

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ELDINA CASTRO SOUSA

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE UVA (Vitis vinífera L.) VARIEDADE BENITAKA, CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ, PI.

ELDINA CASTRO SOUSA

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE UVA (Vitis vinífera L.) VARIEDADE BENITAKA, CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ, PI.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Rede Nordeste de Biotecnologia/Renorbio, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientador: Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca

Fortaleza

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca de Ciências e Tecnologia

S696i Sousa, Eldina Castro.

Investigação do potencial biotecnológico do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L.) variedade benitaka, cultivada no município de São João do Piauí, Pi. / Eldina Castro Sousa – 2014.

211 f.: il. color., enc.; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Doutorado em Biotecnologia, Fortaleza, 2014.

Área de Concentração: Biotecnologia Industrial. Orientação: Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca.

1. Composição físico-química. 2. Perfil lipídico. 3. Polifenóis. I. Título.

CDD 660.6

ELDINA CASTRO SOUSA

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE UVA (Vitis vinífera L.), VARIEDADE BENITAKA, CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO PIAUÍ, PI.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Rede Nordeste de Biotecnologia/Renorbio, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Aprovada em ://
BANCA EXAMINADORA
Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC/Renorbio
Prof ^a . Dr ^a . Selene Maia de Morais
Universidade Estadual do Ceará – UECE/Renorbio
Chrystadde Estaddai do Ceara CECE/Renororo
Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira
Universidade Estadual do Ceará – UECE
Universidade Estadual do Ceara – UECE
Prof. Dr. José Maria Correa da Costa
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Marcos Rodrigues Amorim Afonso Universidade Federal do Ceará – UFC

No início era apenas um sonho.

Sonhei, busquei e Deus me ajudou a concretizar; por isso, Ele é o autor desta obra e fortalecedor de minha fé.

"...Tens o dom de ver estradas

Onde eu vejo o fim

Me convences quando falas:

Não é bem assim!

Se me esqueço, me recordas

Se não sei, me ensinas.

E se perco a direção

Vens me encontrar..."

(Pe. Fábio de Melo)

Ofereço esta Tese,

Aos meus queridos e saudosos avós Raimundo Nonato e Maria Lages, pela imensurável contribuição na minha formação como pessoa; através de ensinamentos de lealdade, caridade, persistência e fé. A lembrança e eterna presença espiritual de vocês foram sentidas ao longo deste trabalho e seguirão sempre comigo, me encorajando em busca de novos sonhos e na certeza de que eles se realizarão.

Sempre haverá o compromisso de que vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim.

Agradecimento Especial,

Aos meus pais, por me apoiarem em todas as decisões e escolhas durante a minha vida.

Aos meus irmãos e amigos, pelo incentivo e confiança.

Ao Leonardo, noivo e amigo, a quem incondicionalmente amo.

Obrigada pelo companheirismo, amor, apoio sincero, compreensão, ponderação e segurança que me permitiram ter concluído este Doutorado.

À minha amiga Ana Maria, que há muito tempo já faz parte da minha família.

A você, dedico o poema "Ser Amigo", como forma de manifestar minha

gratidão e admiração.

"SER AMIGO!"

É o que faz sem perguntar.
É o que acolhe, participa e ajuda.
É o que ouve, aconselha e respeita.
É o que alerta, aplaude e critica.
É o que partilha a alegria e a dor.
É o que desconstrói construindo.
É o que discorda, não do conteúdo, mas da forma.
É ser fraterno, sem ser irmão.
É ser membro da Grande Família Universal.
É fazer mais do que falar.
É não ter dia, nem hora.
É ser o outro, sem deixar de ser você.
É não estar só.
É sonhar.
É saber esperar!

(Paulo Goulart)

Agradecimento Especial,

Ao meu Orientador e amigo, Professor Dr. José Osvaldo Beserra Carioca, pela maneira como me acolheu desde o primeiro contato para a seleção do Doutorado; pelos seus sábios conselhos, pela simplicidade e competência, por apresentar um espírito tranquilizador nos momentos de inquietações e buscas. O senhor, que, mais que meu orientador, demonstrou nas várias etapas deste trabalho, as qualidades e dimensões de um verdadeiro pesquisador, foi um amigo dedicado, incansável e solidário, em todos os momentos, revelando qualidades de um ser humano ímpar e admirável.

Agradeço,

À Professora Dr^a. Selene Maia de Morais, pela oportunidade que me concedeu de trabalhar no Laboratório de Química de Produtos Naturais. Sua sabedoria e profissionalismo foram fundamentais para a realização desta Tese e de todos os assuntos que a envolveram.

Ao Professor Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira, por sua significativa contribuição nas análises realizadas e nas correções da Tese de Qualificação e Tese final.

Aos Professores Dr. José Maria Correa da Costa e Dr. Marcos Rodrigues Amorim Afonso, pelas sugestões e críticas imprescindíveis à etapa de Qualificação e defesa de Tese.

Ao Professor Dr. Alesandro de Lima, pelo incentivo e troca de conhecimentos fundamentais desde a elaboração do projeto de seleção do doutorado até às etapas finais.

Ao analista da CODEVASF - 7° SR, Mário Augusto Mendes Guimarães, por realizar a aproximação com os moradores do Assentamento Marrecas e por permitir que as uvas fizessem parte desta pesquisa.

Ao Técnico em Laboratório Jurandy do Nascimento Silva e à Larissa Lages Rodrigues, pela contribuição nas análises iniciais.

Ao Engenheiro Agrônomo, Chefe-geral da Embrapa Agroindústria Tropical, Dr. Lucas Antônio de Sousa Leite, pela parceria imprescindível na realização de algumas análises.

Ao Analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Hilton César Rodrigues Magalhães, pela disponibilidade e gentileza em realizar as análises cromatográficas de ácidos graxos.

Ao amigo fiel de todas as horas, Pablito Augusto Travassos Ferreira, por sua contribuição nas análises, pelo apoio, amizade e incentivo.

Aos amigos Clécio Galvão Martins, Cristiane Duarte Alexandrino, Suliane Praciano Rodrigues, Ana Livya Moreira Rodrigues, Adaílson e Halisson Araújo de Sousa, pela troca de experiências, ajuda e companheirismo durante as análises realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais da UECE.

À Profa. Dra. Maria José Cajazeiras Falcão, por sua contribuição nas análises.

À amiga Luzara de Matos Ribeiro, pela paciência e valiosa contribuição nas análises cromatográficas e troca de experiências.

Aos Professores do Programa de Doutorado em Biotecnologia, da Rede Nordeste de Biotecnologia, por nos conduzir a novos conhecimentos, com dinamicidade e profissionalismo.

Aos amigos de doutorado, pela troca de experiências, companheirismo e pela oportunidade de conhecê-los.

À Elke Montenegro, pela paciência, competência e presteza em atender às minhas inúmeras solicitações.

À Dona Lúcia Carioca, pela forma como se foi fazendo presente ao longo de todo o trabalho, pela amizade, carinho, estímulo e acolhimento desde minha chegada à Fortaleza.

Aos moradores do Assentamento Marrecas, pela simpatia e disponibilidade em apresentar-me a comunidade e todas as atividades inerentes ao cultivo das uvas.

Manifesto minha gratidão a todos que colaboraram para a realização desta Tese.

Muito obrigada !!!

Agradeço,

A realização desta Tese só foi possível com o apoio das seguintes Instituições:

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI

Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba - CODEVASF

Universidade Estadual do Ceará - UECE. Laboratório de Química de Produtos Naturais - LQPN

Universidade Federal do Ceará - UFC. Parque de Desenvolvimento Tecnológico - PADETEC

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Agroindústria Tropical/CE.

Laboratório de Referência em Biocombustíveis. Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará - NUTEC.

Cooperativa Central dos Produtores de Algodão e Alimentos Ltda.- COCENTRAL

Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL. Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos - CCQA. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq/CAPES.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí - FAPEPI.

Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO.

"...É como se eu despertasse de um sonho e a vida explodisse
em meu peito com as cores que eu sonhei...
E é como se eu descobrisse que a força esteve o tempo todo em mim
E é como se então de repente eu chegasse ao fundo do fim
De volta ao começo..."

