



## Estudo do potencial antioxidante do bagaço de uva utilizando técnica de fracionamento líquido-líquido

Mariéli Karling<sup>1</sup> Nathalie Merlin<sup>2</sup> Davi Costa Silva<sup>3</sup>  
Tatiane Luiza Cadorin Oldoni<sup>4</sup>

19 junho 2017

Resumo – As uvas, seus derivados e coprodutos - como bagaço, engaço e sementes de uva - são considerados fontes de compostos fenólicos, que por sua vez, representam uma classe de compostos bioativos com potencial antioxidante. A valorização dos resíduos pode representar ganhos econômicos significativos para produtores, tornando-se matérias-primas para outras atividades e oferecendo uma nova possibilidade de aproveitamento e renda. No entanto, para extrair de maneira eficiente compostos bioativos a partir de diferentes matrizes várias técnicas têm sido empregadas, pois muitos fatores influenciam o processo de extração, principalmente a polaridade dos solventes utilizados. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi obter frações com elevado teor de compostos fenólicos e ativos em atividade antioxidante a partir do extrato hidroalcoólico do bagaço de uva, utilizando solventes com diferentes polaridades. Foram obtidas um total de 4 frações, a partir dos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol. A fração que apresentou o maior teor de compostos fenólicos (380,22 mg EAG g<sup>-1</sup> de amostra seca) e atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (2101,28 μmol trolox g<sup>-1</sup> amostra seca) foi a fração obtida com o solvente acetato de etila. As demais frações também apresentaram elevado potencial antioxidante, o que indica que esses resultados são promissores, pois, existem poucos estudos na literatura em que se utiliza a técnica de fracionamento líquido-líquido para o isolamento bioguiado de compostos a partir do bagaço de uva, o que ressalta a importância deste estudo.

Palavras-chave: bioatividade. compostos fenólicos. extração. partição.

### 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por alimentos naturais que propiciem uma qualidade melhorada de vida está crescendo e, em consequência disso existe também um aumento nas pesquisas desenvolvidas para o estudo de compostos bioativos, os quais se encontram

presentes em alimentos naturais (SAUTTER et al., 2005; MELO et al., 2011). A partir disso, compostos com potencial antioxidante, como os compostos fenólicos, receberam destaque por apresentarem capacidade de inativar as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO e ERN) e sequestrar os radicais livres, que são responsáveis por diversos danos à

<sup>1</sup> [marielikarling10@gmail.com](mailto:marielikarling10@gmail.com), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>2</sup> [nathi.merlin@gmail.com](mailto:nathi.merlin@gmail.com), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>3</sup> [davisilva@utfpr.edu.br](mailto:davisilva@utfpr.edu.br), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>4</sup> [tatiianeoldoni@utfpr.edu.br](mailto:tatiianeoldoni@utfpr.edu.br), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.



saúde (SANG et al., 2009; KARACABEY E MAZZA, 2010). Ainda, pesquisas demonstram que o consumo diário de compostos com potencial antioxidante é capaz de proteger o organismo contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem, estando relacionados com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo, os quais podem desencadear inúmeros malefícios, incluindo diversas doenças (MELO et al., 2008). Estudos comprovaram que existe uma correlação direta entre o consumo de alimentos naturais e a diminuição no risco de doenças crônicas. Esta correlação se dá principalmente pela combinação de vitaminas, minerais, compostos fenólicos, antioxidantes e fibras (MELO et al., 2011). Para Karacabey e Mazza (2010) os antioxidantes alimentares desempenham um papel importante no sistema de defesa do organismo contra as ERO e ERN.

