



EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE UVAS DA ESPÉCIE *Vitis labrusca* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA TIROSINASE in vitro

CLÁUDIA GISELE PARAVISI

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE UVAS DA ESPÉCIE *Vitis labrusca* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA TIROSINASE in vitro

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência para
obtenção do título de Bacharel em
Farmácia. Centro Universitário da
Fundação Assis Gurgacz.

Prof. Orientadora: Suzana Bender

Prof. Colaboradora: Patrícia Stadler
Rosa Lucca

Cascavel – PR

2019

CLÁUDIA GISELE PARAVISI

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE UVAS DA ESPÉCIE *Vitis labrusca* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA TIROSINASE in vitro

Trabalho apresentado no Curso de Farmácia do Centro Universitário FAG, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, sob a orientação da Professora SUZANA BENDER.

BANCA EXAMINADORA

Suzana Bender

Titulação do Orientador

Nome do Professor Avaliador

Titulação do Professor Avaliador

Nome do 2º Professor Avaliador

Titulação do Professor Avaliador

Cascavel, 11 de Novembro de 2019.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família e aos amigos

por acreditarem em mim sempre!

O amor que vocês têm por mim é o que me

estimula a lutar e vencer todos os dias.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Suzana Bender, por acreditar em mim, não desistir e sempre estar ali para me reerguer e não me deixar desistir de tudo. Agradeço também pelas orientações, seu grande desprendimento em me ajudar e pela amizade conquistada durante o curso.

Aos amigos e namorado pelo incentivo e paciência durante toda a realização do trabalho e pelas palavras amigas nos momentos difíceis durante esse processo.

A todo o corpo docente do curso de farmácia FAG, por contribuir à minha aprendizagem e formação.

SUMÁRIO

REVISÃO LITERÁRIA.....	7
ARTIGO	20
NORMAS DA REVISTA	49

REVISÃO LITERÁRIA

1.1. COMPOSIÇÃO DA UVA

Segundo Shima (2013), a fruta que mais apresenta compostos fenólicos é a uva. Encontram-se ainda em sua composição ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzóicos), flavonóides (flavonóis e antociamina), os estilbenos (resveratrol) e grande quantidade de taninos. Os compostos fenólicos favorecem a qualidade dos vinhos e possuem efeitos benéficos à saúde humana (FLAMINI *et al.*, 2013).

As uvas da espécie de *Vitis labrusca* são denominadas uvas rústicas ou comuns. De maneira geral, estas videiras caracterizam-se por apresentarem elevada produtividade e alta resistência às doenças que normalmente atacam as cultivares de *Vitis vinífera*, conhecidas como uvas finas. (MAIA *et al.*, 2005).

Elas são usadas para o consumo in natura, entre as principais variedades dessa espécie estão Bordô, BRS Rúbea, Isabel, Concord, Niágara e Moscato. (SAUTTER, 2003; CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005; CAMARGO; NACHTIGAL, 2007).

1.2. RESÍDUOS DA VINIFICAÇÃO

O setor agrícola gera grande quantidade de resíduos agroindustriais e a busca de alternativas para a utilização dessa matéria orgânica gerada vem aumentando dentro de vários centros de pesquisas. Na área vinícola, esses resíduos representam um grave problema ao meio ambiente, gerando um impacto ambiental, pois quando jogado ao ar livre compromete as águas dos lençóis freáticos, devido a acidificação do solo, por esses compostos orgânicos liberarem excessivas quantidades de fósforo e nitrogênio. Entretanto é também fonte potencial de compostos bioativos, tais como as antocianinas reconhecidas pela atividade antioxidante e sua capacidade de coloração quando adicionada a produtos farmacêuticos, cosméticos e/ou alimentos. (PORTO *et al.*, 2014).

Através da prensagem das partes sólidas das uvas e do mosto é obtido o bagaço. Este resíduo da vinificação apresenta alto teor alcoólico e representa um importante subproduto da indústria vinícola devido aos componentes físicos que contém (SILVA, 2003).

O resíduo de uva é constantemente utilizado para compostagem e adubo para o solo, no entanto, este resíduo também é considerado uma fonte de vários compostos. Pode ser usado para readquirir ácidos orgânicos, tais como tartaratos, malatos e ácido cítrico (SCHIEBER, STINTZING, CARLE, 2001).

Dos subprodutos obtidos durante a produção de vinho, 13% são descartados e poderiam ser mais bem reaproveitados por conter alta concentração de compostos bioativos. Esses compostos poderiam ser extraídos e aplicados em indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos (TORRES *et al.*, 2002; SELANI, 2010).

Do bagaço e da borra do vinho se extraem corantes naturais para a indústria de alimentos. Dos depósitos que se formam nos recipientes vinários é extraído a “grúpula”, que é formada por cristais de tartarato de potássio, utilizado na indústria farmacêutica (sal de frutas). A formação desses cristais é consequência de um excesso de bitartarato de potássio ou de tartarato de cálcio, sais cuja solubilidade diminui com a redução da temperatura (RIZZON *et al.*, 2007). Esta precipitação tartárica em vinhos, por cristalização espontânea em condições naturais, é um fenômeno imprevisível e pode ocorrer durante a vinificação ou depois de embalados (ANDRADE, 2012).

A busca pelos benefícios do resveratrol vem justamente dessa sua propriedade antioxidante, estudadas primeiramente no “Paradoxo Francês” (IZARD, 2010). Os polifenóis presentes no vinho, principalmente o resveratrol são os principais componentes utilizados por uma população para manter a saúde cardiovascular, através da ingestão de algumas taças de vinho durante as refeições (FRANKEL *et al.*, 1993; DOHADWALA e VITA, 2009; IZARD, 2010).

1.3. RESVERATROL

O resveratrol foi identificado primeiramente em 1940, em um tipo de lírio nas suas raízes, conhecido como *Veratrum grandiflorum*, logo após no *Polygonum cuspodatum* também em suas raízes (RUIVO *et al.*, 2015). No ano de 1976 foi identificado em uvas da espécie *Vitis vinífera* e se tornou fonte de pesquisas para prevenção e diminuição da progressão de várias doenças. (LANGCAKE e PRYCE, 1976). Além de estar entre os compostos fenólicos das uvas, o resveratrol também pode ser encontrado em alimentos como amendoim, cacau, morango, e em algumas variedades de chás (PIESZKA *et al.*, 2016).

Resveratrol (trans-3, 5,4'- trihydroxystilbeno), é um composto fenólico, da classe dos polifenóis, do tipo estilbeno, não flavonoides, estudado atualmente por sua capacidade de neutralizar os radicais livres, diminuindo o estresse oxidativo (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2016). É facilmente encontrado em uvas, vinhos tintos, brancos e seus derivados, entretanto sua síntese advém principalmente das cascas dos frutos (CHANG *et al.*, 2015; PRADO *et al.*, 2013; LANÇON *et al.*, 2016; MULERO *et al.*, 2015; PEREDO – ESCÁRCEGA *et al.*, 2015; PIESKA *et al.*, 2016).

O resveratrol previne danos ocasionados por estresse oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta em culturas de fibroblastos e queratinócitos (JAGDEO *et al.*, 2010). Sua capacidade antioxidante está intrinsicamente ligada à sua estrutura. Seu grupo p-hidroxi e a posição de sua hidroxila tem habilidade em sequestrar radicais livres e evitar o ciclo pró-oxidante (KOVACIC *et al.*; 2010).

Algumas substâncias, como o resveratrol tem a capacidade de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres. Esta atividade resulta de um conjunto de propriedades, tais como: atividade quelante do ferro, atividade sequestrante de radicais livres, inibição das enzimas cicloxigenases, lipoxigenases, NADPH-oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estímulo de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase (SIMÕES *et al.*, 2007).

1.3.1. ESTRUTURA QUÍMICA DO RESVERATROL E SUA FUNÇÃO BIOLÓGICA

O resveratrol encontra-se nas formas *cis* e *trans*. A forma *trans* é mais estável termodinamicamente e é formado através de uma reação de condensação de três moléculas de malonil – CoA e uma molécula de *p*-cumaril – CoA, está presente nas cascas da maioria das variedades de uvas. A radiação UV favorece a formação do isômero *cis* que é instável e é facilmente isomerizada na forma *trans* (NDIAYE *et al.*, 2011).

Por possuir propriedade fortemente antioxidante, 10.000 vezes mais do que a vitamina E, estudos relatam os benefícios do resveratrol sobre a pele como agente antienvelhecimento e inibidor da atividade da tirosinase (FRANCO *et al.*, 2012).

O isômero *trans*-resveratrol tem reconhecidas atividades biológicas, e algumas delas são de uso terapêutico, tais como ação antiinflamatória, inibição da enzima lipoxigenase e ação anticarcinogênica.

Esse composto tem como principal função neutralizar os radicais livres, diminuindo o estresse oxidativo, que causa grandes alterações fisiológicas e patológicas no organismo humano, desencadeando doenças crônicas e degenerativas como o envelhecimento e câncer (LEAL *et al.*, 2017).

A utilização do resveratrol em cosméticos vem de suas propriedades antioxidantes. Park e Boo (2013) e Yanagihara *et al.*, (2012) obtiveram resultados positivos para o resveratrol como inibidor da tirosinase, uma vez que o processo da formação da melanina é um processo oxidativo.

1.4. TIROSINASE / MELANINA

A tirosinase é uma enzima amplamente encontrada na natureza, distribuída entre plantas, microrganismos e animais e tem como papel principal a biossíntese de melanina e outros processos fisiológicos. São enzimas tetraméricas, com dois sítios ativos por molécula, que possuem uma massa molar de 120 kDa. Esses sítios

contêm dois átomos de cobre (ligados a seis moléculas de histidinas) que possuem interação com oxigênio molecular (FARIA *et al.*, 2007; DURÁN *et al.*, 2002). A tirosinase tem como componente o cobre e é utilizada como substrato de compostos fenólicos (OKOMBI *et al.*, 2006).