(Nana Caymmi)

APRESENTAÇÃO

Esta Tese está estruturada na forma de Capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma revisão bibliográfica sobre os principais aspectos da uva, desde a videira até o bagaço da uva, que foi nosso objeto de estudo, reunindo teorias relevantes e os trabalhos mais recentes acerca da temática da geração e valorização de subprodutos da agricultura, com destaque para os resíduos de uva e seu potencial biotecnológico. Para tanto, apresentamos uma vasta pesquisa sobre a temática radical livre, peroxidação lipídica e antioxidante; incluindo os principais métodos de avaliação da atividade antioxidante in vitro. Buscamos também apresentar os principais compostos bioativos presentes em espécies vegetais e em seus subprodutos, com destaque para os polifenóis, vitamina C e fibra dietética, incluindo seus principais métodos de identificação e quantificação. Por fim, este capítulo traz uma rápida abordagem acerca da avaliação da toxicidade em espécies vegetais. Os resultados desta pesquisa estão apresentados nos capítulos seguintes, em formato de artigos científicos. O segundo capítulo refere-se aos resultados de um estudo preliminar onde se formulou duas preparações alimentícias a partir do pó do bagaço de uva e realizou-se teste de aceitação sensorial e de intenção de compra; os quais foram formatados conforme as normas da Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. O terceiro capítulo apresenta os resultados das análises físico-química, nutricional (incluindo alguns compostos bioativos e os minerais) além de resultados de análise microbiológica e de toxicidade do pó de bagaço de uva; os quais foram publicados na Revista Food Science and Technology. O quarto capítulo apresenta os resultados sobre o perfil lipídico do bagaço de uva em pó; quantificação de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e taninos totais; atividade antioxidante in vitro; estabilidade oxidativa em óleo vegetal; além da identificação e quantificação de polifenóis em extratos do bagaço de uva; os quais foram formatados conforme as normas da Journal of Agricultural and Food Chemistry. Apêndice e anexos trazem documentos e outras informações relevantes.

RESUMO

Objetivo: Investigar o potencial biotecnológico do bagaço de uva, variedade *Benitaka*, cultivada no município de São João do Piauí, Piauí, por meio de metodologias analíticas cientificamente reconhecidas, buscando reconhecer os principais grupos de metabólitos responsáveis por atividade antioxidante. **Metodologia**: As uvas (Vitis vinifera L.), variedade Benitaka, foram resultantes da safra 2011/2012 e coletadas no Polo de Viticultura do Assentamento Marrecas, no Município de São João do Piauí/PI e posteriormente higienizadas, prensadas em despolpadeira para separação do bagaço, o qual foi submetido à desidratação, trituração, peneiramento e formação do bagaço de uva em pó. A partir do bagaço de uva em pó foram realizadas análises da composição centesimal, conteúdo de minerais, fibra dietética total, solúvel e insolúvel, determinação de Vitamina C, conteúdo de antocianinas, perfil de ácidos graxos e investigação de sua qualidade microbiológica. Foram também elaborados extratos a partir de diferentes solventes, os quais foram analisados quanto à toxicidade frente à Artemia salina sp., conteúdo de fenólicos totais, flavonóides totais e taninos totais; atividade antioxidante in vitro pelos métodos de DPPH e autooxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico; estabilidade oxidativa em óleo de soja e identificação e quantificação de polifenóis por HPLC-UV. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n=3) e utilizouse o programa estatístico SAS[®] para Análise de Variância e Teste de Tukey. Adotou-se o nível de significância de 5% (p<0,05). **Resultados**: Os resultados mostraram que no bagaço de uva em pó a quantidade de fibra dietética total (46,17g/100g) se destacou quantitativamente em relação aos carboidratos (29,2g/100g), proteínas (8,49g/100g) e lipídeos (8,16g/100g). O valor energético total encontrado foi de 224Kcal/100g. A fração fibra insolúvel (79%) foi superior à fração solúvel (21%). O conteúdo de Vitamina C foi de 26,25mg de ácido ascórbico/100g e de antocianinas, 131mg/100g. Os minerais ferro (18,08mg/100g), potássio (1,40mg/100g), zinco (0,98mg/100g), manganês (0,82mg/100g) e cálcio (0,44mg/100g) estavam presentes em maiores concentrações. A fração lipídica foi composta principalmente por ácido linoleico (89,61%) e o teor de PUFA (89,61%) >MUFA (21,37%) >SFA (18,46%). O rendimento dos extratos variou de 6,85% a 45,5%, dependendo do solvente de extração, sendo que o menor rendimento foi observado no extrato acetônico e o maior no extrato metanólico. O conteúdo de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais variaram em função do solvente de extração. Os extratos etanólico e acetônico conseguiram estabilizar o radical DPPH de forma eficiente, com valores de EC50 de 0,31 μg/mL e 0,39 μg/mL, os quais não diferiram estatisticamente dos padrões quercetina (0,22 μg/mL) e BHT (0,11 μg/mL). Em relação à avaliação da atividade antioxidante pelo método de autooxidação do sistema β-caroteno/ácido linoléico, os extratos agiram de forma similar ao antioxidante sintético BHT, com médias de EC₅₀ de 0.34 µg/mL a 0.36 µg/mL. O extrato etanólico aumentou a vida de prateleira do óleo de soja de forma similar ao BHT. O composto fenólico presente em maior concentração foi isoquercitrina (12,94 mg/100g), seguido de rutina (7,54 mg/100g), quercetina (5,4 mg/100g) e resveratrol (2,5 mg/100g). Conclusão: Os resultados mostraram que o bagaço de uva representa uma fonte potencialmente importante de nutrientes e compostos fenólicos; além de elevado potencial antioxidante, o que contribui para o seu elevado valor como um subproduto de frutos, com possibilidades de comercialização como antioxidante natural.

Palavras-chave: Bagaço de uva. Composição físico-química. Minerais. Perfil lipídico. Antocianinas. Polifenóis. Espectrofotometria. HPLC-UV. Estabilidade oxidativa.

ABSTRACT

Objective: To investigate the biotechnological potential of grape pomace from the Benitaka variety, cultivated in São João do Piauí, Piauí, through scientifically recognized analytical methodologies with the aim of recognizing the major groups of metabolites responsible for antioxidant activity. **Metodology**: Samples of grape (Vitis vinifera L.) from the Benitaka variety were collected from the Vine Complex at Marrecas settlement (2011/2012 harvest season) in the municipality of São João do Piauí, Piauí state. After harvest, the grapes were cleaned and pressed using an industrial depulper separating the pomace (skin and seeds) and pulp for the extraction of grape juice. After this extraction, the pomace was dried in an air circulation oven and was triturated. The powder was then subjected to chemical analysis for the determination of vitamin C, anthocyanins, minerals, microbiological quality, lipide profile and toxic potential. Subsequently, from the powder obtained, extractions using different solvents were performed and the extracts were subjected to toxicological analysis, total phenolics, total flavonoids, total tannins, antioxidant activity in vitro by DPPH and autoxidation system β-carotene/linoleic acid methods, oxidative stability of soybean oil and identification and quantitation of polyphenols for HPLC-UV. The results were reported as means and standard deviation (n = 3). Analysis of variance and Tukey's test were conducted to determine the differences among means, using SAS®. Statistical significance was declared at P<0.05. Results: The results showed that the powder obtained from grape pomace had an amount of total dietary fiber (46.17g/100g) which stood out quantitatively compared to the content of carbohydrate (29.2g/100 g), protein (8.49g/100g), and lipids (8.16g/100g). The total energy was 224Kcal/100g. Insoluble fiber (79%) was higher than the soluble fraction (21%). The content of vitamin C was 26.25 mg ascorbic acid/100g and anthocyanins were minerals iron (18.08 mg/100 g), potassium (1.40 mg/100 g), The (0.98mg/100g), manganese (0.82mg/100g) and calcium (0.44mg/100g) were present at higher concentrations. The lipid fraction of grape pomace was composed mainly of linoleic acid, PUFA (89.61%) >MUFA (21.37%) >SFA (18.46%). The extraction yield varied from 6.85% to 45.5%, depending on the extraction solvent. The lowest yield was found in pomace extracted with acetone and methanol presented the highest value. The total phenolic content, total flavonoid and total tannin varied depending on the extraction solvent. The ethanolic and acetonic extracts of grape pomace interacted with the stable free radical DPPH efficiently, with averages IC₅₀ of 0.31 μg/mL and 0.39 μg/mL; however they did not differ statistically to values for quercetin (0.22 µg/mL) and BHT (0.11 µg/mL). The extracts efficiently protected the oxidation of emulsified linoleic acid, with averages IC₅₀ of 0.34 µg/mL to 0.36 µg/mL; this was similar to the synthetic antioxidant BHT. Ethanolic extract of grape pomace increased the induction time of soybean oil with an average of IC₅₀ ranging from 0.34 µg/mL to 0.36 µg/mL. The most abundant phenolic compound was isoquercitrin (12.94 mg/100g), followed by rutin (7.54 mg/100g), quercetin (5.4 mg/100g) and resveratrol (2.5 mg/100g). Conclusion: The results presented in this study demonstrate that grape pomace from the Benitaka variety is rich in nutrients and phenolic compounds and showed a high antioxidant potential, something which contributes to its high value as a fruit byproduct and a fact that encourages the prospect of its commercialization as a natural antioxidant.