As uvas, seus derivados e coprodutos - como bagaço, engaço e semente de uva - são considerados fonte de compostos fenólicos, que por sua vez, são fontes importantes de antioxidantes (SOARES et al., 2008; KARACABEY E MAZZA, 2010; RANA et al., 2015; TOURNOUR et al., 2015; LEYVA-CORRAL et al., 2016). Os coprodutos ou resíduos podem representar ganhos econômicos significativos para produtores, tornando-se matérias-primas para outras atividades, oferecendo uma nova possibilidade de aproveitamento, como por exemplo, serem utilizados como ingredientes para alimentos funcionais, atuando como antioxidantes e antimicrobianos naturais, prolongando prazos de validade do alimento pela inibição da oxidação, além de incrementar cor, sabor e aroma. Podem ser utilizados como suplementos pela indústria farmacêutica e ainda prevenir ou diminuir os problemas e impactos ambientais causados pela acumulação e descarte destes produtos, mas principalmente serem utilizados em prol da saúde (DOMÍNGUEZ-PERLES et al., 2014; MACAGNAN et al., 2015). Atualmente seu uso está limitado apenas à produção de álcool por meio da fermentação e para a fabricação de rações para animais, ou ainda na maioria descartados na natureza sem nenhuma

utilização.

Todavia, extrair compostos bioativos a partir de diferentes matrizes muitas técnicas vem sendo empregadas e estudadas (GHAFOR et al., 2010), pois existem inúmeras classes e diferentes compostos que precisam de condições específicas para serem totalmente extraídos sem haja a degradação dos mesmos. Entretanto, muitos fatores podem estar relacionados com a extração dos compostos, destacando: tipos de solvente, tempo de extração, temperatura, pH, proporção sólido-líquido, solubilidade e tamanho das partículas. Para Freire et al. (2013) e Angelo e Jorge (2007) a polaridade do solvente é o fator que mais influencia a extração dos compostos, pois estes apresentam polaridades muito diferenciadas. Ainda, Melo et al. (2008) destaca não existe um determinado solvente universal que consiga realizar uma máxima extração, em função da complexidade de cada amostra. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi obter frações ricas em compostos fenólicos e atividade antioxidante (AA) a partir do extrato etanólico do bagaço de uva (EEBU), utilizando a técnica de fracionamento líquido-líquido com solventes de diferentes polaridades e após a obtenção das frações, testá-las quanto à atividade antioxidante, o que caracteriza o estudo bioguiado.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e preparo da amostra

O bagaço de uva (espécie *Vitis labrusca* – cultivar bordô), proveniente do processamento de vinho tinto, foi obtido em uma vinícola no ano de 2014, localizada na cidade de Mariópolis, Paraná, Brasil. Após a coleta, a amostra foi liofilizada, triturada em moinho de facas e armazenada no freezer até o momento da extração.

### 2.2 Extração

O extrato etanólico do bagaço de uva (EEBU) foi preparado em uma concentração de 8 g L<sup>-1</sup>, utilizando uma mistura de etanol:água como solvente extrator



na concentração de 50:50 (v/v) e em seguida acondicionado em banho-maria com temperatura e tempo controlados (50 °C por 45 minutos), condição definida em estudos preliminares (dados não mostrados). Na sequência, o extrato foi resfriado até temperatura ambiente e filtrado com auxílio de pressão reduzida.

### 2.3 Fracionamento líquido-líquido

A partir do EEBU produzido conforme item 2.2, foi realizado fracionamento a partir da técnica de partição líquido-líquido com solventes de polaridades distintas na ordem crescente de polaridade, utilizando funil de separação: hexano (F-HEX), diclorometano (F-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e acetato de etila (F-ACETATO). A fração restante foi denominada de fração etanólica (F-EtOH). Em seguida, o extrato e as frações foram evaporados em evaporador rotativo com temperatura controlada de 40 °C e pressão reduzida e na sequência liofilizados.

### 2.4 Preparo das soluções para realização das análises

A partir do extrato e frações concentradas, as amostras foram pesadas, solubilizadas e diluídas em concentrações específicas para a realização das análises seguintes (itens 2.5 e 2.6).

### 2.5 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada utilizando o método de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999). As frações F-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, F-EtOH e EEBU foram preparadas na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> e a F-ACETATO na concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> para a realização da análise. A F-HEX não foi analisada em função da insolubilidade no meio reacional que é aquoso. A curva analítica foi construída na faixa de concentração de 5 a 100 mg L<sup>-1</sup> utilizando ácido gálico como padrão de referência. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente ácido gálico por grama de amostra seca

(mg EAG g<sup>-1</sup>).