A tirosinase atua sobre a tirosina formando um complexo enzimático cúprico-proteico sintetizado nos ribossomos e é transferido através do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi onde é aglomerado em unidades envoltas por melanossomas (MIOT *et al.*, 2009).

A reação inicial para a formação de melanina envolve a hidroxilação do substrato L-tirosina em 3,4- dihidroxifenilalanina (DOPA), com a liberação de uma molécula de água, catalisada pela enzima tirosinase. A tirosinase se envolve na oxidação de DOPA em DOPAquinona e na oxidação de 5,6-dihidroindol (DHI) a indol-5,6-quinona (OKOMBI *et al.*, 2006).

A melanina é um biopolímero heterogêneo, pigmentado polifenólico com grande peso molecular, de coloração castanha, responsável pela coloração de pele, cabelo, olhos e no escurecimento de alimentos. Sua concentração determina a intensidade da coloração.

A melanina desempenha um papel importante na proteção da pele humana contra os danos da radiação ultravioleta e na supressão de radicais livres. Porém,

seu acúmulo ou quantidade anormal em diferentes partes da pele resulta em hiperpigmentações que podem se tornar uma disfunção estética (CHANG, 2009).

Em função da disfunção pigmentar associada à ação da tirosinase, a busca por compostos capazes de inibir essa enzima têm despertado interesse crescente na indústria cosmética. Dessa forma, novos produtos com potencial inibitório devem ser investigados, assim como o resveratrol extraído da uva *Vitis labrusca*, pelo método de liofilização.

1.5. LIOFILIZAÇÃO

A liofilização é um processo que apresenta vantagens quando comparado com o processo convencional de secagem, pois várias reações de degradação são minimizadas quando a umidade é removida em baixas temperaturas. A transição de material hidratado para desidratado mantém a estrutura do material e aumenta sua estabilidade durante a estocagem e armazenamento (BOSS, 2004).

A liofilização é capaz de gerar perda de água e diminuição do volume do material. Esse processo mantém a cor, sabor, aroma e as características nutricionais quase intactas, evento decorrente da formação de textura porosa (EVANGELISTA, 2005). O processo é desenvolvido com baixa temperatura e ausência de ar atmosférico (GAVA, 2009). Contudo, se o tempo de congelamento for excessivo ocorrerá ruptura do material, ocasionando danos estruturais ao mesmo (MARQUES, 2008).

É um procedimento de separação por sublimação, empregado para a conservação de vários alimentos, permitindo o seu armazenamento por longo período, capaz de manter suas características organolépticas, visto que ocorre em condições especiais de pressão e temperatura. Trata-se de um procedimento misto que associa o congelamento e a desidratação (EVANGELISTA, 2005).

1.6. PROCESSO DE LIOFILIZAÇÃO

O processo de liofilização ocorre em três etapas: primeiro o congelamento, logo após a secagem primária e por último a secagem secundária, conhecida também como dissorção. Nesse processo, a secagem secundária é considerada crítica e dessa forma, para garantir a qualidade final do produto liofilizado é necessária à utilização correta dos parâmetros de pressão e tempo (METTA *et al.*, 2012).

O congelamento é responsável pela forma, tamanho, conectividade e distribuição dos poros na camada seca formada na sublimação. Através do congelamento os alimentos perdem calor pela superfície de transferência térmica para o meio. Os cristais formados durante esse processo devem conter tamanhos homogêneos para uma rápida secagem. Caso esses cristais sejam pequenos a transferência de massa de vapor de água será limitada (MARQUES, 2008).

A secagem primária ou sublimação é um processo endotérmico que fornece calor em todo esse processo. A água congelada é deslocada por sublimação e a pressão utilizada deve estar próxima ao vapor de equilíbrio da água congelada ou ainda menor (BOSS, 2004).

O material deve ser resfriado abaixo de 0° C para manter a água congelada, e a pressão absoluta deve estar em 4,58 torr na sublimação de água pura. A mudança da etapa de secagem primária para secundária ocorre quando não existir interface de sublimação (camada congelada) (MARQUES, 2008).

A secagem secundária consiste na retirada da água ligada ao material, com velocidade reduzida. Esta etapa só ocorre quando a umidade residual for inferior à umidade do material para garantir sua estabilidade por longos períodos (MARQUES, 2008).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo a liofilização das cascas de uvas da espécie *Vitis labrusca*, para que fossem obtidos compostos fenólicos da mesma, e assim testá-los em quatro concentrações diferentes, garantindo a confirmação da atividade inibitória da enzima tirosinase in vitro nessas quatro diferentes concentrações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE MJC. **Estabilização tartárica de vinhos tintos por combinação de nanofiltração e permuta catiônica** [dissertação de mestrado]. Porto: Universidade Católica Portuguesa; 2012.

BOSS, E, A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2004. 129 f. (Tese Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J.C. BRS Violeta: nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2005.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Cultivares. In: NACHTIGAL, J. C; SCHNEIDER, E. P. Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. **Embrapa Uva e Vinho**, 2007.

CHANG, G.R.; CHEN, P.L.; HOU, P.H.; MAO, F.C. Resveratrol protects against diet-induced atherosclerosis by reducing low-density lipoprotein cholesterol and inhibiting inflammation in apolipoprotein E-deficient mice. **Iranian journal of basic medical sciences**. Vol. 18. Num. 11. p. 1063. 2015.

CHANG, TE-SHENG. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, p.2440-2475, 2009.

DOHADWALA, M.M.; VITA, J.A. Grapes and cardiovascular disease. **The Journal of nutrition**. Vol. 139. Num. 9. p. 1788S-1793S. 2009.

DURÁN, N., ROSA, M. A., D'ANNIBALE, A. E GIANFREDA, L. Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on diferente supports: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, 31: 907-931, 2002.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 284 2005. 652p.

FARIA RO, MOURE VR, AMAZONAS MALA, KRIEGER N, MITCHELL DA. **The biotechnological Potential of Mushroom Tyrosinases. Food Technol Biotechnol.** 2007; 45(3):287-94

FLAMINI, R., MATTIVI, F., ROSSO, M.; ARAPITSAS, P.; BAVARESCO, L. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, stilbenes and Flavonols; **International Journal of Molecular Sciences**. Itália. 27 Setembro 2013.

FRANCO, D. et al. Inhibitory Effects of Resveratrol Analogs on Mushroom Tyrosinase Activity. **Molecules**, s.l., v.17, p. 11816-11825, 2012.

FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE, A.L.; KINSELLA, J.E. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. **The Lancet**. Vol. 341. Num. 8852. p. 1103-1104. 1993.

GAVA, A. J.; BENTO, C A.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. 2ª ed. São Paulo: Nobel, 2009.

IZARD, J.C.GRAPE VINE RESVERATROL: HEALTH AND BEAUTY BENEFITS. In: International Conference of Resveratrol and Health, 1st, 2010, s.l. Posters.l: s.n, 2010. S.p.

JAGDEO, J.; ADAMS, L.; LEV-TOV,H.; SIEMINSKA, J.; MICHL, J.; BRODY, N. Dose-dependent antioxidant function of resveratrol demonstrated via modulation of reactive oxygen species in normal human skin fibroblasts in vitro. **Journal of Drugs in dermatology**, v. 9, p. 1523-1526, 2010.

KOVACIC, P.; SOMANATHAN, R. Multifaceted approach to resveratrol bioactivity: Focus on antioxidant action, cell signaling and safety. **Oxidative medicine and cellular Longevity**, v. 3, p. 86-100, 2010.

LANÇON, A.; FRAZZI, R.; LATRUFFE, N. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-angiogenic properties of resveratrol in ocular diseases. **Molecules**. Vol. 21. Num. 3. p. 304. 2016.

LANGCAKE, P.; PRYCE, R.J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. **Physiological Plant Pathology**. Vol. 9. Num. 1. p. 77-86. 1976.

LEAL, J. B.; CARVALHO, F. O.; GONÇALVES, D. C.; LEAL, J. B.; SILVA, G. C. L.; CARNEVALI JÚNIOR, L. C.; HOEFEL, A. L. Resveratrol: Composição Química e seus Benefícios à Saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**. Vol. 11. Nº.67. p. 620-629. 2017.

MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A. Sistema de Produção de Uvas Rústicas para Processamento em Regiões Tropicais do Brasil. **Embrapa Uva e Vinho**, 2005.

MARQUES L. G. **Liofilização de frutas tropicais**, São Carlos, 2008, 255 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal de São Carlos.

METTA, I. K.; AYROSA, A. M. I. B.; PALETTA, F. C. **O papel da liofilização na conservação de alimentos pelo controle de qualidade**. 2012.

MIOT, L.D.B.; MIOT, H.A.; SILVA, M.G.; MARQUES, M.E.A. Fisiopatologia do melasma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, n.6, p.623-635, 2009.

MULERO, J.; ABELLÁN, J.; ZAFRILLA, P.; AMORES, D.; HERNÁNDEZ SÁNCHEZ, P. **Bioactive substances with preventive effect in cardiovascular diseases**. *Nutr Hosp*. Vol. 32. Num. 4. p. 1462-1467. 2015.

NDIAYE, M. et al. The Grape Antioxidant Resveratrol for Skin Disorders: Promise, Prospects, and Challenges. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, s.l., v.15; 508(2), p.164–170, abr.2011.

OKOMBI S.; RIVAL D.; BONNET S.; MARIOTTE A. M. ; PERRIERB E.; BOUMENDJEL A. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.16, n. 8, p. 2252-2255, 2006.

PARK, J.; BOO, Y.C. Isolation of Resveratrol from *Vitis Viniferae* Caulis and Its Potent Inhibition of Human Tyrosinase. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, s.l., v. 2013, p. 1-11, 2013.