Keywords: Grape pomace. Physicochemical composition. Minerals. Lipide profile. Anthocyanins. Polyphenols. Spectrophotometry. HPLC-UV. Oxidative stability index.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPITULO 1

Figura 1	Videira da variedade Vitis vinífera	32
Figura 2	Curva de crescimento da uva	39
Figura 3	Vitis vinífera L., variedade Benitaka, em parreirais	42
Figura 4	Zoneamento de aptidão climática da videira européia no Piauí	49
Figura 5	Localização geográfica do município de São João do Piauí, Piauí, em relação ao Brasil	52
Figura 6	(A) Área experimental para cultivo da videira no Assentamento Marrecas	54
Figura 6	(B) Uva da variedade Benitaka	54
Figura 6	(C) Uva da variedade Itália	54
Figura 7	Principais alvos dos radicais livres	62
Figura 8	Etapas da peroxidação lipídica	64
Figura 9	Representação da estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ e PG	69
Figura 10	Principais vias do metabolismo secundário de espécies vegetais	74
Figura 11	Principais fatores que podem influenciar o conteúdo de metabólitos secundários em espécies vegetais	75
Figura 12	Via do ácido chiqímico	78
Figura 13	Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amônia liase (PAL)	79
Figura 14	Representação da estrutura química de um fenol simples	79
Figura 15	Classificação dos compostos fenólicos	81
Figura 16	Representação da estrutura química geral de uma molécula de flavonóide	82
Figura 17	Representação da estrutura química geral das principais classes de flavonóides	83
Figura 18	Representação da estrutura química das moléculas de rutina, isoquercitrina e quercetina	85
Figura 19	(a) Representação da estrutura do cátion flavílico e (b) Representação da estrutura da antocianidina Cianidina	87
Figura 20	Representação da estrutura química das antocianinas	88
Figura 21	Representação da estrutura geral da molécula de antocianidina (A) e principais formas de antocianidina encontradas na natureza (B)	88
Figura 22	Representação da estrutura da antocianina cianidina 3-glucosídeo	89
Figura 23	Representação da estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b)	92
Figura 24	Representação da estrutura química dos isômeros <i>trans</i> -resveratrol e <i>cis</i> -resveratrol	93
Figura 25	Representação da estrutura química do Ácido ascórbico	103
	CAPÍTULO 2	
Figura 1	Fluxograma de obtenção do bagaço de uva em pó	155

Figura 2	Ficha de avaliação sensorial das formulações pão integral e pizza sabor	
	banana com canela utilizando a escala hedônica para diversos atributos e	
	a escala de intenção de compra	158
Figura 3	Índice de aceitação das formulações pão integral e pizza sabor banana	
	com canela	161

LISTA DE TABELAS E QUADROS

CAPITULO 1 – TABELAS

Tabela 1	Classificação dos compostos fenólicos de acordo com sua estrutura	90
Tabela 2	química básica	80
	amostra fresca)	95
Tabela 3	Conteúdo de fenólicos totais em sucos de frutas, chás e vinhos, expressos em EAG/L (equivalente de ácido gálico por litro) ou EAG/g)	
T-1-1-4	(equivalente de ácido gálico por grama)	96
Tabela 4	Síntese de pesquisas sobre atividade antioxidante de espécies vegetais	98
Tabela 5	Síntese de pesquisas sobre potencial biotecnológico de resíduos de uva	110
	CAPITULO 1 – QUADRO	
Quadro 1	Principais fenólicos presentes em uvas da variedade <i>Vitis vinífera</i> L. (mg.g ⁻¹)	96
	CAPITULO 2 – TABELAS	
Tabela 1	Formulação de pão integral enriquecido com diferentes percentuais de bagaço de uva em pó	156
Tabela 2	Formulação de pizza sabor banana com canela enriquecida com diferentes percentuais de bagaço de uva em pó	157
Tabela 3	Valores médios dos atributos sensoriais e intenção de compra das formulações de pão integral	159
Tabela 4	Valores médios dos atributos sensoriais e intenção de compra das formulações de pizza sabor banana com canela	160
	CAPÍTULO 3 – TABELAS	
Table 1	Physicochemical analysis of flour grape pomace (Vitis vinifera L.)	171
Table 2	Bioactive compounds in flour pomace grape (Vitis vinifera L.)	172
Table 3	Composition of minerals (mg/100g) flour in grape pomace (<i>Vitis vinifera</i> L.)	173
Table 4	Microbiological Analysis of flour grape pomace (Vitis vinifera L.)	174
	CAPÍTULO 4 – TABELAS	
Table 1	Method validation for the chromatographic analysis of rutin, resveratrol, and quercetin in grape pomace (<i>Vitis vinifera</i> L.).	187
Table 2	Fatty acid profiles of grape pomace (Vitis vinifera L.) powder	188
Table 3	Total phenolic, total flavonoids and total tannins content of grape pomace (Vitis vinifera L.) extracts.	191
Table 4	Antioxidant activity by DPPH, autoxidation system β -carotene/linoleic acid and oxidative stability index in extracts from grape pomace (Vitis	
Table 5	vinifera L.) extracts	191 193

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C Antes de CristoAA Ácido Ascórbico

ABTS 2,2´-azinobis (3-tilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ADA American Dietetic Association

AGROSTAT Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária AOAC Association of Official Analytical Chemists

ATP Adenosina trifosfato
BHA Butil hidroxianisol
BHT Butil hidroxitolueno

CCD Cromatografia em camada delgada

CG Cromatografia gasosa

CG-EM Cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massas

°C Grau Celsius cv. Cultivar cm Centímetro

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLAE-EM Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a

Espectrofotômetro de Massas

CODEVASF Companhia de desenvolvimento dos vales do São Francisco e do

Paraíba

CL₅₀ Concentração de um agente em um meio que causa mortalidade em

50% da população exposta, durante um determinado período de

tempo

CTC Capacidade de Troca Catiônica
DCFI 2-6-diclorofenol-indofenol
DHA Ácido Desidroascórbico
DNA Ácido Desoxirribonucléico
DPPH 2,2-Diphenyl-1-picryl- hidrazil
DRI Dietary Reference Intake
EAG Equivalente de Ácido Gálico

EC₅₀ Quantidade de antioxidante necessária para diminuir a

concentração inicial de DPPH em 50%,

ECG Epicatequina Galato

EFSA European Food Safety Authority

EM Espectrometria de Massas

EMATER Empresa de Assistência técnica e Extensão Rural

ERO Espécie Reativa de Oxigênio
ERN Espécie Reativa de Nitrogênio
FAO Food and Agriculture Organization
FDA Food and Drug Administration

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power

FT Fibra total
FS Fibra solúvel
FI Fibra Insolúvel

g Grama

GWh Giga-Watt-Hora

h Hora ha Hectare

HDL High Density Lipoprotein - Lipopoteína de alta densidade

HPLC High-Performance Liquid Chromatography

IA Índice de AceitaçãoIU Índice de Umidade

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBRAVIN Instituto Brasileiro do Vinho

IFPI Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí

IPEA Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

Kcal Quilocaloria Kg Kilograma Km Kilômetro

Km² Kilômetro ao quadrado

L Litro

LDL Low Density Lipoprotein - Lipoproteína de baixa densidade

MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MHz Mega-hertz MW Megawatt Minuto min Mililitro mL m^3 Metro cúbico Milímetro mm Miligrama mg Micrograma μg Nanômetro nm n° Número