### 2.6 Avaliação da Atividade Antioxidante por DPPH ■

A medida do potencial sequestrante do radical livre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hidratado (DPPH) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). Para a realização da análise, as frações F-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, F-EtOH e o EEBU foram preparados na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>, a F-HEX e F-ACETATO 500 e 25 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. O resultado da análise foi expresso em micromol de Trolox por grama de amostra seca (µmol de Trolox g<sup>-1</sup>).

### 2.7 Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram apresentados como média ± o desvio padrão (DP) com um nível de 95% de significância. Foi realizado o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias das amostras, utilizando o software STATISTICA 8.0.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a comparação entre as médias obtidas para as frações - F-HEX, F-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, F-EtOH e F-ACETATO – e o EEBU para testar a máxima extração de compostos com bioatividade. A partir dos resultados obtidos nas análises de CFT e atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH ■, é possível concluir que para CFT todas as frações apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 1) (p<0,05). Quando a atividade antioxidante foi avaliada, com 95% de significância, apenas as frações F-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e F-EtOH não apresentaram diferenças significativas entre as médias.

Todavia, tanto para CFT quanto para atividade antioxidante, a fração que apresentou maior teor de compostos bioativos, foi a fração obtida com o solvente acetato de etila (F-ACETATO) (Tabela 1), apresentando valor médio de 380,22 mg EAG g<sup>-1</sup> para



CFT e 2101,28  $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$  para AA. O que indica que o processo de fracionamento foi eficiente, proporcionando a concentração dos compostos de interesse na fração descrita anteriormente. Para Campos (2005), isto pode estar ligado à polaridade do solvente acetato de etila que solubilizou mais compostos polares que por sua vez, possuem maior atividade antioxidante. Wu et al. (2004), estudando a atividade antioxidante de diferentes frutos, observaram que as frações mais hidrofílicas (como o etanol e acetato de etila) apresentam maior atividade antioxidante, ressaltando ainda que os compostos bioativos das frações hidrofílicas apresentam 90% mais atividade antioxidante quando comparadas à outros solventes mais hidrofóbicos como diclorometano e hexano.

**Tabela 1** – Resultados para CFT e AA pelo método de DPPH• para as amostras provenientes do fracionamento líquido-líquido

Amostras	CFT (mg EAG g <sup>-1</sup> )	DPPH• ( $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$ )
EEBU	152,9 ± 2,54 <sup>b</sup>	714,7 ± 25,09 <sup>b</sup>
F-HEX	-	19,34 ± 3,52 <sup>d</sup>
F-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	118,2 ± 2,00 <sup>c</sup>	445,9 ± 14,5 <sup>c</sup>
F-ACETATO	380,2 ± 5,82 <sup>a</sup>	2101 ± 47,9 <sup>a</sup>
F-EtOH	93,10 ± 3,22 <sup>d</sup>	452,1 ± 3,79 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas entre as amostras. Resultado expresso como média ± DP.

Contudo, a amostra que menos apresentou valores para a medida de AA pelo método de DPPH• foi a fração F-HEX, apresentando valor de 19,34  $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ . Dentre as frações testadas, a F-EtOH foi que apresentou o menor teor de CFT (93,10 mg EAG g<sup>-1</sup>). Oldoni et al. (2016) também utilizaram fracionamento líquido-líquido para concentrar os compostos de interesse a partir de película de amendoim. Para isso utilizaram solventes com diferentes polaridades e a fração que apresentou maior bioatividade foi aquela produzida utilizando o solvente metanol, o que indica que o processo de fracionamento bioguiado apresenta-se como

ferramenta eficaz para isolamento de compostos com atividade antioxidante.