PEREDO-ESCÁRCEGA, A.E.; GUARNER-LANS, V.; PÉREZ-TORRES, I.; ORTEGA-OCAMPO, S.; CARREÓN TORRES, E.; CASTREJÓN-TELLEZ, V.; DIAZ-DIAZ, E.; RUBIO-RUIZ, M. E. The combination of resveratrol and quercetin attenuates metabolic syndrome in rats by modifying the serum fatty acid composition and by upregulating SIRT 1 and SIRT 2 expression in white adipose tissue. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2015.

PEREIRA JÚNIOR, E.S.; MEDEIROS, N.S.; DANI, C.; FUNCHAL, C. Suco de uva: fonte de compostos bioativos com benefício à saúde. **Nutrição Brasil**. Vol. 12. Num. 3. 2013.

PIESZKA, M.; SZCZUREK, P.; ROPKA-MOLIK, K., OCZKOWICZ, M.; PIESZKA, M. Rola resweratrolu w regulacji metabolizmu komórkowego. **Postepy Hig Med Dosw (online)**. Vol. 70. p. 1117-1123. 2016.

PORTO, C. D.; DECORTI, D.; NATOLINO, A. Water and ethanol as co-solvent in supercritical fluid extraction of proanthocyanidins from grape marc: A comparison and a proposal. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.87, p.1-8, marc. 2014.

PRADO, A.K.M.; CAETANO, M.H.; BENEDETTI, R.; BENEDETTI, P.D.C.D. Os efeitos do consumo de vinho na saúde humana. **Revista Científica Unilago**. Vol. 1. Num. 1. p. 109-128. 2013.

RIZZON LA, MENEGUZZO J. Suco de uva. Bento Gonçalves (RS): **Embrapa Uva e Vinho**; 2007. 45 p.

RUIVO, J.; FRANCISCO, C.; OLIVEIRA, R.; FIGUEIRAS, A. The main potentialities of resveratrol for drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol. 51. Num. 3. p. 499-513. 2015.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 2003.

SCHIEBER, A., STINTZING, F. C., CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-41, 2001.

SELANI, M. M. **Extrato de bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento.** 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SHIMA, N. N. S. Hashim; LACHLAN J. S.; REINHARD I. B.; YUANZHONG Y. B. I. D.; HEARN M. T. W. Hearn: Rapid solid-phase extraction and analysis of resveratrol and other polyphenols in red wine. **Journal of Chromatography A**. Australia, 28 June 2013.

SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. **Millenium - Revista do Instituto Politécnico de Viseu**, n. 28, p. 123-133, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento.** Porto Alegre: editora UFRGS, 1104p. 2007.

TORRES, J. L., VARELA, B., GARCIA, M. T., CARILLA, J., MATITO, C., CENTELLES, J. J., CASCANTE, M., SORT, X., BOBET, R. Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) byproducts: Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7548-7555. 2002.

YANG, L.; ZHANG, Y.; ZHU, M.; ZHANG, Q.; WANG, X.; WANG, Y.; LIU, F. Resveratrol attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through up-regulation of vascular endothelial growth factor B. **Free Radical Biology and Medicine**. Vol. 101. p. 1-9. 2016

YANAGIHARA, M. et al. Inhibitory Effect of Gnetin C, a Resveratrol Dimer from Melinjo (*Gnetum gnemon*), on Tyrosinase Activity and Melanin Biosynthesis. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, s.l., v. 35(6), p. 993–996, 2012.

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE UVAS DA ESPÉCIE *Vitis labrusca* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA TIROSINASE in vitro

EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM *Vitis labruscas* GRAPES AND EVALUATION OF INHIBITORY ACTIVITY OF TYROSINASE ENZYME in vitro

Cláudia Gisele Paravisi¹, Suzana Bender^{2*}

^{*1} Acadêmica de Farmácia. Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz.

² Docente do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz.

*Autor correspondente: cgparavisi@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0001-6681-0602>)

RESUMO

As indústrias vinícolas são grandes geradoras de resíduos orgânicos descartados ao meio ambiente. Atualmente a indústria farmacêutica tem se interessado por estes resíduos devido aos compostos bioativos presentes. Entre eles destacam-se os produtos fenólicos, fonte de antioxidantes naturais com comprovado valor terapêutico e cosmético. O presente trabalho teve como objetivo extrair compostos fenólicos do bagaço das uvas da espécie *Vitis labrusca* e através de ensaio in vitro verificar sua eficácia na inibição da enzima tirosinase. Os compostos fenólicos extraídos das uvas da espécie *Vitis labrusca* foram eficazes na inibição da enzima tirosinase in vitro e dessa forma representam uma fonte potencial de compostos bioativos para uso em produtos cosméticos. Foi possível concluir também que a atividade observada no extrato fenólico foi decorrente da presença do resveratrol, uma vez que este possui atividade comprovada em diversos estudos. Entretanto, mais estudos devem ser realizados a fim de verificar a quantidade de resveratrol no bagaço da uva *Vitis Labrusca* obtido com resíduo da vinificação, assim como sua ação quando adicionado a uma base cosmética.

PALAVRAS-CHAVE: Compostos fenólicos; *Vitis labrusca*; Tirosinase; Resveratrol.

ABSTRACT

The wine industries are major generators of organic waste disposed to the environment. Currently the pharmaceutical industry has been interested in those residues due to the present bioactive compounds. Among them stand out the phenolic products, source of natural antioxidants with proven therapeutic and cosmetic value. The objective of the present study was to extract phenolic compounds from the bagasse of *Vitis labrusca* grapes and through in vitro test to verify their effectiveness in inhibiting the tyrosinase enzyme. Phenolic compounds extracted from *Vitis labrusca* grapes were effective in inhibiting the tyrosinase enzyme in vitro and thus represent a potential source of bioactive compounds for use in cosmetic products. It was also possible to conclude that the activity observed in the phenolic extract was due to the presence of resveratrol, since it has proven activity in several studies. However, further studies should be carried out to verify the amount of resveratrol in *Vitis labrusca* grape bagasse obtained with vinification residue, as well as its action when added to a cosmetic base.

KEY WORDS: Phenolic compounds; *Vitis labrusca*; Tyrosinase; Resveratrol.

1. INTRODUÇÃO

O setor agrícola utiliza a uva como matéria-prima, que ao final do processo gera uma grande quantidade de resíduos. Dessa forma, existe um interesse por alternativas para a utilização dessa matéria orgânica gerada, dentro de vários centros de pesquisas (PORTO *et al.*, 2014).

Na área vinícola esses resíduos representam um problema ao meio ambiente, pois comprometem as águas dos lençóis freáticos. Entretanto, podem ser utilizados para compostagem e adubo para o solo, uma vez que acidificam o mesmo fornecendo ácidos orgânicos, tais como tartaratos, malatos e ácido cítrico (SCHIEBER *et al.*, 2001).

Dos subprodutos obtidos durante a produção de vinho, treze por cento são descartados, enquanto poderiam ser reaproveitados por conter alta concentração de compostos bioativos. Esses compostos poderiam ser extraídos e aplicados em indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos (TORRES *et al.*, 2002; SELANI, 2010).

Do bagaço e da borra do vinho são extraídos corantes naturais para a indústria de alimentos. Dos depósitos que se formam nos recipientes vinários é extraído a “grúpula”, que é formada por cristais de tartarato de potássio, utilizado na indústria farmacêutica (sal de frutas). Ainda na casca da uva encontram-se ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzóicos), flavonóides (flavonóis e antociamina), os estilbenos (resveratrol) e grande quantidade de taninos. Os compostos fenólicos favorecem a qualidade dos vinhos e possuem efeitos benéficos a saúde humana (FLAMINI *et al.*, 2013).

Dentre os compostos fenólicos presentes nos vinhos tintos, brancos e seus derivados encontra-se o resveratrol, entretanto sua síntese advém principalmente das cascas dos frutos (CHANG *et al.*, 2015; PRADO *et al.*, 2013; LANÇON *et al.*, 2016; MULERO *et al.*, 2015; PEREDO – ESCÁRCEGA *et al.*, 2015; PIESKA *et al.*, 2016). O resveratrol foi identificado, no ano de 1976 em uvas da espécie *Vitis vinífera* e se tornou fonte de pesquisas para prevenção e diminuição da progressão de várias doenças (LANGCAKE e PRYCE, 1976).

Resveratrol (trans-3, 5,4'- trihydroxystilbeno) é um composto fenólico, da classe dos polifenóis, do tipo estilbeno, não flavonoides, estudado atualmente por sua capacidade de neutralizar os radicais livres, diminuindo o estresse oxidativo, que causam grandes alterações fisiológicas e patológicas no organismo humano, desencadeando doenças crônicas e degenerativas como o envelhecimento e câncer (LEAL *et al.*, 2017).

O resveratrol previne danos ocasionados por estresse oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio e pela radiação ultravioleta em culturas de fibroblastos e queratinócitos (JAGDEO *et al.*, 2010). Sua capacidade antioxidante está

intrinsecamente ligada à sua estrutura. Seu grupo p-hidroxi e a posição de sua hidroxila tem habilidade em sequestrar radicais livres e evitar o ciclo pró-oxidante (KOVACIC *et al.*, 2010).

Também possuem a capacidade de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres. Esta atividade resulta de um conjunto de propriedades, tais como: atividade quelante do ferro, inibição das enzimas cicloxigenases, lipoxigenases, NADPH-oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estímulo de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase (SIMÕES *et al.*, 2007).

O resveratrol encontra-se nas formas *cis* e *trans*. A forma *trans* é mais estável termodinamicamente e é formado através de uma reação de condensação de três moléculas de malonil – CoA e uma molécula de p-cumaril – CoA, está presente nas cascas da maioria das variedades de uvas. A radiação UV favorece a formação do isômero *cis* que é instável e é facilmente isomerizada na forma *trans* (NDIAYE *et al.*, 2011). O isômero *trans*-resveratrol tem reconhecidas atividades biológicas, e algumas delas são de uso terapêutico, tais como ação anti-inflamatória, inibição da enzima lipoxigenase e ação anticarcinogênica.