OIV Organização Internacional da Vinha e do Vinho

OMS Organização Mundial da Saúde

ORAC Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay

pH Potencial Hidrogeniônico

P.I. Produção Integrada

PI Piauí

PAL Fenilalanina Amônio Liase PAF Fator de Ativação Plaquetária

PG Galato de Propila

Q3G Quercetina-3-o-glicosídeo

Rf Fator de retenção

RNA Ácido Ribonucléico RS Rio Grande do Sul

SDR Secretaria de Desenvolvimento Rural

SR Superintendência Regional

t Tonelada

TBHQ Terc-butilhidroquinona UV Radiação Ultravioleta UVB Radiação Ultravioleta B

VLDL Very Low Density Lipoprotein - Lipoproteína de muita baixa

densidade

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO
OBJETIVOS
Objetivo Geral
Objetivos Específicos
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
1. A VIDEIRA: DEFINIÇÃO, ORIGEM E CULTIVO
1.1 Regiões climáticas de cultivo da videira
1.2 Fatores que influenciam o cultivo da videira
1.3 Avanços na viticultura
2. A UVA
2.1 Variedades de uva
2.1.1 Variedade Benitaka
2.2 Composição físico-química e valor nutritivo da uva
3. PANORAMA NACIONAL E INTERNACIONAL DA VITICULTURA
3.1 Cultivo e comercialização de uvas no Nordeste do Brasil
3.1.1 Cultivo e comercialização de uvas no estado do Piauí
3.1.1.1Cultivo e comercialização de uvas no município de São João do
Piauí
4. AGRICULTURA E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS
4.1 Resíduos agrícolas de uva
4.2 Valorização de resíduos da agricultura
5. BIOTECNOLOGIA E AGRICULTURA
5.1Biotecnologia e atividade antioxidante
5.1.1 Radicais livres e oxidação lipídica
5.1.2 Os antioxidantes
5.1.2.1Mecanismo de ação dos antioxidantes
5.1.2.2 Classes de antioxidantes
5.1.2.2.1 Antioxidantes sintéticos
5.1.2.2.2 Antioxidantes naturais
5.1.2.3 Aplicações tecnológicas para os antioxidantes
5.1.2.3.1 Conservantes alimentares
5.2 Biotecnologia e compostos bioativos
5.2.1 Compostos bioativos derivados de metabólitos secundários de espécies
vegetais
5.2.1.1 Compostos fenólicos
5.2.1.1.1 Estrutura química dos compostos fenólicos
5.2.1.1.2 Classificação dos compostos fenólicos
5.2.1.1.3 Fontes alimentares de compostos fenólicos

5.2.1.1.4 Atividade antioxidante dos compostos fenólicos
5.2.1.1.5 Metabolismo e biodisponibilidade de compostos fenólicos
5.2.2 Ácido ascórbico
5.2.3 Fibra dietética
6.1 Polifenóis de resíduos de uva
6.1.1 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos e doenças cardiovasculares
6.1.2 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva e controle do peso corporal
6.1.3 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva e envelhecimento celular
6.1.4 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva em alimentos
7. ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE EM ESPÉCIES
VEGETAIS
7.1 Toxicidade frente ao micro crustáceo <i>Artemia salina</i> sp
REFERÊNCIAS
CAPÍTULO 2 - INCORPORAÇÃO E ACEITABILIDADE DA FARINHA DE
BAGAÇO DE UVA EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO
Resumo
Introdução
Material e Métodos
Resultados e Discussão
Conclusão
Abstract
Referencias
CAPÍTULO 3 - CHEMICAL COMPOSITION AND BIOACTIVE
COMPOUNDS OF GRAPE POMACE (VITIS VINIFERA L.) BENITAKA
VARIETY, GROWN IN THE SEMIARID REGION OF NORTHEAST
BRAZIL
Abstract
Introduction 166
Materials and Methods
Results and Discussion
Conclusions
References 175
Total control

CAPÍTULO 4 – PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND LIPIDE PROFILE OF RED GRAPE POMACE CV. BENITAKA (VITIS VINIFERA L.) GROWN IN NORTHEAST OF BRAZIL.

Abstract	181
Introduction	182
Materials and Methods	183
Results and Discussion	188
References	195
CONCLUSÃO GERAL	201
PERSPECTIVAS	203
APÊNDICE	
Apêndice A – Curva padrão de ácido gálico para quantificação de fenóis totais pelo	
ensaio com o reagente Folin - Ciocalteau	205
Apêndice B - Curva padrão de quercetina para quantificação de flavonóides totais	205
Apêndice C - Curva padrão de ácido tânico para quantificação de taninos totais	206
Apêndice D – Cromatograma de ácidos graxos presentes no bagaço de uva em pó	206
Apêndice E – Curva de calibração da rutina	207
Apêndice F – Curva de calibração do resveratrol	207
Apêndice G – Curva de calibração da quercetina	208
ANEXO	
Anexo A – Artigo aceito para publicação na Revista Food Science and Technology	210
Anexo B – Comprovante de submissão de artigo na Revista Brasileira de Tecnologia	
Agroindustrial	211

Introdução

INTRODUÇÃO

O conhecimento do potencial biotecnológico de espécies vegetais e seus subprodutos têm direcionado diversas pesquisas; seja no intuito de obter novas características agronômicas e nutricionais desejáveis nos cultivos de plantas ou visando à identificação e quantificação de propriedades antioxidantes e funcionais desejáveis. Além disso, a agroindústria, de um modo geral, têm buscado alternativas eficientes para agregar valor a estes subprodutos e minimizar o impacto ambiental e aumentar a rentabilidade agroindustrial (PELIZER, PONTINERI e MORAES, 2007; CARRER, BARBOSA e RAMIRO, 2010; SILVA *et al.*, 2014). Aliado a estes fatores, a população têm buscado conhecer e adquirir novos produtos alimentícios que garantam relação positiva entre consumo e saúde (SOUZA *et al.*, 2012).

Os subprodutos de frutos são compostos presentes principalmente por cascas, sementes e talos; os quais são gerados por diferentes etapas do processo agroindustrial e são comumente desperdiçados ou descartados (SILVA *et al.*, 2014). Os resíduos da uva são compostos principalmente por subprodutos sólidos, como o engaço, o bagaço e por material filtrado dos líquidos. Dependendo das condições da uva no momento da colheita, os resíduos podem representar 13,5-14,5% do volume total de uvas, podendo chegar à 20% (AHMADI e ALI SIAHSAR, 2011; DENG, PENNER e ZHAO, 2011; LACHMAN *et al.*, 2013).

Diversos estudos têm demonstrado que os resíduos de uva são ricos em compostos bioativos, especialmente polifenóis (ROCHENBACH *et al.*, 2007; BOZAN *et al.*, 2008; ROCHENBACH *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2011; LACHMAN *et al.*, 2013) conhecidos por suas propriedades antioxidantes; inibindo ou retardando reações oxidativas, e, por conseguinte, produzindo efeitos benéficos ao organismo humano, principalmente no que se refere à prevenção e/ou controle de doenças crônicas, tais como as cardiovasculares, neurológicas, diabetes e câncer (ROCHENBACH *et al.*, 2007; AHMADI e ALI SIAHSAR, 2011).

Embora o Estado do Piauí ainda não possua tradição no cultivo da videira, dados do Insituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostraram que no período de 1990 à 2008 foram registradas áreas de cultivo e produção de uvas em alguns municípios do Piauí (IBGE, 2010). Dentre esses, o município de São João do Piauí, mais precisamente no Assentamento Marrecas, tem merecido destaque. Trata-se de um projeto piloto que tem como objetivo incentivar o cultivo da videira européia na região semiárida do Piauí. Nessa área, são cultivados seis hectares irrigados, com as variedades européias 'Itália' e 'Benitaka', e produtividade média de 30 t/ha.

A variedade 'Benitaka' (*Vitis vinífera* L.) origina-se da mutação somática da variedade 'Itália' e destaca-se pelo intenso desenvolvimento da coloração rosada escura, mesmo quando ainda imatura, em qualquer época do ano (SANTILLO, 2011).

Estudo realizado por Andrade Junior e Colaboradores (2009) indicou que é possível o cultivo da videira no Estado do Piauí. Entretanto, os reduzidos valores de precipitação pluviométrica mensal no período de maio a outubro indicam a necessidade de irrigação dos vinhedos, como forma de reduzir os efeitos do estresse hídrico no solo sobre a produção da cultura. A experiência com agricultura irrigada é pioneira para os moradores do Assentamento Marrecas. Até então, a criação de caprinos e ovinos era a única atividade do local. Desde a implantação do Projeto, toda a água está sendo direcionada para a plantação através de um sistema de irrigação denominado de micro-aspersão (sistema de irrigação localizada onde a água é aspergida através de microaspersores próximo ao sistema radicular das plantas).

Uma série de pesquisas sobre o potencial antioxidante de resíduos de uva tem sido amplamante relatada. No entanto, sabe-se que os constituintes químicos e seu potencial antioxidante variam entre as espécies e também é influenciado por fatores como localização geográfica, altitude, clima, disponibilidade hídrica, detre outros. Não há dados científicos sobre a composição química e propriedades funcionais de resíduos de uva cultivados no Piauí. Além disso, outro fator motivador desta pesquisa foi que o cultivo da uva vem sendo cada vez mais ampliado no Piauí, com perspectivas industrial e comercial, com crescente geração de resíduos e destinação incorreta desses.

Diante do exposto, esta Tese apresenta um tema relevante, uma vez que a demanda por antioxidantes naturais é crescente, pois os benefícios à saúde advindos da substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais são vastamente relatados na literatura científica. Além disso, a utilização de subprodutos de frutos é de extrema importância para a diminuição dos impactos negativos gerados pelo acúmulo desses resíduos na natureza e também como forma de agregar valor a produtos alimentícios já amplamente presentes na alimentação diária da população. Os resultados apresentados nesta Tese garantem uma ampla divulgação dos recursos naturais do Brasil e principalmente do Piauí, um Estado pobre, que necessita cada vez mais de pesquisas científicas, investimentos e divulgação de suas riquezas naturais.