O extrato bruto e frações avaliadas neste trabalho apresentaram teores elevados de compostos fenólicos e atividade antioxidante, o que indica que este bagaço é promissor. Vale ressaltar que não foram encontrados estudos na literatura que utilizem a técnica de fracionamento líquido-líquido para o bagaço de uva, dessa forma, novamente resalta-se a importância deste estudo.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados nesta pesquisa são de suma importância para as indústrias alimentícias e farmacêuticas, pois podem estimular a utilização dos compostos do bagaço de uva como antioxidantes naturais. O desenvolvimento do fracionamento líquido-líquido bioguiado do bagaço de uva proporcionou que os compostos fenólicos e atividade antioxidante ficassem concentrados na fração acetato de etila (F-ACETATO). No entanto, não foram relatados estudos na literatura utilizando a técnica de fracionamento para a matriz estudada, dessa forma, julga-se importante a realização deste trabalho.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo 476635/2013-6) pelo auxílio financeiro e CAPES pela bolsa de Mestrado concedida à autora, bem como a Central de Análises pelo espaço e equipamentos cedidos para a realização das análises, e ainda o Programa de Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos (PPGTP) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pelo apoio.

#### REFERÊNCIAS

ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 66, p. 1–9, 2007.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVÉLIER, Marie-Elisabeth; BERSET, Claudette. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food science and Technology*, London, v. 28, p. 25–30, 1995.



- CAMPOS, Luanda Maria Abreu Silva de. **Obtenção de extratos de bagaço de uva cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*):** parâmetros de processo e modelagem matemática. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- DOMÍNGUEZ-PERLES, Raúl; TEIXEIRA, Ana; ROSA, Eduardo; BARROS, Ana. Assessment of (poly)phenols in grape (*Vitis vinifera* L.) stems by using food/pharma industry compatible solvents and Response Surface Methodology. **Food Chemistry, Barking**, v. 164, p. 339–346, 2014.
- FREIRE, Juliana Mesquita; ABREU, Celeste Maria Patto de; ROCHA, Denise Alvarenga; CORRÊA, Angelita Duarte; MARQUES, Natalia Rodrigues. Quantificação de composto fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 2291–2296, 2013.
- GHAFOOR, Kashif; PARK, Jiyong; CHOI, Yong-Hee. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 485–490, 2010.
- KARACABEY, Erkan; MAZZA, Giuseppe. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology. **Food Chemistry, Barking**, v. 119, p. 343–348, 2010.
- LEYVA-CORRAL, Julieta; QUINTERO-RAMOS, Armando; CAMACHO-DÁVILA, Alejandro; ZAZUETA-MORALES, José de Jesús; AGUILAR-PALAZUELOS, Ernesto; RUIZ-GUTIÉRREZ, Martha Graciela; MELÉNDEZ-PIZARRO, Carmen Oralia; RUIZ-ANCHONDO, Teresita de Jesus. Polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace in an extruded cereal. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 65, p. 228–236, 2016.
- MACAGNAN, Fernanda Teixeira; SANTOS, Luccielli Rodrigues dos; ROBERTO, Bruna Sampaio; MOURA, Fernanda Aline de; BIZZANI, Marília; SILVA, Leila Picolli da. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, Netherlands, v. 6, p. 1–6, 2015.
- MELO, Enayde de Almeida; MACIEL, Maria Inês Sucupira; LIMA, Vera Lúcia Arroxelas Galvão de; NASCIMENTO, Rosilda Josefa do. Capacidade antioxidante das frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, p. 195–201, 2008.
- MELO, Priscilla Siqueira; BERGAMASCHI, Keityane Boone; TIVERON, Ana Paula; MASSARIOLI, Adna Prado; OLDONI, Tatiane Luiza Cadorin; ZANUS, Mauro Celso; PEREIRA, Giuliano Elias; ALENCAR, Severino Matias de. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 1088–1093, 2011.
- OLDONI, Tatiane Luiza Cadorin; MELO, Priscilla Siqueira; MASSARIOLI, Adna Prado; MORENO, Ivani Aparecida Marcheto; BEZERRA, Rosângela Maria Neves; ROSALEN, Pedro Luiz; SILVA, Gil Valdo José da; NASCIMENTO, Andrea; ALENCAR, Severino Matias de. Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. **Food Chemistry, Barking**, v. 192, p. 306–312, 2016.
- RANA, Shalika; GUPTA, Sakshi; RANA, Ajay; BHUSHAN, Shashi. Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. **Food Science and Human Wellness**, Beijing, v. 4, p. 180–187, 2015.
- SANG, Shengmin; YANG, III; BUCKLEY, Brian; HO, Chi-Tang; YANG, Chung. Autoxidative quinone formation in vitro and metabolite and formation in vivo from tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate: studied by real-time mass spectrometry combined with tandem mass ion mapping. **Free Radical Biology and Medicine**, San Diego, v. 43, p. 362–371, 2009.
- SAUTTER, Cláudia Kaehler, DENARDIN, Sandra, ALVES, Audrei de Oliveira, MALLMANN, Carlos Augusto; PENNA, Neidi Garcia; HECKTHEUER, Luisa Helena Rychecki. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 437–442, 2005.
- SINGLETON, Vernon; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa Maria. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods Enzymology**, San Diego, p. 152–178, 1999.
- SOARES, Márcia; WELTER, Lucas; GONZAGA, Luciano; LIMA, Alessandro; MANCINI-FILHO, Jorge; FETT, Roseane. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 727–732, 2008.
- TOURNOUR, Hernan Horacio; SEGUNDO, Marcela Alves; MAGALHÃES, Luiz; BARREIROS, Luíza; QUEIROZ, Jorge; CUNHA, Luiz Miguel. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam/New York, v. 74, p. 397–406, 2015.
- WU, Xianli; BEECHER, Gary; HOLDEN, Joanne Merson; HAYTOWITZ, David; GEBHARDT, Susan; PRIOR, Ronald. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 4026–4037, 2004.



