHI, B.; MIMENDIA, A.; CETÓ, X.; VALLE, M. D. Hybrid electronic tongue based on multisensor data fusion for discrimination of beers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 177, p. 989 - 996, 2013.

HAMAYUN, M.; MAHMOOD, T.; NAEEM, A.; MUSKA, M.; DIN, S. U.; WASEEM, M. Equilibrium and kinetics studies of arsenate adsorption by FePO₄. **Chemosphere**, v. 99, p. 207–215, 2014.

HAMINIUK, C. W. I. MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2023-2044, 2012.

HO, I. S.; MCKAY, G. A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 76, p. 332-340, 1998.

IACOPINI, P.; BALDI, M.; STORCHI, P.; SEBASTIANI, L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 589–598, 2008.

JAMPANI, C.; NAIK, A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Purification of anthocyanins from jamun (*Syzygium cumini* L.) employing adsorption. **Separation and Purification Technology**, v. 125, p. 170-178, 2014.

JIANLONG, W. Biosorption of copper(II) by chemically modified biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 847–850, 2002.

JOHN, A. C.; IBIRONKE; LARA, O.; ADEDEJI, VICTOR; OLADUNNI, O. Equilibrium and kinetic studies of the biosorption of heavy metal (cadmium) on *Cassia siamea* Bark. **Journal of Scientific Research**, v.6, p. 123-130, 2011.

KALISZ, S.; OSZMIÁNSKI, J.; HLADYSZOWSKI, J.; MITEK, M. Stabilization of anthocyanin and skullcap flavone complexes – Investigations with computer simulation and experimental methods. **Food Chemistry**, v. 138, p. 491–500, 2013.

KAMIYA, H.; YANASE, E.; NAKATSUKA, S-I. Novel oxidation products of cyanidin 3-O-glucoside with 2, 2'-azobis-(2,4-dimethyl) valeronitrile and evaluation of anthocyanin content and its oxidation in black rice. **Food Chemistry**, v. 155, p. 221–226, 2014.

KHAJEH, M. Response surface modelling of lead pre-concentration from food samples by miniaturised homogenous liquid–liquid solvent extraction: Box–Behnken design. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1832–1838, 2011.

KHAKPOUR, H.; YOUNESI, H.; MOHAMMADHOSSEINI, M. Two-stage biosorption of selenium from aqueous solution using dried biomass of the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, p. 532–542, 2014.

KOHNO, Y.; HAGA, E.; YODA, K.; SHIBATA, M.; FUKUHARA, C.; TOMITA, Y.; MAEDA, Y.; KOBAYASHI, K. Adsorption behavior of natural anthocyanin dye on mesoporous silica. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 75, p. 48–51, 2014.

KONG, J-M.; CHIA, L-S.; GOH, N-K.; CHIA, T-F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933, 2003.

KRUGER, M. J.; DAVIES, N.; MYBURGH, K. H.; LECOUR, S. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research International**, v. 59, p. 41–52, 2014.

KUMAR, P.S.; RAMALINGAM, S.; SENTHAMARAI, C.; NIRANJANAA, M.; VIJAYALAKSHMI, P.; SIVANESAN, S. Adsorption of dye from aqueous solution by cashew nut shell: Studies on equilibrium isotherm, kinetics and thermodynamics of interactions. **Desalination**, v. 261, p.52-60, 2010.

LACHMAN, J.; HEJTMÁNKOVÁ, A.; HEJTMÁNKOVÁ, K.; HORNÍCKOVÁ, S.; PIVEC, V.; SKALA, O.; DEDINA, M.; PRIBYL, J. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 445–453, 2013.

LAGO-VANZELA, E. S.; SILVA, R.; GOMES, E.; GARCIA-ROMERO, E.; HERMISÍN-GUTIERREZ. Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 59, p.13136–13146, 2011.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, p. 2221–2295, 1916.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1362–1403, 1918.

LIU, X.; XU, Z.; GAO, Y.; YANG, B.; ZHAO, J.; WANG, L. Adsorption characteristics of anthocyanins from purple-fleshed potato (*Solanum tuberosum* *Jasim*) extract on macroporous resins. **International Journal of Food Engineering**, v. 3, n. 5, art. 4, 2007.