REFERÊNCIAS

- AHMADI, S.M.; ALI SIAHSAR, B. Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivars. **Ciencia e Investigación Agraria**, v.38, n.2, p. 291-301,2011.
- ANDRADE-JÚNIOR, A. S. de; BASTOS, E. A.; SILVA, C. O. da. **Zoneamento de aptidão climática para a videira européia no Estado do Piauí**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009. 30 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 194).
- BOZAN, B.; TOSUN, G.; OZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. **Food Chemistry**, v. 109, n.2, p. 426-430, 2008.
- CARRER, H.; BARBOSA, A.L; RAMIRO, D.A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, v.24, n.70, p.149-164, 2010.
- DENG, Q.; PENNER, M.H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v.44, p.2712–2720, 2011.
- IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal**. Disponível em: http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>. Acesso em 20 jan. 2013.
- LACHMAN, J.; HEJTMÁNKO VA, A.; HEJTMÁNKO VA, K.; HORNICKO VA, S.; PIVEC, V.; SKALA, O.; DEDINA, M.; PRIBYL, J. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essential elements content as a by-product of winemaking. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 445–453, 2013.
- PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I. de O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, n.1, p. 118-127, 2007.
- ROCKENBACH, I.I.; SILVA,G.L.; RODRIGUES, E.; GONZAGA,L.V.; FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Revista Instituto Adolfo Lutz,** São Paulo, v.66, n.2, p.158-163, 2007.
- ROCKENBACH,I.I.;SILVA,G.L.;RODRIGUES, E.;KUSKOSKI, E.M.; Fett, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, p.238-244, 2008.
- ROCKENBACH, I.I.; GONZAGA, L.V.; RIZELIO, V.M.; GONÇALVES, A.E.S.S.; GENOVESE, M.I.; FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitis vinifera and Vitis labrusca) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**, v.44, p.897–901, 2011.
- SANTILLO, A.G. Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutricionais das uvas de mesa benitaka e uvas passas escuras. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de

concentração: Tecnologia nuclear. Instituto de Pesquisas energéticas e nucleares. São Paulo, SP, 2011.96p.

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

SILVA, L. M. R. da.; FIGUEIREDO, E. A. T. de.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.143, p.398–404, 2014.

SOUZA, A.V.; GOMES, G.P.; VIEIRA, M.R.S.; VIEITES, R.L.; LIMA, G.P.P. Avaliação de antioxidantes em casca de *vitis* sp. **Revista Alimentus**, v.2, p. 1-10, 2012.



OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Investigar o potencial biotecnológico do bagaço de uva, variedade *Benitaka*, cultivada no município de São João do Piauí, Estado do Piauí, buscando reconhecer os principais grupos de metabólitos responsáveis por atividade antioxidante.

Objetivos Específicos:

- Elaborar um pó alimentício a partir do bagaço de uva (casca e semente) variedade
 Benitaka, cultivada no município de São João do Piauí, Estado do Piauí.
- Avaliar a qualidade microbiológica do bagaço de uva em pó.
- Determinar a composição físico-química e nutricional do bagaço de uva em pó.
- Identificar e quantificar os ácidos graxos por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), presentes no bagaço de uva em pó.
- Elaborar extratos com diferentes solventes por extração à quente em aparelho de Soxhlet, a partir do bagaço de uva em pó.
- Determinar os principais grupos de metabólitos, por meio de análise fitoquímica qualitativa nos extratos de bagaço de uva em pó.
- Determinar o conteúdo de fenólicos totais, taninos totais e flavonoides totais nos extratos de bagaço de uva em pó.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* em extratos de bagaço de uva em pó.
- Avaliar a estabilidade oxidativa em óleo de soja adicionado de extratos de bagaço de uva em pó, pelo método de *Rancimat*.
- Identificar por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), os compostos presentes nos extratos de bagaço de uva em pó.
- Identificar e quantificar por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), os compostos previamente identificados por CCD.
- Avaliar a toxicidade de extratos de bagaço de uva em pó frente ao micro crustáceo Artemia salina sp.

CAPÍTULO 1 Revisão Bibliográfica

1. A VIDEIRA: DEFINIÇÃO, ORIGEM E CULTIVO

A videira, também conhecida como vite, vinha, vinhal, vinhedo ou parreira, é uma planta trepadeira com tronco retorcido, ramos flexíveis, folhas grandes e repartidas em cinco lóbulos pontiagudos, com flores pequenas e de cor branco esverdeado (FIGURA 1). Os frutos são bagas reunidas em cachos, que contém as sementes, variando de cor de acordo com o tipo de uva, podendo ser encontrada em diferentes tonalidades de verde, rosa, roxa e até mesmo de preta (COSTA, 2008; ISHIMOTO, 2008).

De acordo com a sua classificação botânica, pertence ao reino Plantae, filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Vitales, família Vitaceae, gênero Vitis e contêm inúmeras espécies, sendo as mais conhecidas Vitis vinifera, originária da Ásia e Vitis labrusca, originária dos Estados Unidos (GRIS, 2010; MACHADO, 2010).



FIGURA 1: Videira da variedade Vitis vinífera L.

FONTE: Acervo da autora (2010).

O cultivo da videira ou viticultura é uma das atividades mais antigas da civilização, com evidências de seu cultivo na região do Egito e da Ásia, durante o período Neolítico (doze mil a quatro mil anos a.C.). Há relatos que seu cultivo começou há cerca de seis mil a oito mil anos atrás, no Oriente Médio, espalhando-se pela Europa, norte da África e América do Norte; onde seu cultivo proliferou naturalmente nas selvas e foi parte da alimentação de nativos americanos (NATIVIDADE, 2010; DULLIUS, 2012).

No Brasil, a viticultura iniciou-se em 1532, com a chegada dos colonizadores portugueses. As primeiras videiras teriam sido trazidas pelo português Martin Afonso de Souza, que as plantou em sua Capitania, São Vicente. Presume-se que eram vinhas adequadas para a produção de vinho originárias da Espanha e de Portugal (Vitis vinifera). O cultivo teria se espalhado por outras regiões, mas em 1789, um decreto protecionista promulgado por Portugal proibiu o plantio de uvas, inibindo completamente a produção e comercialização de vinhos no Brasil. Assim, permaneceu como cultura doméstica até o final do século XIX, se tornando uma atividade comercial a partir do início de 1875, por iniciativa dos imigrantes italianos estabelecidos no Sul do País (PINHEIRO, 2008; GRIS, 2010; IBRAVIN, 2010; **DULLIUS**, 2012).

As videiras de origem americana, principalmente cultivares de Vitis labrusca, foram base para o desenvolvimento da vitivinicultura (cultivo da uva destinada à produção de vinhos) brasileira; sendo as cultivares "Isabel" como uva para a elaboração de vinho e "Niágara Branca" e "Niágara Rosada" como uvas de mesa. As castas européias (Vitis vinifera), apesar dos esforços envidados para seu cultivo, não tiveram expressão nos primórdios da vitivinicultura comercial brasileira devido às perdas causadas pela incidência de doenças fúngicas, especialmente pelo míldio ou bolor (Plasmopara viticola) e pela antracnose (Elsinoe ampelina). Com o advento dos fungicidas sintéticos, efetivos no controle destas doenças, a partir de meados do século XX, as videiras européias ganharam expressão com o cultivo de uvas para vinho no estado do Rio Grande do Sul e com a difusão da uva "Itália", especialmente no estado de São Paulo (ISHIMOTO, 2008; IBRAVIN, 2010; MAIA et al., 2013).

Desde seu início, até a década de 1960, a viticultura brasileira ficou restrito às regiões Sul e Sudeste, mantendo as características de cultura de clima temperado, com um ciclo vegetativo anual e um período de repouso, definido pela ocorrência de baixas temperaturas dos meses de inverno. Por volta da década de 1980, o cultivo da uva "Itália" foi levado, com sucesso, para a região semiárida do Vale do Submédio do São Francisco (representada pelos estados de Pernambuco e Bahia), marcando o início da viticultura tropical no Brasil (PINHEIRO, 2008; IBRAVIN, 2010; CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011; **DULLIUS**, 2012).

Sempre com base na uva "Itália", a viticultura tropical expandiu-se rapidamente, com a consolidação do Pólo do Norte do Paraná, na década de 1970, e dos Pólos do Noroeste de São Paulo e do Norte de Minas Gerais na década seguinte. A partir de 1990, surgiram diversos novos pólos vitícolas, alguns voltados à produção de uvas de mesa, outros direcionados à produção de uvas para a elaboração de vinho e suco (PINHEIRO, 2008; IBRAVIN, 2010; CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011; DULLIUS, 2012).