## Antioxidant potential of grape pomace using liquid-liquid fractionation technique

Mariéli Karling<sup>5</sup> Nathalie Merlin<sup>6</sup> Davi Costa Silva<sup>7</sup>  
Tatiane Luiza Cadorin Oldoni<sup>8</sup>

19 junho 2017

**Abstract** – The grapes, their derivatives and by-products - such as pomace, stalks and grape seeds - are considered sources of phenolics compounds, which in turn represent a class of bioactive compounds with antioxidant potential. The recovery of by-products can pose significant economic gains for producers, becoming raw materials for other activities and delivering a new possibility of use and income. However, for in an efficient manner extracting bioactive compounds from different matrices various techniques have been employed because many factors affect the extraction process, especially the polarity of the solvents used. Thus, the aim of study was to obtain fractions with high content of phenolic compounds and antioxidant activity in assets from the hydroalcoholic extract of grape pomace using solvents with different polarities. A total of 4 fractions were obtained from the solvents hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol. The fraction that had the highest phenolic content (380.22 mg GAE g<sup>-1</sup> of dry sample) and antioxidant activity for the radical-scavenging method of DPPH (2101.28 μ Trolox g<sup>-1</sup> dry sample) was obtained with the fraction the ethyl acetate solvent. The remaining fractions also showed high antioxidant potential, which indicates that these results are promising, because there are few studies that used liquid-liquid fractionation technique for bioguided isolation of compounds from grape pomace, which highlights the importance of this study.

**Keywords:** bioactivity. Extraction. Partition. phenolics compounds.

### **Correspondência:**

Mariéli Karling

Via do Conhecimento, km 1, Bairro Fraron, 85503-390, Pato Branco, Paraná, Brasil.

Recebido: 31/10/2016

Aprovado: 19/06/2017

**Como citar:** KARLING, Mariéli, et al. Estudo do potencial antioxidante do bagaço de uva utilizando técnica de fracionamento líquido-líquido. *Syn. scy. UTFPR*, Pato Branco, v. 12, n. 1, p. 88–93. 2017. ISSN 2316-4689 (Eletrônico). Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/synscy>>. Acesso em: DD mmm. AAAA.

DOI: "registro apenas quando a revista for depositada no portal do PERI"



Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença **Creative Commons** Atribuição 4.0 Internacional.

<sup>5</sup> [marielikarling10@gmail.com](mailto:marielikarling10@gmail.com), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>6</sup> [nathi.merlin@gmail.com](mailto:nathi.merlin@gmail.com), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>7</sup> [davisilva@utfpr.edu.br](mailto:davisilva@utfpr.edu.br), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.

<sup>8</sup> [tatianeoldoni@utfpr.edu.br](mailto:tatianeoldoni@utfpr.edu.br), Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Paraná, Brasil.