Por possuir propriedade fortemente antioxidante, maiores do que a vitamina E (10.000) estudos relatam os benefícios do resveratrol sobre a pele como agente antienvhecimento e inibidor da atividade da tirosinase (FRANCO *et al.*, 2012).

Park e Boo (2013) e Yanagihara *et al.*, (2012) obtiveram resultados positivos com o uso do resveratrol como inibidor da enzima tirosinase, uma vez que o processo da formação da melanina é um processo oxidativo.

A tirosinase possui como papel principal a biossíntese de melanina e outros processos fisiológicos. São enzimas tetraméricas, com dois sítios ativos por molécula, que possuem uma massa molar de 120 kDa. Esses sítios contêm dois átomos de cobre (ligados a seis moléculas de histidinas) que possuem interação com oxigênio molecular (FARIA *et al.*, 2007; DURÁN *et al.*, 2002). A tirosinase tem

como componente o cobre e utilizada como substrato compostos fenólicos (OKOMBI *et al.*, 2006).

A tirosinase atua sobre a tirosina formando um complexo enzimático cúprico-proteico sintetizado nos ribossomos e transferido através do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi onde é aglomerado em unidades envoltas por melanossomas (MIOT *et al.*, 2009).

A reação inicial para a formação de melanina envolve a hidroxilação do substrato L-tirosina em 3,4- dihidroxifenilalanina (DOPA), com a liberação de uma molécula de água, catalisada pela enzima tirosinase. A tirosinase se envolve na oxidação de DOPA em DOPAquinona e na oxidação de 5,6-dihidroindol (DHI) a indol-5,6-quinona (OKOMBI *et al.*, 2006).

A melanina é um biopolímero heterogêneo, pigmentado polifenólico com grande peso molecular, de coloração castanha, responsável pela coloração de pele, cabelo, olhos. A melanina desempenha um papel importante na proteção da pele humana contra os danos da radiação ultravioleta e na supressão de radicais livres. Porém, seu acúmulo ou quantidade anormal em diferentes partes da pele resulta em hiperpigmentações que podem se tornar uma disfunção estética (CHANG, 2009).

Em função da disfunção pigmentar associada à ação da tirosinase, a busca por compostos capazes de inibir essa enzima têm despertado interesse crescente na indústria cosmética. Dessa forma, novos produtos com potencial inibitório devem ser investigados, assim como os compostos fenólicos extraídos da uva *Vitis labrusca*, fonte de resveratrol.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo extrair compostos fenólicos do bagaço das uvas da espécie *Vitis labrusca* e através de ensaio in vitro, verificar sua eficácia na inibição da enzima tirosinase.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. AMOSTRA

Para a realização do trabalho, foi adquirido aproximadamente 1 kg de amostras de bagaço de uva *Vitis labrusca*, que foram cedidas pela Vinícola Bordignon, localizada na linha alvorada, zona rural de Palotina – PR, em março de dois mil e dezenove.

Após adquirir as amostras, as mesmas foram levadas até a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em Cascavel, para o laboratório de alimentos, onde foram congeladas e liofilizadas. Os demais ensaios foram realizados no Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, nos laboratórios de química e tecnologia farmacêutica.

2.2. LIOFILIZAÇÃO

Primeiramente as amostras de bagaço de uva *Vitis labrusca* foram separadas dos talos e semente manualmente. Então, as amostras foram separadas em quatro alíquotas de 20 g e liofilizadas por 72 horas a temperatura de -45 °C, com pressão inicial de $3,1 \times 10^{-1}$ torr, utilizando o Liofilizador Freeze Dryer, linha LJJ (Figura 1).

Figura 1 - Liofilizador Freeze Dryer



Processo de Liofilização

Fonte: Autora

A liofilização é um processo que apresenta vantagens quando comparado com o processo convencional de secagem, pois várias reações de degradação são minimizadas quando a umidade é removida em baixas temperaturas. A transição de material hidratado para o desidratado mantém a estrutura do material e aumenta sua estabilidade durante a estocagem e armazenamento (BOSS, 2004).

O processo de liofilização consistiu em três etapas, sendo elas o congelamento, a secagem primária e a secundária. O congelamento foi responsável pela forma, tamanho, conectividade e distribuição dos poros na camada seca formada na sublimação. Através do congelamento a amostra perdeu calor pela superfície de transferência térmica para o meio. Os cristais formados durante esse processo devem conter tamanhos homogêneos para uma rápida secagem. Caso esses cristais sejam pequenos a transferência de massa de vapor de água será limitada (MARQUES, 2008).

A secagem primária ou sublimação foi um processo endotérmico que forneceu calor em todo esse processo. A água congelada foi deslocada por sublimação e a pressão utilizada estava próxima ao vapor de equilíbrio da água congelada ou ainda menor (BOSS, 2004).

O material foi resfriado abaixo de 0°C para manter a água congelada, e a pressão absoluta devia estar em 4,58 torr na sublimação de água pura. A mudança da etapa de secagem primária para secundária ocorreu quando não existiu mais interface de sublimação (camada congelada) (MARQUES, 2008).

A secagem secundária consistiu na retirada da água ligada ao material, com velocidade reduzida. Esta etapa só ocorreu quando a umidade residual foi inferior à umidade do material para garantir sua estabilidade por longos períodos (MARQUES, 2008). Nesse processo, a secagem secundária foi considerada crítica e dessa forma, para garantir a qualidade final do produto liofilizado foi necessária a utilização correta dos parâmetros de pressão e tempo (METTA *et al.*, 2012). O produto final do processo de liofilização foi representado na figura 2.

Figura 2 – Produto final do processo de liofilização



Amostra liofilizada

Fonte: Autora

2.3. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

2.3.1. EXTRAÇÃO

O protocolo utilizado foi realizado segundo Liu *et al.*, (2012), com modificações. Foi pesado 1g de composto liofilizado o qual foi adicionado de 5 ml de solução solvente de metanol e 5 ml de acetato de etila (PM 88,11 g/mol). Os compostos fenólicos foram extraídos no escuro por 24 horas à temperatura ambiente. Após esse período, o líquido de extração foi centrifugado a 1000 rpm por 15 min.

O sobrenadante foi evaporado até secagem no rotaevaporador (Figura 3) por 3 horas a temperatura de 50°C. O extrato fenólico bruto seco foi suspenso em 2 ml de metanol e congelado a -18°C até o momento da análise.

Figura 3- Rotaevaporador



Processo de rotaevaporação

Fonte: Autora

2.4. DA ATIVIDADE DE INIBIÇÃO SOBRE A TIROSINASE

2.4.1. PREPARO DAS SOLUÇÕES

Tampão fosfato de sódio 50mM pH 6,5

Fosfato de sódio monobásico	4,3821g
Fosfato de sódio dibásico	4,0069g
Água destilada q.s.p.	1000ml

Solução de tirosinase 25U/ml

Tirosinase de cogumelo (25KU/ml, Sigma Aldrich)	100 µL
Tampão fosfato de sódio 50mM pH 6,5 q.s.p	10 ml

Solução de L-tirosina 2mM

L-Tirosina (Sigma Aldrich)	0,009g
Tampão fosfato de sódio 50mM pH 6,5 q.s.p	25ml

Solução de Ácido fítico

Ácido fítico	2ml
Água destilada q.s.p.	100ml

Para a preparação do tampão fosfato de sódio 50mM, foram pesados 4,3821g de fosfato de sódio monobásico e 4,0069g de fosfato de sódio dibásico. Os mesmos foram adicionados em um balão volumétrico de 1000ml, completou-se o volume com água destilada q.s.p. para 1000ml. Após homogeneizar completamente, verificou-se o pH utilizando um pHmetrô calibrado, o qual indicou pH 6,5.

Para o preparo da solução tirosinase 25U/ml pipetou-se 100µL de tirosinase de cogumelo (25KU/ml) em um balão volumétrico de 10ml, com a solução tampão fosfato de sódio 50mM pH 6,5 q.s.p. completou-se o volume para 10ml. A mistura foi então homogeneizada.

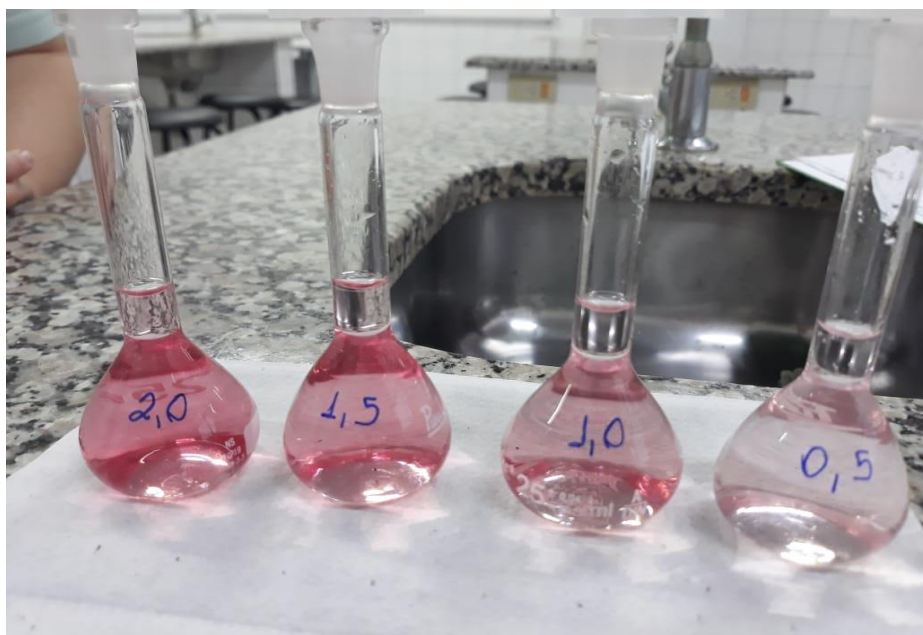
Na preparação da solução de L-tirosina 2mM, pesou-se 0,009g, acrescentou-se a mesma em um balão volumétrico de 25ml. Com a solução tampão fosfato de sódio 50mM pH 6,5 q.s.p. completou-se o balão para o volume de 25ml e a mistura foi então homogeneizada.