De acordo com dados da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), no ano de 2010, a área total de videiras cultivadas no mundo era estimado em 7,55 milhões de hectares. Deste total, a Europa ocupava 57,9%, seguido por 21,3% da Ásia, 13% da América, 5,2% da África e 2,7% da Oceania; sendo os principais países produtores de vinho (em mil ha): Espanha (1013), França (840), Itália (818), Turquia (505), China (470), Estados Unidos (398), Irã (330), Portugal (243), Argentina (228), Roménia (206), Chile (200), Austrália (173). Em anos recentes, tem havido perdas significativas de vinhedos, especialmente na Espanha, França, Itália e Turquia, em contrapartida, observou-se um aumento em superfícies cultivadas no Brasil, China, Índia, Argentina e Estados Unidos (RUIZ, 2011).

Segundo Camargo, Tonietto e Hoffmann (2011), a viticultura brasileira ocupa uma área de aproximadamente 83.700 hectares, com vinhedos estabelecidos desde o extremo Sul do País, a 31°S de latitude, até o Rio Grande do Norte e Ceará, a 05°S de latitude. Em relação à altitude, há grande diversidade ambiental entre as zonas de cultivo; existindo pólos com viticultura característica de regiões temperadas, subtropicais e tropicais.

1.1 Regiões climáticas de cultivo da videira

A viticultura de clima temperado caracteriza-se por um ciclo anual, seguido de um período de dormência induzido pelas baixas temperaturas do inverno. É a viticultura tradicional no Sul do País (nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná) e de regiões de altitude do Sudeste do Brasil (nos estados de São Paulo e Minas Gerais), representando cerca de 88% da área de vinhedos e mais de 98% das uvas utilizadas para processamento (vinhos, sucos e outros derivados) (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

A viticultura subtropical é praticada em regiões de invernos amenos e curtos; porém, sujeitos à ocorrência de geadas. Nessas condições, a videira tem um período de dormência natural nos meses de junho e julho, e pode ser manejada da maneira tradicional, com um ciclo por ano. Todavia, com a utilização de sistemas especiais de manejo, pode-se conseguir dois ciclos vegetativos, com a obtenção de duas colheitas por ano. A viticultura subtropical é importante no norte do Paraná e no leste de São Paulo, onde são adotados sistemas peculiares de manejo da videira (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

A viticultura tropical é típica de regiões onde as temperaturas mínimas não são suficientemente baixas para induzir a videira à dormência. A videira cresce continuamente e, com o uso de tecnologia apropriada, com sistemas de manejo adaptado às suas condições

ambientais específicas, é possível a obtenção de duas ou mais colheitas por ano, no mesmo vinhedo. A época de colheita pode ser programada para qualquer dia do ano. Os principais pólos de viticultura tropical no Brasil são o Vale do Submédio São Francisco, o Noroeste Paulista e o Norte de Minas Gerais (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

Além destes, novos pólos vitivinícolas estão surgindo em diferentes regiões do País, seja sob clima temperado, tropical ou subtropical. Existem iniciativas em várias regiões do Brasil tropical, com destaque para as regiões Nordeste, nos Estados de Pernambuco, Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí; Centro-Oeste, nos Estados do Mato Grosso e Goiás e Sudeste, nos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo, voltados principalmente à produção de uvas de mesa (IBRAVIN, 2010). Esta diversidade climática do Brasil e a adaptação dos cultivares às variadas condições climática são um dos fatores que garantem a expansão significativa da viticultura brasileira (ABRAHÃO, 2002; NATIVIDADE, 2010; DULLIUS, 2012).

1.2 Fatores que influenciam o cultivo da videira

O cultivo da videira, seja no Brasil, ou em diversas regiões do mundo, está condicionado a fatores como temperatura, radiação solar, umidade relativa do ar, altitude, condições fitossanitárias e disponibilidade hídrica do solo; os quais influenciam no desenvolvimento, na produtividade e na qualidade da uva. Esta influência ocorre em todos os estádios fenológicos da videira, ou seja, desde o repouso vegetativo, a brotação, a floração, a frutificação, crescimento das bagas, maturação, até a queda das folhas. O clima ideal para o cultivo da videira é o que apresenta invernos frios e verões secos e quentes (TEIXEIRA et al., 2012).

A temperatura do ar afeta a fisiologia da videira e a qualidade das uvas, com a concentração de açúcar aumentando e a de ácido (principalmente o málico) diminuindo simultaneamente quando os parreirais são cultivados em condições térmicas elevadas (TEIXEIRA, 2009; KELLER, 2010).

A faixa ótima para a fotossíntese ocorre entre 25°C e 30°C. Os vinhos elaborados nestas condições apresentam maiores teores de álcool, baixa acidez e valores de pH elevados, afetando negativamente a intensidade e qualidade do aroma, cor e longevidade (TEIXEIRA et al., 2012). Em temperaturas acima de 30°C, o peso e o tamanho das uvas são reduzidos, decrescendo os processos metabólicos sob condições próximas de 45°C e em temperatura do ar inferiores a 20°C as reações fotossintéticas são menos intensas (OLLAT et al., 2002; ORDUNA, 2010). Enquanto que o principal ácido das uvas, o tartárico, é relativamente estável com relação aos efeitos térmicos, na fase de maturação, os níveis de ácido málico decrescem com valores elevados de temperatura do ar (TARARA et al., 2008).

Elevados valores de temperatura do ar (acima de 30°C) aumentam a concentração de sólidos suspensos, mas os altos valores de brix (24-25°) podem ser devidos ao aumento das taxas de evapotranspiração (KELLER, 2010). A temperatura do ar atua nas taxas evapotranspiratórias, devido ao fato de que a atmosfera aquecida próxima às plantas transfere energia aumentando os fluxos hídricos para a atmosfera. Climas com baixos índices pluviométricos são mais indicados para o cultivo comercial da videira, pois as variedades para mesa (consumo in natura) são mais sensíveis ao excesso de chuvas, os quais causam danos diretos nas uvas e o consequente aumento da umidade do ar eleva o risco de doenças. Entretanto, climas secos acarretam em umidade do solo insuficiente, trazendo a necessidade da irrigação baseada nos requerimentos hídricos dos parreirais (TEIXEIRA, 2009).

Para as videiras de mesa, elevados teores de açúcar são desejáveis e estes são atingidos sob altos valores de temperatura do ar (KELLER, 2010). As áreas mais quentes são as favoráveis, enquanto que o excesso hídrico em algumas regiões e épocas de poda vai afetar a qualidade e produtividade das uvas de mesa mais do que em videiras para produção de vinho (TEIXEIRA, BASTIAANSSEN e BASSOI, 2007).

As áreas classificadas como mais aptas para o cultivo comercial, tanto para as videiras para consumo in natura como para produção de vinho, apresentam baixos níveis de umidade climática, promovendo uma menor incidência de doenças, bem como redução dos problemas causados diretamente às videiras pelo excesso de precipitação, permitindo a obtenção de uvas de melhor qualidade e vinhos típicos, pois um clima úmido pode favorecer o surgimento de doenças fúngicas, para as quais a videira é bastante sensível (GRIS, 2010). Entretanto, para programas de expansão destas culturas, e utilização de todo o potencial do Nordeste do Brasil para a produção comercial de uvas de mesa e vinhos tropicais, estas áreas devem ser delimitadas também de acordo com outras características ambientais, como solos, enxertos e adaptação de cultivares (TEIXEIRA et al., 2012).

A altitude do local também influencia diretamente nas características das uvas. Em geral, 100 metros de elevação representa uma diminuição de aproximadamente 0,6°C na temperatura média do ar e em regiões de maior altitude, a maturação das uvas é mais tardia (TONIETTO e MANDELLI, 2003).

1.3 Avanços na viticultura

Em relação aos avanços no setor da viticultura, os sistemas de produção estão sendo modificados ao longo dos anos, em função das oportunidades e exigências do mercado. A partir de então, surgiram a seleção de clones e novas cultivares adaptadas às diferentes regiões, a definição de diferentes tecnologias de manejo especialmente para as regiões tropicais e subtropicais e a certificação de produtos vitivinícolas, como produção integrada, indicações geográficas e produção orgânica (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

O uso de substâncias para induzir à brotação, inicialmente a cálcio-cianamida e, depois, a cianamida hidrogenada, foi um avanço de grande significado. Além de promover a brotação, o uso destes produtos propicia uniformidade na brotação e, por consequência, facilita a execução das práticas de manejo da copa e da produção, como poda verde, aplicação de reguladores de crescimento e colheita. No caso da viticultura de clima subtropical, com a indução da brotação, é possível estabelecer sistemas de produção com duas colheitas anuais (GUERRA et al., 2009).