MACCABE W. L.; SMITH J. C.; HARRIOTT P. **Unit operations of chemical engineering**. 5. ed. McGraw-Hill, Inc. 1993.

MACHADO, M. D.; SANTOS, M. S. F.; GOUVEIA, C.; SOARES, H. M. V. M.; SOARES, E. V. Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: The flocculation as a separation process. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2107–2115, 2008.

MACIEL, G. M.; SOUZA, C. G. M.; ARAUJO, C. A. V.; BONA, E.; HAMINIUK, C. W. I.; CASTOLDI, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes sp.* **Chemical Engineering Journal**, v. 215–216, p. 331–338, 2013.

MARDEGAN, S. F.; ANDRADE, T. M. B.; NETO, E. R. S.; VASCONCELLOS, E. B. C.; MARTINS, L. F. B.; MENDONÇA, T. G.; MARTINELLI, L. A. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers - a comparison between large – and small – scale breweries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 52-57, 2013.

MARQUÉS, J. L.; PORTA, G. D.; REVERCHON, E.; RENUNCIO, J. A. R.; MAINAR, A. M. Supercritical antisolvent extraction of antioxidants from grape seeds after vinification. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 82, p. 238–243, 2013.

MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; LOPEZ-TOLEDANO, A.; MERIDA, J. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. **Food Chemistry**, v. 130, p.111–120, 2012.

MAZZARACCHIO, P.; KINDT, M.; PIFFERI, P. G.; TOZZI, S.; BARBIROLI, G. Adsorption behaviour of some anthocyanins by wheat gluten and its fractions in acidic conditions. **International Journal of Food Science e Technology**, v. 47, p. 390- 398, 2012.

MELLO, L. M. R. **Viticultura mundial: principais países e posição do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2012.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2012**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013.

MOHAN, S. V.; RAO, N. C.; KARTHIKEYAN, J. Adsorptive removal of direct azo dye from aqueous phase onto coal based sorbents: a kinetic and mechanistic study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 90, p. 189–204, 2002.

MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments (5th ed.). New York: Wiley, 2001.

MORELLI, L. L.; PRADO, M. A. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 1144–1149, 2012.

OLIVEIRA, A. P. **Avaliação da Influência dos macronutrientes na bioacumulação do chumbo pela *Eichhornia crassipes***. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), 2012.

OZTURK, N.; KAVAK, D. Adsorption of boron from aqueous solutions using fly ash: Batch and column studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 127, p. 81–88, 2005.

PÁDUA, E. A.; OLIVEIRA, A. C.; SGARBIERI, V. C. Importância da parede celular de levedura (*Saccharomyces sp.*) como fonte de fibra na alimentação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 233-239, 2000.

PEREIRA, A. C.; RIBEIRO, T. **A Qualidade na produção vinícola**. Dissertação (Graduação) – UNIVEM, Marília, 2008.

PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: Significance of plant cellwall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 579-590, 2006.

PINTO, L. C.; LOPES, M. V.; CARVALHO, C. D.; ALVES, L. V. A.; BENEVIDES, C. M.J. Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria (*Saccharomyces spp.*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.1, p.7-17, 2013.

RAFATULLAH, M.; SULAIMAN, O.; HASHIM, R.; AHMAD, R. Adsorption of copper (II), chromium (III), nickel (II) and lead (II) ions from aqueous solutions by meranti sawdust. **Journal of Hazardous Materials**, v.170, p. 969–977, 2009.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Sistema de produção de vinhos tintos**. Embrapa, 2006.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008.

ROCKENBACH, I. I.; GONZAGA, L. V.; RIZELIO, V. M.; GONÇALVES, A. E. S. S.; GENOVESE, M. I.; FETT, R. 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**, v. 44, p. 897-901, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; JUNGFER, E.; RITTER, C.; SANTIAGO-SCHUBEL, B.; THIELE, B.; FETT, R.; GALENSA, R. Characterization of flavan-3-ols in seeds of grape pomace by CE,HPLC-DAD-MS and LC-ESI-FTICR-MS. **Food Research International**, v. 48, p. 848 – 855, 2012.

RUBERTO, G.; RENDA, A.; DAQUINO, C.; AMICO, V.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C.; TOMMASI, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, v. 100, p. 203–210, 2007.