Preparou-se a solução de ácido fitico pipetando-se 2ml do mesmo e colocando-o em um balão de 100ml. Completou-se o volume com água destilada q.s.p. para 100ml e a mistura homogeneizada.

2.5. SOLUÇÃO DE EXTRATO FENÓLICO

Os extratos metanólicos foram diluídos em água destilada e foi preparada uma solução na concentração de 5% (v/v). A partir dessa solução, foram retiradas alíquotas de forma a se obter soluções em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 (%v/v)). As soluções em diferentes concentrações estão demonstradas na Figura 4.

Figura 4- soluções em diferentes concentrações



Soluções preparadas com várias concentrações.

Fonte: Autora

2.6. INIBIÇÃO DA ENZIMA TIROSINASE *in vitro*

O ensaio foi realizado segundo Khatib (2005), com algumas modificações. Em tubos de ensaio foram adicionados 30 µL de solução de tirosinase 25U/ml, 60 µL de solução tampão fosfato de sódio 50mM pH6, 5 e 1ml do extrato fenólico nas diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 (%v/v)). Essa mistura foi incubada por 5 min a 25°C. E então foi adicionado 100 µL de solução de L-tirosina (2mM) para reação a 25°C. O controle negativo foi feito da mesma forma que para o extrato fenólico, entretanto, no lugar do extrato foi utilizado o ácido fitico (com atividade comprovada no efeito inibidor da enzima tirosinase). Para o controle positivo foi adicionado em um tubo 60 µL de solução tampão fosfato de sódio 50mM pH6, 5, 30 µL de solução de tirosinase 25U/ml e 100 µL de L-tirosina para reação a 25°C. O controle positivo foi realizado a fim de demonstrar a formação da melanina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. LIOFILIZAÇÃO E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Verificou-se que ao final do processo de liofilização, a cor do material se manteve preservada. Esse fato ocorreu devido a não exsudação do material bioativo, preservando a amostra durante o processo, pois a água passou do estado sólido para o gasoso sem passar pela fase líquida processo esse chamado de sublimação (BOTTI, 2016).

Quanto mais intensa a coloração da uva, mais interessante se torna do ponto de vista funcional, já que as uvas de coloração escura apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (FREITAS *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos não foram caracterizados, entretanto diversos estudos apontam que o principal composto presente na uva é o resveratrol. Concentrações significativas de resveratrol foram encontradas nos sucos de uvas brasileiras e essas concentrações variaram principalmente de acordo com a origem e o tipo da uva, assim como com o processo de extração (FREITAS *et al.*, 2010). BOTTI (2016) avaliou comparativamente métodos de preservação e extração do resveratrol e observou que o bagaço liofilizado resultou em concentração maior de resveratrol

sendo $0,25 \mu\text{g g}^{-1}$, quando comparado com o bagaço que foi desidratado resultando em $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$.

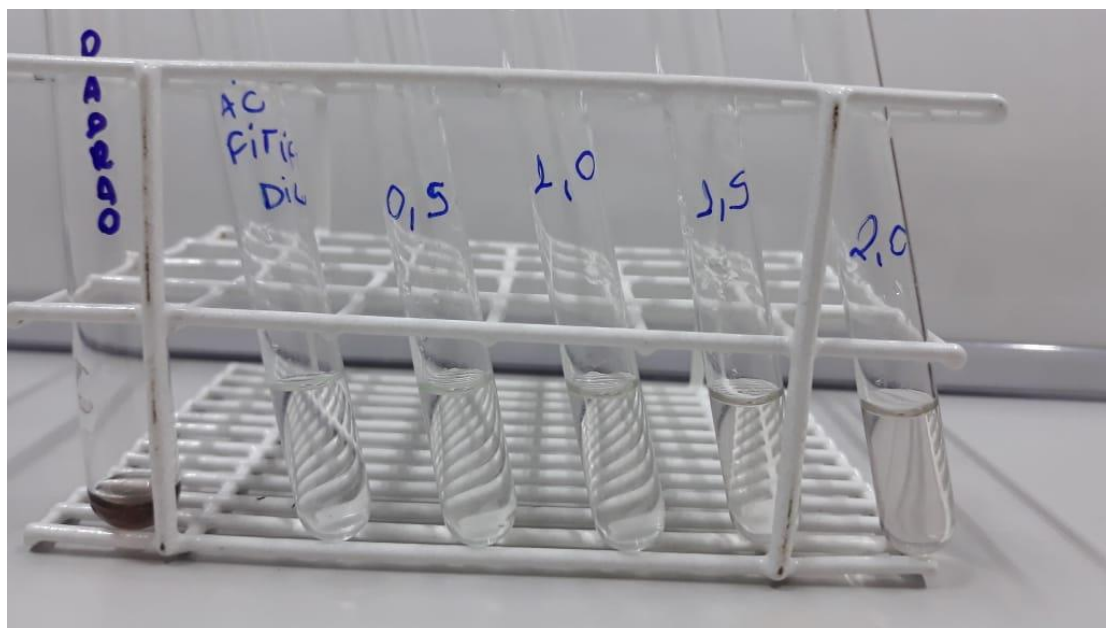
RIMANDO *et al.*, (2004), encontraram valores de resveratrol entre 7 e 5800 ng.g^{-1} base seca, em espécies de *Vitis*, o que correspondeu a quantidades de no máximo $0,15 \text{ mg.100 g}^{-1}$, considerando valor de umidade em torno de 80%. Outro estudo observou a presença de resveratrol na casca, local onde é sintetizado e onde se concentra a maior quantidade da substância (CHANG *et al.*, 2015). Ao avaliar o processo de vinificação Oliveira *et al.*, (2015) observaram que a maior parte dos compostos fenólicos da uva não foi extraído para o vinho ($3,99 \pm 0,22 \text{ g kg}^{-1}$), ficando no bagaço ($5,75 \pm 0,44 \text{ g kg}^{-1}$).

Estudos realizados por Adrian *et al.*, (2000) e Jung *et al.*, (2005) sugeriram que o resveratrol poderia ser utilizado como agente terapêutico no combate a algumas infecções fúngicas. Segundo estudos realizados por Langcake e Pryce (1976) e Domingo e Lopes-Brea (2003) e Chan (2002) o resveratrol regrediu a infecção por dermatófitos e bactérias da pele em humanos. O resveratrol ainda apresentou inúmeros estudos que comprovaram suas propriedades anticarcinogênicas, cardioprotetora e antienvhecimento (LEAL *et al.*, 2017).

3.2. ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ENZIMA TIROSINASE

No ensaio de inibição da enzima tirosinase observou-se a inibição total da enzima pelo extrato fenólico. Também foi possível observar a inibição da atividade da enzima no tubo de ensaio em que foi utilizado o ácido fítico. O controle positivo demonstrou a formação da melanina, visualizada pela formação de um pigmento marrom. Os resultados estão apresentados na Figura 5.

Figura 5- Soluções do extrato fenólico, do controle positivo e negativo.



Soluções do extrato fenólico, do controle positivo e negativo

Fonte: Autora

Dentre os distúrbios metabólicos que ocorrem na epiderme no processo de envelhecimento crônico, tem-se o surgimento da hiperpigmentação, decorrente do aumento na produção de melanina. Desta forma, verificou-se que o resveratrol pode atuar nesse processo, pois o mesmo apresenta a capacidade de inibir a tirosinase de forma não competitiva. Quando em presença de oxigênio a forma oxidada do resveratrol se liga ao conjunto de enzima – substrato, quelando-o evitando que a reação ocorra, portanto, atuando apenas como agente de clareamento da pele (PERETTI *et al.*, 2015).

Para Park e Boo (2013), o resveratrol presente no extrato do caule de parreira apresenta IC₅₀ (Inhibitory Concentration - média (50%) da concentração máxima inibitória da síntese de melanina) = 0,39 µg/ml, o ácido p-cumárico IC₅₀ = 0,66 µg/ml e o arbutin IC₅₀ > 100µg/ml, sugerindo o resveratrol como um potente inibidor seletivo da tirosinase. Também mostrou comparativamente que com o aumento da concentração das substâncias tem-se a diminuição da síntese de melanina.

Mas, Franco *et al.*, (2012) e Kim *et al.*, (2002) avaliaram a IC₅₀ do resveratrol e observaram que esse valor foi de = 57,07µg/ml e 22,8µg/ml, respectivamente, inibindo fracamente a enzima. Kim *et al.*, (2002) relatou que o ácido kójico e o resveratrol possuem níveis próximos de inibição da atividade da enzima (14,9 e 12,6 % respectivamente) a 10µmol/L, 41,4 e 36,8% a 30µmol/L e 76,7 e 63,8% a 100µmol/L. Esses autores observaram que o aumento da concentração foi diretamente proporcional ao aumento da inibição da atividade da enzima.

De acordo com Franco *et al.*, (2012) o resveratrol inibiu a tirosinase, mas não inibiu a síntese de melanina de maneira que permita-se por si só como um agente clareador da pele nos cosméticos, porém atua positivamente em associação com outros agentes clareadores.

Pesquisadores analisaram os derivados de resveratrol e seus efeitos na melanogênese e a viabilidade das células de melanoma B16 F10 às quais foram adicionadas α-MSH (100 nM) para obtenção do aumento da síntese de melanina. Os

nove derivados do resveratrol, cinco de éter (2a-2e); quatro ésteres (3a-3d), nas células testadas, demonstraram que a produção de melanina diminuiu quando em concentrações 5 a 20 µg/ml, sem citotoxicidade o que justificou seu potencial uso para aplicação de cosméticos e em produtos contra a carcinogênese (LIU Q. *et al.*, 2015).