Em 2001, foi regulamentada a certificação de frutas no Brasil, com normativas e procedimentos que asseguram a qualidade da fruta, a aplicação de procedimentos técnicos coerentes com o respeito ao meio ambiente, à legislação trabalhista e à saúde do consumidor. Em 2003, foi regulamentado o programa de Produção Integrada (PI) de Uva no Vale do Submédio do São Francisco, resultando em significativas melhorias no sistema de produção de uvas de mesa (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

A produção orgânica de uva no Brasil ainda é pequena, mas sabe-se que existem iniciativas de produção orgânica de uva em praticamente todos os estados produtores. No caso de produtos voltados ao mercado interno, grande parte da produção provém da agricultura familiar, cuja comercialização ocorre em feiras, diretamente ao consumidor. Isto tem dificultado o controle estatístico da produção. Entretanto, com a implementação do selo oficial de avaliação da conformidade orgânica, o credenciamento de certificadoras e o cadastro de produtores orgânicos no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a produção e a comercialização de uva orgânica e seus derivados, assim como de outros produtos orgânicos, deverão crescer de forma organizada e com melhor controle em todas as etapas (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

No estado do Rio Grande do Sul, considerado o maior produtor de uvas do Brasil, a Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-RS) tem acompanhado a produção orgânica de uvas e, de acordo com dados extraoficiais levantados, a área de produção de uva orgânica no Estado passou de 90 hectares (ha), em 2005, para 517 ha, em 2011. No mesmo período, o incremento da produção passou de 1.000 toneladas (t) para 7.000 t, sendo que grande parte desta uva foi destinada à produção de suco de uva e vinhos (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011).

A definição do sistema de manejo da copa para promover a indução e a diferenciação floral em uvas sem sementes teve grande impacto na produção de uvas de mesa. Este sistema tornou possível a produção comercial de uvas sem sementes no Vale do São Francisco, o que alavancou as exportações brasileiras de uva de mesa a partir do ano de 2000 (BRASIL, 2002a).

Por fim, entendemos que viticultura é diretamente dependente dos recursos naturais, tais como, energia solar, água e solo. O seu êxito é determinado pela integração de técnicas de cultivo onde a uva se desenvolva com proteção e conservação do meio-ambiente, por meio de práticas de desenvolvimento sustentável a fim de garantir a viabilidade e sustentabilidade desta atividade agrícola (RUIZ, 2011).

2. A UVA

A uva é um fruto não-climatérico, ou seja, que não é capaz de amadurecer depois de colhido, apresentando um declínio lento e constante da taxa respiratória. Desta forma, a maturação só ocorre enquanto é mantida a ligação do fruto à planta, sendo de fundamental importância a definição da época ideal para a colheita (DULLIUS, 2012).

O desenvolvimento da baga da uva segue um padrão duplo sigmoide típico, caracterizado por duas fases de crescimento rápido (estádios I e III), separados por uma fase de latência ou fase lag (estádio II), durante o qual pouco ou nenhum crecimento ocorre. O estádio I corresponde à formação do embrião e ao crescimento exponencial do fruto, com acúmulo de ácido málico e tartárico, além de ácidos hidroxicinâmicos e taninos. A duração desta fase pode variar em função da região de cultivo e variedade da uva. O estádio III corresponde à uma segunda fase de crescimento, após um período de ausência de crescimento (estádio II) e coincide com o início da maturação, caracterizada pela mudança na coloração da baga (véraison) (FIGURA 2) (SOZIM, 2011).

As modificações que ocorrem na composição da uva no período de maturação (estádio III) são o aumento do volume da baga, devido ao acúmulo de água e açúcar, podendo também ser observado ao final da maturação uma diminuição de até 10% deste volume por conta da transpiração da uva; a diminuição da acidez, devido à diminuição no conteúdo de tartaratos e malatos ocasionada pela migração das bases, pelos fenômenos de combustão respiratória e pelos fenômenos de diluição da baga; o aumento de pH, devido à formação de sais à partir de ácido livre; o desaparecimento da clorofila e o acúmulo de pigmentos corantes na casca, que se formam a partir de acúcares e caracterizam o amadurecimento da uva; o amolecimento das bagas, devido à hidrólise enzimática dos pectatos (que tem a função de endurecimento das paredes celulares), com liberação do ácido péctico e de íons cálcio e magnésio, com concomitante produção de pruína, substância cerosa que protege a baga contra danos provocados pelos raios ultravioleta e parasitas; por redução da transpiração e respiração das bagas; a síntese de compostos aromáticos, presentes principalmente nas cascas, tais como moscatel, foxado e o herbáceo (GRIS, 2010; DULLIUS, 2012).

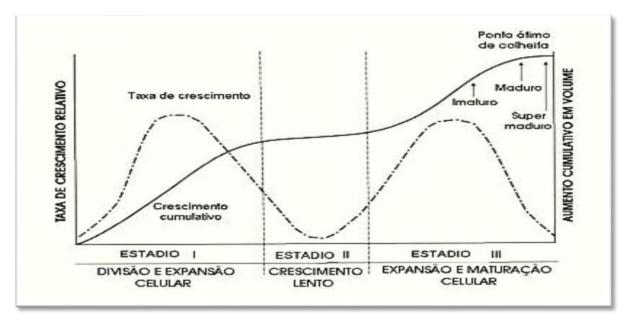


FIGURA 2: Curva de crescimento da uva.

FONTE: Adaptado de: Lahue e Johnson (1989)

2.1 Variedades de uva

As uvas de mesa em cultivo no Brasil podem ser divididas em 2 grupos distintos: uvas Rústicas e Finas. As uvas Rústicas têm como base, variedades com características de uvas americanas (Vitis labrusca L.), sendo representada pelas variedades 'Niagara Rosada', 'Niagara Branca' e 'Isabel'. A cultivar (cv.) 'Niágara Rosada' é presença marcante nos vinhedos de todas as regiões produtoras, por ser uma uva de fácil manejo no campo e de grande aceitação no mercado (PINHEIRO, 2008; GRIS, 2010; SANTILLO, 2011).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para a classificação das uvas, entende-se por uva rústica aquelas da espécie Vitis labrusca L. e uva fina de mesa, aquelas da variedade Vitis vinifera L. (BRASIL, 2002b).

A uva Rústica, para consumo "in natura", pode ser classificada em três grupos, de acordo com a coloração característica da variedade. O grupo branco é constituído de bagas de uva que apresentam coloração verde, verde clara ou verde amarelada. Já o grupo rosada, é constituído de bagas que apresentam coloração rosada e o grupo preto, por aquelas que apresentam bagas com coloração preta (BRASIL, 2002b).

A Uva Fina de Mesa, para consumo "in natura", pode ser classificada em dois grupos, de acordo com a presença ou não de sementes, sendo o grupo I, constituído de variedades de uva cujas bagas apresentam sementes e grupo II, constituído de variedades de uva cujas bagas não apresentam sementes. Podem ainda, ser classificadas em dois subgrupos, de acordo com a coloração característica da variedade da uva. O subgrupo branco, cujas bagas apresentam a coloração verde, verde clara ou verde amarelada e subgrupo colorido, cujas bagas apresentam a coloração rósea, avermelhada ou preta (BRASIL, 2002a).

No caso de uvas americanas e híbridas (provenientes do cruzamento de diferentes espécies) para processamento, diversas novas cultivares estão sendo difundidas nos vários polos de produção, algumas com perspectivas de grande expansão. Destacam-se as brancas 'Moscato Embrapa' e 'BRS Lorena', ambas já com volume significativo de produção no estado do Rio Grande do Sul e em expansão nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo. Entre as tintas, destacam-se 'BRS Rúbea', 'BRS Cora', 'BRS Violeta', 'BRS Carmem', 'Isabel Precoce' e 'Concord Clone 30', usadas prioritariamente para suco, mas que também podem ser usadas para vinho. Dentre estas, 'Isabel Precoce', 'BRS Cora' e 'BRS Violeta' são a base para o desenvolvimento dos polos de produção de suco de uva nos estados do Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso e na região do Vale do São Francisco (CAMARGO, 2008).

As uvas Finas de mesa têm como base, variedades com características de uvas européias (Vitis vinifera L.) e disponíveis em grande quantidade o ano todo no mercado, com um pico de produção maior no fim do ano, graças à alternância de regiões produtoras com características climáticas distintas. As variedades mais conhecidas de uvas Finas são a cv. "Itália" e suas mutações (Rubi, Benitaka e Brasil), e nos últimos anos vêm surgindo novas cultivares, com destaque para a 'Red Globe' e várias outras sem semente, porém em volume, ainda muito inferior à "Itália" e mutações (BRASIL, 2002a).