RUTHVEN D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Process**. John Wiley & Sons: New York, 1984.

SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e refrigerantes**. CETESB, São Paulo, 2005.

SANTOS, J.; MACHADO, A.; DIAS, E.; NOVAIS, A.; FERREIRA, A. **Processamento industrial do vinho tinto**. Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária, Coimbra, 2007.

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 *Vitis vinifera* grapes. **Food Research International**, v. 44, p. 1414–1418, 2011.

SANTOS, D. T., VEGGI, P. C., MEIRELLES, A. A. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 444-452, 2012.

SARMENTO, E. C.; FLORES, C. A.; WEBER, E.; HASENACK, H.; PÖTTER, R. O. Sistema de Informação Geográfica como Apoio ao Levantamento Detalhado de Solos do Vale dos Vinhedos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2795-2803, 2008.

SCORDINO, M.; MAURO, A. D.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Adsorption of flavonoids on resins: cyanidin 3-glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1965-1972, 2004.

SILVA, D. P. **Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, 2005.

SÓLYOM, K.; SOLÁ, R.; COCERO, M. J.; MATO, R. B. Thermal degradation of grape marc polyphenols. **Food Chemistry**, v. 159, p. 361–366, 2014.

SOTO, M. L.; MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 1-27, 2011.

SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**. DOI:10.1016/j.fbp.2013.11.001., 2013.

STUART, B. H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. Analytical Techniques in the Sciences (AnTs). Wiley, pp. 242, 2004.

TAHA, M.; HASSAN, M.; ESSA, S.; TARTOR, Y. Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from human and animals. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 1, p.15–20, 2013.

TAŞAR, Ş.; KAYA, F.; OZER, A. Biosorption of lead (II) ions from aqueous solution by peanut shells: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, p. 1018–1026, 2014.

TEMKIN M. J.; PYZHEV, V. Recent modifications to Langmuir isotherms. **Acta Physiochim. USSR**, v. 12, p. 217-222, 1940.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2008.

VENTURINI, W. G. F. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2005.

VENTURINI, W. G. F. **Bebidas Alcoólicas. Ciência e Tecnologia** – São Paulo: Editora Blucher, v. 1, 2010.

VIJAYARAGHAVAN, K.; PADMESH, T. V. N.; PALANIVELU, K.; VELAN, M. Biosorption of nickel(II) ions onto *Sargassum wightii*: application of two parameter and three parameter isotherm models, **Journal of Hazardous Materials**, v. 133, p. 304–308, 2006.

VILLIERS, A.; ALBERTS, P.; TREDoux, A. G. J.; NIEUWOUDT, H. H. Analytical techniques for wine analysis: An African perspective: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 730, p. 2-23, 2012.

VOLESKY, B. Biosorption and me. **Water Research**, v. 41, p. 4017– 4029, 2007.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, p. 141-149, 2008.

WANG, L. S; STONER, G. D. Anthocyanins and their role in câncer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, p. 281–290, 2008.

WU, J.; YU, H-Q. Biosorption of 2,4-dichlorophenol from aqueous solution by *Phanerochaete chrysosporium* biomass: isotherms, kinetics and thermodynamics. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, p. 498–508, 2006.

YOUSEF, R. I.; EL-ESWED, B.; AL-MUHTASEB, A. H. Adsorption characteristics of natural zeolites as solid adsorbents for phenol removal from aqueous solutions: Kinetics, mechanism, and thermodynamics studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, p. 1143–1149, 2011.

YOUSSEF, A. M.; EL-NABARAWY, T.; SAMRA, S. E. Sorption properties of chemically – activated carbons. Sorption of cadmium (II) ions. **Colloids and**

Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects, v. 235, p. 153-163, 2004.

ZHANG, Y.; LIU, W.; XU, M.; ZHENG, F.; ZHAO, M. Study of the mechanisms of Cu^{2+} biosorption by ethanol/caustic-pretreated baker's yeast biomass. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p. 1085–1093, 2010.

ZHANG, T.; LV, C.; CHEN, L.; BAI, G.; ZHAO, G.; XU, C. Encapsulation of anthocyanin molecules within a ferritin nanocage increases their stability and cell uptake efficiency. **Food Research International**, v. 62, p. 183–192, 2014.