Estudo realizado por Jang *et al.*, (1997), demonstraram que a aplicação tópica do resveratrol foi responsável pela proteção contra tumores causados pela radiação UVB. Outros autores relatam que a aplicação tópica de resveratrol inibiu a indução de melanomas em camundongos sem relatos de efeitos tóxicos associados. Esse estudo demonstrou ainda que o resveratrol foi capaz de também contribuir como agente antioxidante (REAGAN-SHAW, 2008).

Além disso, Magalhães (2012) relatou que os compostos polifenólicos, como a molécula de resveratrol foi capaz de ativar as HSPs, conhecidas como proteínas do choque térmico, responsáveis pela resistência aos danos causados pelos agentes estressantes, como radiação UV e poluição do ar.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, foi possível concluir que, os compostos fenólicos extraídos das uvas da espécie *Vitis labrusca* foram eficazes na inibição da enzima tirosinase in vitro e dessa forma representam uma fonte potencial de compostos bioativos para uso em produtos cosméticos.

Foi possível concluir também que a atividade observada no extrato fenólico foi decorrente da presença do resveratrol, uma vez que este possui atividade comprovada em diversos estudos. Entretanto, mais estudos devem ser realizados a fim de verificar a quantidade de resveratrol no bagaço da uva *Vitis Labrusca* obtido com resíduo da vinificação, assim como sua ação quando adicionado a uma base cosmética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIAN, M; JEANDET, P; DOUILLET-BREUIL, A. C; TESSON, L; BESSIS, R. Stilbene content of mature *Vitis vinifera* berries in response to UV-C elicitation. **J Agric Food Chem** 48: 6103-6105, 2000.

ANDRADE MJC. **Estabilização tartárica de vinhos tintos por combinação de nanofiltração e permuta catiônica** [dissertação de mestrado]. Porto: Universidade Católica Portuguesa; 2012.

BOISSY, R.E.; MANGA, P. On the etiology of contact/occupational vitiligo. **Pigment Cell Research**. v. 17, p. 208–214, 2004.

BOSS, E, A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2004, 129 f. (Tese Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BOTTI, S. C. C. F. **Extração e caracterização do resveratrol do bagaço da uva, análise comparativa entre métodos de secagem e comprovação da atividade biológica in vitro**. 71 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Gestão e Tecnologia em sistemas Produtivos). Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, São Paulo, 2016.

BRADAMANTE, S.; BARRENGHI L., VILLA, A. Cardiovascular protective effects os resveratrol. **Cardiovascular Drug Reviews** v. 22, p. 169-88, 2004.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J.C. BRS Violeta: nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2005.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Cultivares. In: NACHTIGAL, J. C; SCHNEIDER, E. P. Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. **Embrapa Uva e Vinho**, 2007.

CHAN, M. M. Y. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. **Biochem Pharmacol** 63: 99-104, 2002.

CHANG, G.R.; CHEN, P.L.; HOU, P.H.; MAO, F.C. Resveratrol protects against diet-induced atherosclerosis by reducing low-density lipoprotein cholesterol and inhibiting inflammation in apolipoprotein E-deficient mice. **Iranian journal of basic medical sciences**. Vol. 18. Num. 11. p. 1063. 2015.

CHANG, TE-SHENG. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, p.2440-2475, 2009.

DOHADWALA, M.M.; VITA, J.A. Grapes and cardiovascular disease. **The Journal of nutrition**. Vol. 139. Num. 9. p. 1788S-1793S. 2009.

DOS SANTOS LIMA, M.; SILANI, I.D.S.V.; TOALDO, I.M.; CORRÊA, L.C.; BIASOTO, A.C.T.; PEREIRA, G.E.; BORDIGNON-LUIZ, M.T.; NINOW, J.L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food chemistry**. Vol. 161. p. 94-103. 2014.

DURÁN, N., ROSA, M. A., D'ANNIBALE, A. E GIANFREDA, L. Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on diferente supports: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, 31: 907-931, 2002.

DOMINGO, D; LOPES-BREA, M. Plantas con acción antimicrobiana. **Rev Esp Quimioterap** 16: 385-393, 2003.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 284 2005. 652p.

FARIA RO, MOURE VR, AMAZONAS MALA, KRIEGER N, MITCHELL DA. The biotechnological Potential of Mushroom Tyrosinases. **Food Technol Biotechnol**. 2007; 45(3):287-94

FLAMINI, R., MATTIVI, F., ROSSO, M.; ARAPITSAS, P.; BAVARESCO, L. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, stilbenes and Flavonols; **International Journal of Molecular Sciences**. Itália. 27 Setembro 2013.

FRANCO, D. et al. Inhibitory Effects of Resveratrol Analogs on Mushroom Tyrosinase Activity. **Molecules**, s.l., v.17, p. 11816-11825, 2012.

FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE, A.L.; KINSELLA, J.E. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. **The Lancet**. Vol. 341. Num. 8852. p. 1103-1104. 1993.

FRÉMONT, I. Minireview – Biological effects of resveratrol. **Life Science** v. 66, p. 663-673, 2000.

GALFI, P.; JAKUS, J.; MALMAR, T.; NEOGRADY, S.; CASORDAS, A.. Divergent effects os resveratrol, a poly phenolic phytostilbene, on free radical levels and type of cell death induced bu the histone deacetylase inhibitors butyrate as trichostatin. **Journal of. Steroid Biochemistry Mol. Biol.** V. 94, pp. 39-47, 2005.

GAVA, A. J.; BENTO, C A.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. 2^a ed. São Paulo: Nobel, 2009.

HART, JH 1981. Role of phytostilbenes in decay and disease resistance. Annu **Rev Phytopathol** 19: 437-458, 1981.

IZARD, J.C.GRAPE VINE RESVERATROL: HEALTH AND BEAUTY BENEFITS. In: **International Conference of Resveratrol and Health**, 1st, 2010, s.l. Posters.l: s.n, 2010. S.p.

JAGDEO, J.; ADAMS, L.; LEV-TOV,H.; SIEMINSKA, J.; MICHL, J.; BRODY, N. Dose-dependent antioxidant function of resveratrol demonstrated via modulation of reactive oxygen species in normal human skin fibroblasts in vitro. **Journal of Drugs in dermatology**, v. 9, p. 1523-1526, 2010.

JANG, M.; CAI, L.; UDEANI, G. O.; SLOWING, K. V.; THOMAS, C. F.; BEECHER, C. W.; FONG, H. H.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; MOON, R. C.; PEZZUTO, J. M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**, v. 275, p. 218– 220, 1997.

JUNG, H. J; HWANG, I. A; SUNG, W. S; KANG, H; KANG, B. S; SEU, Y. B; LEE, D. G. Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi. **Arch Pharmacol Res** 28: 557-560, 2005.

KALLITHRAKA, S; ARVANITOVANNIS, I; EI-ZAJOULI, A; KEFALAS, P. The application of an improved method for transresveratrol to determine the origin of Greek red wines. **Food Chem** 75: 355-363, 2001.

KHATIB S, NERYA O, MUSA R, SHMUEL M, TAMIR S, VAYAS J. Chalcones as potent tyrosinase inhibitor: The importance of a 2,4 – substituted resorcinol moiety. **Boorg Med Chem**. 2005 jan 17; 13(2): 433 – 41.

KOVACIC, P.; SOMANATHAN, R. Multifaceted approach to resveratrol bioactivity: Focus on antioxidant action, cell signaling and safety. **Oxidative medicine and cellular Longevity**, v. 3, p. 86-100, 2010.

KIM, Y.M. et al. Oxyresveratrol and Hydroxystilbene Compounds Inhibitory Effect on Tyrosinase and Mechanism of Action. **The Journal of Biological Chemistry**, s.l., v. 277, n.18, p. 16340–16344, mai. 2002.

LANÇON, A.; FRAZZI, R.; LATRUFFE, N. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-angiogenic properties of resveratrol in ocular diseases. **Molecules**. Vol. 21. Num. 3. p. 304. 2016.

LANGCAKE, P.; PRYCE, R.J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. **Physiological Plant Pathology**. Vol. 9. Num. 1. p. 77-86. 1976.

LEAL, J. B.; CARVALHO, F. O.; GONÇALVES, D. C.; LEAL, J. B.; SILVA, G. C. L.; CARNEVALI JÚNIOR, L. C.; HOEFEL, A. L. Resveratrol: Composição Química e

seus Benefícios à Saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**. Vol. 11. Nº.67. p. 620-629. 2017.

LIU C.; WANG J.; WU, B.; LIU W.; FAN, P.; LIANG Z; LI, S. Resveratrols in Vitis berry skins and leaves: Their extraction and analysis by HPLC, **Journal food chemistry**, China, 2012.

LIU Q; KIM C; JO Y. H; KIM S. B; HWANG B. Y; LEE M. K. Synthesis and Biological Evaluation of Resveratrol Derivatives as Melanogenesis Inhibitors. **Molecules**, sep 17;20(9): 16933-45. 2015.

MAGALHÃES, W. V. **Avaliação da atividade moduladora da expressão de proteínas de estresse de extrato de Anadenanthera colubrina**, Pfaffia pani. 2012.

MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A. Sistema de Produção de Uvas Rústicas para Processamento em Regiões Tropicais do Brasil. **Embrapa Uva e Vinho**, 2005.

MARQUES L. G. **Liofilização de frutas tropicais**, São Carlos, 2008, 255 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal de São Carlos.

METTA, I. K.; AYROSA, A. M. I. B.; PALETTA, F. C. **O papel da liofilização na conservação de alimentos pelo controle de qualidade**. 2012.

MEYER, A. S.; YI, O. S.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A.; L; FRANKEL, E. N. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). **Journal of Agricultural and food chemistry**. v. 45, p.1638, 1997.

MIOT, L.D.B.; MIOT, H.A.; SILVA, M.G.; MARQUES, M.E.A. Fisiopatologia do melasma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, n.6, p.623-635, 2009.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F. et al. Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.25-31, 2005.

MULERO, J.; ABELLÁN, J.; ZAFRILLA, P.; AMORES, D.; HERNÁNDEZ SÁNCHEZ, P. Bioactive substances with preventive effect in cardiovascular diseases. **Nutr Hosp.** Vol. 32. Num. 4. p. 1462-1467. 2015.

NDIAYE, M. et al. The Grape Antioxidant Resveratrol for Skin Disorders: Promise, Prospects, and Challenges. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, s.l., v.15; 508(2), p.164–170, abr.2011.

OKOMBI S.; RIVAL D.; BONNET S.; MARIOTTE A. M. ; PERRIERB E.; BOUMENDJEL A. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.16, n. 8, p. 2252-2255, 2006.

OLIVEIRA E. A. B. **Avaliação de Método Alternativo para Extração e Fracionamento de Substâncias Húmicas em Fertilizantes Orgânicos**, 2011 48 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agronômico de Campinas, 2011.

OLIVEIRA, W. P.; CORREA, L. C.; BARROS, P. A.; RIBEIRO T. P.; SILVA, D. J.; LIMA, M. A. C. de; MIRANDA, M. S.; BIASOTO, A. C. T. Caracterização de subprodutos da vinificação (borra e engaço) com relação ao teor de antocianinas, fenólicos totais e atividade antioxidante. In: ENCONTRO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 19.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 5., 2015, Natal. **Desafios analíticos e segurança aliementar**. Natal: LACEN-RN: SESAP: UFRN, 2105. Disponível em: <
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/135325/1/bIASOTO-1.pdf>>.
 Acesso em: 29 de nov. 2019.

PARK, J.; BOO, Y.C. Isolation of Resveratrol from Vitis Viniferae Caulis and Its Potent Inhibition of Human Tyrosinase. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, s.l., v. 2013, p. 1-11, 2013.

PEREDO-ESCÁRCEGA, A.E.; GUARNER-LANS, V.; PÉREZ-TORRES, I.; ORTEGA-OCAMPO, S.; CARREÓN TORRES, E.; CASTREJÓN-TELLEZ, V.; DIAZ-

DIAZ, E.; PEREIRA JÚNIOR, E.S.; MEDEIROS, N.S.; DANI, C.; FUNCHAL, C. Suco de uva: fonte de compostos bioativos com benefício à saúde. **Nutrição Brasil**. Vol. 12. Num. 3. 2013.

PERETTI, S. C. et al. Resveratrol para cosméticos no clareamento de pele. Interface-Saúde, **Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v 10, n. 1, 2015.

PIESZKA, M.; SZCZUREK, P.; ROPKA-MOLIK, K., OCZKOWICZ, M.; PIESZKA, M. Rola resweratrolu w regulacji metabolizmu komórkowego. **Postepy Hig Med Dosw (online)**. Vol. 70. p. 1117-1123. 2016.

PINELO, M., ARNOUS, A., MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 11, p. 579-590, 2006.

PORTO, C. D.; DECORTI, D.; NATOLINO, A. Water and ethanol as co-solvent in supercritical fluid extraction of proanthocyanidins from grape marc: A comparison and a proposal. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.87, p.1-8, marc. 2014.

PRADO, A.K.M.; CAETANO, M.H.; BENEDETTI, R.; BENEDETTI, P.D.C.D. Os efeitos do consumo de vinho na saúde humana. **Revista Científica Unilago**. Vol. 1. Num. 1. p. 109-128. 2013.

REAGAN-SHAW, S.; MUKHTAR, H.; AHMAD, N. Resveratrol imparts photoprotection of normal cells and enhances the efficacy of radiation therapy in cancer cells. *Photochem. Photobiol.*, v. 84, v. 2, p. 415–421, 2008

RIZZON LA, MENEGUZZO J. Suco de uva. Bento Gonçalves (RS): **Embrapa Uva e Vinho**; 2007. 45 p.

RIMANDO AM1, KALT W, MAGEE JB, DEWEY J, BALLINGTON JR. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in Vaccinium berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4713-4719, 2004

RUBIO-RUIZ, M. E. The combination of resveratrol and quercetin attenuates metabolic syndrome in rats by modifying the serum fatty acid composition and by upregulating SIRT 1 and SIRT 2 expression in white adipose tissue. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2015.

RUIVO, J.; FRANCISCO, C.; OLIVEIRA, R.; FIGUEIRAS, A. The main potentialities of resveratrol for drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol. 51. Num. 3. p. 499-513. 2015.

SATOOKA, H.; KUBO, I. Resveratrol as a k_{cat} type inhibitor for tyrosinase: Potentiated melanogenesis inhibitor. **Bioorgan Med Chem**, v.20, p.1090-1099, 2012.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 2003.

SAUTTER, C. K. et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Cienc. Tecnol. Aliment**. v. 25, nº3. 2005.

SCHIEBER, A., STINTZING, F. C., CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-41, 2001.

SEFERIN, M.; SOUTO, A. A.; CARNEIRO, M. C.; SENNA, M. J. H.; CONZ, A.; GOBBI, K. Determinação de trans-resveratrol em vinhos gaúchos por HPLC. In: **Salão de iniciação científica**, 2000, Porto Alegre, RS.

SELANI, M. M. **Extrato de bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SHIMA, N. N. S. Hashim; LACHLAN J. S.; REINHARD I. B.; YUANZHONG Y. B. I. D.; HEARN M. T. W. Hearn: Rapid solid-phase extraction and analysis of resveratrol

and other polyphenols in red wine. **Journal of Chromatography A**. Australia, 28 June 2013.

SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. **Millenium - Revista do Instituto Politécnico de Viseu**, n. 28, p. 123-133, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: editora UFRGS, 1104p. 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análises instrumental**. 5ª. Ed.. Porto Alegre: Editora Bookman, 836 p., 2002.

SUGUMARAN, M. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. **Pigment Cell Research**.v.15, p.2–9, 2002.

SUN, B; RIBES, A. M; LEANDRO, M. C; BELCHIOR, A.P; SPRANGER, M. I. Stilbenes quantitative extraction from grape skins contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. **Anal Chim Acta** 563(1-2): 382-390, 2006.

TERRONI, H. C.; JESUS M.; MARTUZO, L. T.; VENTURA L. V.; SANTOS R. F. BEBEDETTI, P. C. D. Liofilização. UNILAGO, PP. 271-284, 2014.

TIMMERS S, KONINGS E, BILET L, HOUTKOOPE RH, VAN DE WEIJER T, GOOSSENS GH, et al. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. **Cell Metab** 2011.

TORRES, J. L., VARELA, B., GARCIA, M. T., CARILLA, J., MATITO, C., CENTELLES, J. J., CASCANTE, M., SORT, X., BOBET, R. Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) byproducts: Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7548-7555. 2002.

VICTOR, F.C.;GELBER, J.;RAO, B.. Melasma: a review. Journal of Cutaneous Medicine and Surgery.v.8, p.97–102, 2004.

WANG K.; LIN R.; HSUD F.; HUANGE Y.; HANGF H.; HUANGD C.; LEE M. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 106, n. 3, p. 353-359, 2006.

XIA, E. et al. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. Int. J. **Mol. Sci.**, v.11, p.622-646, 2010

YANG, L.; ZHANG, Y.; ZHU, M.; ZHANG, Q.; WANG, X.; WANG, Y.; LIU, F. Resveratrol attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through up-regulation of vascular endothelial growth factor B. **Free Radical Biology and Medicine**. Vol. 101. p. 1-9. 2016

YANAGIHARA, M. et al. Inhibitory Effect of Gnetin C, a Resveratrol Dimer from Melinjo (Gnetum gnemon), on Tyrosinase Activity and Melanin Biosynthesis. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, s.l., v. 35(6), p. 993–996, 2012.

NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA

Diretrizes para Autores

APRESENTAÇÃO

A FAG JOURNAL OF HEALTH (FJH), ISSN 2674-550X, disponível no site <http://fjh.fag.edu.br>, é um periódico especializado, direcionado à comunidade Científica Nacional e Internacional, de acesso aberto, gratuito e trimestral, destinado à divulgação da produção científica no campo das Ciências da Saúde. São aceitos artigos originais e inéditos, destinados exclusivamente à FJH, que contribuam para o crescimento e desenvolvimento da produção científica da área da Saúde e Áreas afins.

CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO PARA FAG JOURNAL OF HEALTH (FJH)

Como parte do processo de submissão os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".
- Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB)
- O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em **Diretrizes para Autores**, na seção Sobre a Revista.
- O trabalho apresentado possui resumo contendo no máximo 200 palavras e apresenta-se nas versões: Português e inglês. Com estrutura preconizada nas Diretrizes para Autores.
- O manuscrito está escrito com letra tipo Arial, tamanho 12, com espaçamento 1,5 cm entre linhas em todo o texto;
- A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista,

caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis Assegurando a Avaliação por Pares Cega. No final do arquivo está incluída uma lista com indicação dos avaliadores (Mínimo 5).

- Todas as informações prestadas pelo autor estão condizentes com o manuscrito que será anexado. No caso de detecção de informações inverídicas o artigo será recusado em primeira análise.

DIRETRIZES PARA AUTORES

INFORMAÇÕES GERAIS

O autor principal do artigo deve obrigatoriamente ter registro ORCID - mais informações em <https://orcid.org/>

A análise dos artigos será iniciada no ato de seu recebimento, quando da observância do atendimento das normas editoriais, originalidade e relevância científica. A publicação dependerá do atendimento do parecer encaminhado ao autor da análise do artigo, podendo este conter sugestões para alterações/complementações. Em caso de reformulação, cabe a Comissão de Editoração o acompanhamento das alterações. A apreciação do conteúdo dos manuscritos é feita pelos membros do Conselho Editorial e por conselheiros *ad hoc*, sendo mantido sigilo quanto à identidade dos mesmos e dos autores. Os trabalhos deverão ser submetidos exclusivamente pelo site <http://fjh.fag.edu.br/index.php/fjh/submission/wizard>.

Durante a Submissão o Autor deverá encaminhar:

A) ARQUIVO PRINCIPAL

O arquivo principal submetido para a revista deve ser dividido em duas partes, a folha de rosto e o Manuscrito:

- Folha de rosto: Deve ser a primeira página do arquivo. Para compor a folha de rosto, colocar o título do trabalho, seguido das identificações dos autores e

coautores, com seus respectivos endereços institucionais e endereço de correio eletrônico. Identificar também o autor-correspondente.

- **Manuscrito:** Deve ser inserido na pagina seguinte à folha de rosto. O manuscrito deve conter a categoria do artigo, seguido do título (em português e inglês), resumo, abstract e demais elementos textuais, conforme será descrito mais adiante.

B) DOCUMENTOS SUPLEMENTARES

Os documentos suplementares que devem ser anexados no momento da submissão são:

1) Documento Suplementar 1: Carta ao Editor, informando os objetivos dos autores, bem como a contribuição científica que o manuscrito trará se for publicado.

2) Documento Suplementar 2: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética para as pesquisas que envolvem seres humanos e/ou animais. No corpo do trabalho explicitar o atendimento das regras da Resolução CNS 466/12, indicando número de aprovação emitido por Comitê de Ética, devidamente reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

3) Documento Suplementar 3: Termo de responsabilidade de autoria e acordo de transferência do copyright, indicando a categoria do artigo, segundo as definições explicitadas nestas normas, responsabilizando os autores quanto a existência de plágio e autorizando a publicação pela FJH. Este documento deve estar assinado por todos os autores, detalhando a participação de cada um na autoria do manuscrito.

INSTRUÇÕES PARA O PREPARO E ENVIO DOS MANUSCRITOS A FJH

Categoria dos artigos

A FJH publica, preferencialmente, artigos originais, incluindo na sua linha editorial também estudos cienciométricos (artigos de revisão sistemática, Meta-análise), comunicações breves e relato de casos e relato de experiência. Artigos de

revisões narrativas só serão aceitas quando as mesmas forem de autoria de editores da Revista ou de pesquisadores convidados pela Equipe Editorial. A apresentação dos manuscritos deve obedecer à regra de formatação definida nessas normas, diferenciando-se apenas pelo número permitido de páginas em cada uma das categorias.

- **Artigos Originais:** são trabalhos resultantes de pesquisa original, de natureza quantitativa ou qualitativa. Sua estrutura deve apresentar necessariamente os itens: Introdução, Metodologia, Resultados e Discussão e Conclusão. A hipótese de pesquisa, bem como os objetivos devem ser facilmente identificados no final da Introdução. Apresentação máxima de 15 laudas.
- **Artigos de Estudos Cienciométricos:** são contribuições que têm por objeto a análise sistematizada da literatura. Deve incluir Introdução, delimitação do problema, procedimentos metodológicos, resultados e discussão (desenvolvimento) e conclusões/ Considerações Finais. Apresentação máxima de 20 laudas.
- **Relatos de Experiência:** se caracterizam pela descrição de tecnologias em saúde desenvolvidas de forma a contribuir para o desenvolvimento do Sistema de Saúde. Deve incluir Introdução, metodologia, resultados e discussão (desenvolvimento) e Considerações Finais. Apresentação em até 10 laudas.
- **Relatos de caso:** se caracterizam por relatos de caso de conteúdo inédito ou relevante, devendo estar amparada em referencial teórico que dê subsídios a sua análise. Deve incluir Introdução, relato e discussão do caso, e conclusões. Apresentação em até 10 laudas.
- **Comunicações breves:** se caracterizam pela apresentação de notas prévias de pesquisa inédito ou relevante. Apresentação em até 5 laudas.

Forma de apresentação dos manuscritos

Os trabalhos deverão ser apresentados em formato compatível ao Microsoft Word (.doc), digitados para papel tamanho A4, com letra tipo ARIAL, tamanho 12,

com espaçamento 1,5 cm entre linhas em todo o texto, margens 2,5 cm (superior, inferior, esquerda e direita), parágrafos alinhados em 1,0 cm.

Autores: a identificação deve ser feita somente na FOLHA DE ROSTO, conforme indicado anteriormente. Devem ser apresentadas as seguintes informações: nome(s) completo(s) do(s) autor(es), formação universitária, titulação, atuação profissional, local de trabalho ou estudo, e-mail, de preferência institucional e ORCID.

Título: Letra tipo Arial, justificado, em caixa alta, tamanho 16, negrito, nas versões da língua portuguesa e inglesa, na primeira página do MANUSCRITO. O título em inglês deve vir logo após ao título em português, este deve estar no formato justificado, caixa alta, em itálico, tamanho 14, letra tipo Arial. Não utilizar abreviações no título e resumo.

Resumo e descritores: devem ser apresentados na primeira página do trabalho em português e inglês, digitados em espaço simples, com até 200 palavras. A sequência de apresentação dos resumos deve seguir a seguinte ordem: resumo em português e inglês, independente da língua utilizada para o desenvolvimento do manuscrito. Os resumos devem contemplar os seguintes itens: contextualização, objetivo, materiais e métodos, resultados, conclusões. Ao final do resumo devem ser apontados de 3 a 5 descritores que servirão para indexação dos trabalhos. Para tanto os autores devem utilizar os “Descritores em Ciências da Saúde” da Biblioteca Virtual em Saúde (<http://www.bireme.br/> ou <http://decs.bvs.br/>). Os descritores não poderão estar presentes no título.

Estrutura do Texto: a estrutura do texto deverá obedecer às orientações de cada categoria de trabalho já descrita anteriormente, acrescida das referências bibliográficas e agradecimentos (quando houver). Matérias-primas, equipamentos especializados e programas de computador utilizados deverão ter sua origem (marca, modelo, cidade, país) especificada. As unidades de medida devem estar de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI) e as temperaturas devem ser descritas em graus Celcius. Os anexos (quando houver) devem ser apresentados ao final do texto.

Tabelas e figuras: devem ser inseridas ao longo do texto e apresentar informações mínimas (título e legenda) pertinentes. Os títulos das tabelas devem estar posicionados acima e as legendas abaixo da mesma. Os títulos das figuras devem estar posicionados abaixo das mesmas. As tabelas e figuras, bem como, seus títulos, devem estar centralizados e sem recuo, tamanho 9, fonte Arial. O tamanho máximo permitido é de uma folha A4. Cada tabela e/ou figura deve estar em uma única página e as páginas separadas por “quebra de página”. As notas de rodapé: devem ser apresentadas quando forem absolutamente indispensáveis, indicadas por números e constar na mesma página a que se refere.

Citações: Para citações “ipsis literis” de referências bibliográficas deve-se usar aspas na sequência do texto. As citações de falas/depoimentos dos sujeitos da pesquisa deverão ser apresentadas em itálico, em letra tamanho 10, na sequência do texto.

As citações bibliográficas inseridas no texto devem ser indicadas pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor (es) em letra maiúscula, seguido(s) pelo ano da publicação (ex.: SILVA et al, 2005), sendo que:

- Artigos com até três autores, citam-se os três sobrenomes;
- Artigos com mais de três autores, cita-se o sobrenome do primeiro autor, seguido da expressão “et al.”;
- Se o nome do autor não é conhecido, cita-se a primeira palavra do título.

Referências bibliográficas: Toda a literatura citada no texto deverá ser listada em ordem alfabética. Artigos em preparação ou submetidos a avaliação não devem ser incluídos nas referências. A formatação das referências deve seguir o padrão estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) em “Regras Gerais de Apresentação” - NBR-6023, de agosto, 2002. **Exemplos de referências:**

Prefira referências com DOI pois há a necessidade da inclusão do DOI no final de cada referência

- **Livros:** BACCAN, N.; ALEIXO, L. M.; STEIN, E.; GODINHO, O. E. **S. Introdução à semimicroanálise qualitativa**, 6ª. edição. Campinas: EDUCAMP, 1995.
- **Capítulos de livro:** SGARBIERI, V. C. Composição e valor nutritivo do feijão *Phaseolus vulgaris* L. In: BULISANI, E. A (Ed.) **Feijão: fatores de produção e qualidade**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 5, p. 257-326.
- **Artigo de periódico:** KINTER, P. K.; van BUREN, J. P. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method. **Journal Food Science**, v. 47, n. 3, p. 756-764, 1982. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12708.x>
- **Artigos apresentados em encontros científicos:** JENSEN, G. K.; STAPELFELDT, H. Incorporation of whey proteins in cheese. Including the use of ultrafiltration. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Factors Affecting the Yield of Cheese**. 1993, Brussels: International Dairy Federation Special Issue, n. 9301, chap. 9, p. 88-105.
- **Tese e Dissertação:** CAMPOS, A C. **Efeito do uso combinado de ácido láctico com diferentes proporções de fermento láctico mesófilo no rendimento, proteólise, qualidade microbiológica e propriedades mecânicas do queijo minas frescal**. Campinas, 2000, 80p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- **Trabalhos em meio-eletrônico:** SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: _____. **Entendendo o meio ambiente**. São Paulo, 1999. v. 1. Disponível em: <<http://www.bdt.org.br/sma/entendendo/atual.htm>>. Acesso em: 8 mar. 1999.
- **Legislação:** BRASIL. Portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. Regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 set. 1997, Seção 1, n. 182, p. 21005-21011.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".
2. O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
3. Informar DOI ao final de cada referência, no mínimo 75% das referências.
4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto, não no final do documento na forma de anexos.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na página Sobre a Revista.
6. Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em Assegurando a avaliação pelos pares cega foram seguidas.

Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTURAL

Termo de responsabilidade de autoria e acordo de transferência do copyright, indicando a categoria do artigo, segundo as definições explicitadas nestas normas, responsabilizando os autores quanto a existência de plágio e autorizando a FAG JOURNAL OF HEALTH sua publicação, devem estar assinados por todos os autores e anexado ao sistema como documento suplementar no momento de submissão do manuscrito. Os direitos autorais da versão final do artigo são de propriedade da FJH. O conteúdo da Revista ficará disponível para toda a comunidade científica.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.