Existem, no mundo, milhares de variedades de uva, sendo que a maioria delas pertence à espécie Vitis vinifera, originária do Cáucaso, de onde foi difundida por toda a costa mediterrânea há centenas de anos. Estima-se a existência de mais de 10 mil cultivares para a espécie Vitis vinifera, adaptada a vários tipos de solo e de clima, o que possibilita o seu cultivo em quase todas as regiões do mundo. Pode ser encontrada em diferentes tonalidades de verde, de rosa, de roxa e até mesmo de preto (NATIVIDADE, 2010; SANTILLO, 2011).

Na região do Vale do São Francisco, a cv. 'Piratininga' teve área expressiva na década de 1980, mas foi substituída pela cv. 'Red Globe', que se difundiu rapidamente na região na década de 1990. Porém, a cv. 'Red Globe', devido à sua suscetibilidade ao cancro bacteriano, sofreu drástica redução da área plantada a partir de 1996, sendo substituída pela cv. 'Benitaka'. A partir do ano de 2000, as cultivares de uvas sem sementes 'Festival', 'Thompson Seedless' e 'Crimson Seedless' tiveram extensas áreas plantadas. Nas demais regiões produtoras de uvas de mesa, as cultivares do grupo Itália continuam sendo predominantes (SANTILLO, 2011).

Para o consumo in natura, as variedades mais cultivadas são a 'Itália', 'Rubi', 'Brasil', 'Benitaka', 'Red Globe', 'Centenial', 'Festival', 'Niágara', 'Morena', 'Linda', 'Clara', 'Red Meire' e 'Thompson Seedles' (IBRAF, 2007).

As uvas de mesa devem apresentar características apreciadas para o consumo "in natura". Os cachos devem ser atraentes, com sabor agradável e apresentar-se resistentes ao transporte e ao manuseio e com boa conservação pós-colheita. A forma ideal do cacho é cônica, especialmente para o mercado externo, com tamanho médio de 15 a 20 cm e peso superior a 300g, devendo ser os cachos cheios, mas não compactos. As bagas devem ser grandes e uniformes, com diâmetro igual ou maior a 18 mm para uvas sem sementes e 24 mm naquelas com sementes e possuir boa aderência ao pedúnculo. Além disso, as bagas devem ser limpas, sem manchas provocadas por insetos, doenças, danos mecânicos ou defensivos. A polpa deve ser firme, com película e engaço resistentes (BRASIL, 2002a).

A ausência de sementes é uma característica desejada para o consumo "in natura". A cor das bagas pode ser verde, verde-amarelada ou âmbar, vermelha ou preta, sendo esse um aspecto importante na comercialização. É importante que as bagas apresentem cor intensa, brilhante e uniforme. Esta característica é também influenciada pelo clima e por práticas culturais (BRASIL, 2002a).

O sabor da polpa é determinado pela classe e pela qualidade das substâncias voláteis que estejam presentes e pode ser agrupado em: neutro, foxado (forte) e moscatel (baixo teor alcóolico e sabor doce). As uvas podem ainda ser doces ou ácidas, de acordo com a relação existente entre açúcares e ácidos e podem ser mais ou menos adstringentes, dependendo dos teores de tanino (GUERRA et al., 2009).

2.1.1 Variedade Benitaka

A variedade Benitaka (Vitis vinífera L.) (FIGURA 3) origina-se da mutação somática da variedade 'Itália'. Foi descoberta em 1988, em parreiral de uva da variedade Itália, do viticultor Sadao Takakura, numa fazenda no município de Floraí, Norte do Paraná. Passou a ser cultivada na região do Submédio do Vale do São Francisco, em 1994 e destaca-se pelo intenso desenvolvimento da coloração rosada escura, mesmo quando ainda imatura, em qualquer época do ano (SANTILLO, 2011).

Os cachos são grandes, com peso médio de aproximadamente 400g e bagas grandes (8 a 12g). Apresenta boa conservação pós-colheita. Estas características conferem à "Benitaka" um lugar de destaque, sendo a uva de cor tinta a que mais vem despertando o interesse dos produtores nesta região, nos últimos anos (LIMA, 2007; SANTILLO, 2011).



FIGURA 3: Vitis vinifera L., variedade Benitaka, em parreirais.

Fonte: Acervo da autora (2010)

2.2 Composição físico-química e valor nutritivo de uvas

A uva é constituída basicamente de polpa (85 a 92%), casca (6 a 12%) e sementes (2 a 6%). A polpa da uva, seu maior constituinte, é composta basicamente de água (60 a 80%), açúcares (10% a 30%), polissacarídeos (0,3% a 0,5%), ácidos orgânicos (0,9% a 2,7%), compostos nitrogenados (0,4% a 0,7%), minerais (0,08% a 0,28%), compostos fenólicos

(0,05%) e traços de compostos aromáticos (SANTOS, 2009; GRIS, 2010; NATIVIDADE; 2010; MONTEIRO, 2011).

A casca das uvas age como barreira de proteção contra injúrias mecânicas, desidratação, doenças fúngicas e radiação ultravioleta. Pode ser dividida em três camadas distintas: camada exterior ou cutícula, formada por ácidos graxos de cadeia longa, unidos uns aos outros por ligação éster, criando uma rede tridimensional, que compõem a cutina (componente principal da cutícula) e coberta por ceras hidrofóbicas; a epiderme intermediária, composta por uma ou duas camadas de células compactadas, dependendo da cultivar; e a camada interna ou hipoderme, constituída por várias camadas de células que contém a maior parte dos compostos fenólicos presentes na película (GRIS, 2010).

As substâncias fenólicas presentes na casca representam cerca de 20% dos compostos fenólicos da uva e podem estar associados aos polissacarídeos da parede celular ou independentes destes, no vacúolo e no núcleo das células, destacando-se as antocianinas, que dão a coloração das uvas tintas. Durante a maturação, os compostos fenólicos que se destacam são as antocianinas e os taninos, e sua evolução durante a maturação é um dos fatores determinantes na qualidade das uvas (ISHIMOTO, 2008; SANTOS, 2009; GRIS, 2010; MONTEIRO, 2011).

Já a semente da uva, representa apenas uma pequena parte, podendo atingir cerca de 6% do peso da uva. É composta por açúcares (34% a 36%), compostos nitrogenados (4% a 6,5%), minerais (2% a 4%), lipídeos (13% a 20%, principalmente de ácidos oleico e linoleico) e compostos fenólicos (4% a 10%), que correspondem a aproximadamente 60% de todos os compostos fenólicos presentes na uva, predominando as catequinas, epicatequina e procianidinas (ISHIMOTO, 2008; NATIVIDADE, 2010; SELANI, 2010; MONTEIRO, 2011).

3. PANORAMA NACIONAL E INTERNACIONAL DA VITICULTURA

Em relação ao cenário internacional, no ano de 2011, o Brasil ocupou o 19° lugar em área cultivada com uvas, o 11º em produção de uvas e o 13º em produção destinada à vitivinicultura. No que se refere às transações internacionais, ocupou o 14° em quantidade de uvas exportadas, 13° em valor das exportações de uvas, 17° maior exportador de suco de uvas no quesito quantidade, 9° em valor das exportações de suco de uva, 31° exportador de vinhos em quantidade e 45° em valor exportado de vinhos; sendo o 21° colocado no ranking de países importadores de vinhos e 32º importador de uvas (FAO, 2010; MELLO, 2013a).

Historicamente, a exportação de uvas foi controlada quase que inteiramente pelos países tradicionais europeus, no entanto, nos últimos anos, a América do Sul reverteu a situação ao alcançar um crescimento significativo no volume de exportações, o que levou a uma revolução na viticultura. As áreas de viticultura subtropical (Brasil, Índia, Venezuela) têm se destacado, com obtenção de duas colheitas por ano (RUIZ, 2011).

No ano de 2010, as exportações de uva de mesa no Brasil, situaram-se em 60.805 toneladas, gerando cerca de 148,33 milhões de dólares; valores estes 11,45% superiores ao ano anterior. Embora ainda muito inferior ao volume exportado, em 2008, observou-se uma retomada no crescimento, com ganhos no valor das exportações, em 23,58%. Em 2011, as exportações brasileiras do setor vitivinícola somaram 155,70 milhões de dólares, valor 4,97% superior ao ano de 2010 (MELLO, 2013a).

Em relação à produção interna, as Regiões Sul, Sudeste e Nordeste são as regiões com maior cultivo e produção. Na Região Sul do Brasil, maior produtora do País (responsável por quase 90% da produção do País), a colheita destina-se em sua grande maioria à produção de vinhos, enquanto nas demais regiões produtoras predomina a produção de uvas de mesa (in natura) (MELLO, 2013b).

Na Região Nordeste a produção concentra-se no Vale do São Francisco mais precisamente entre os Estados de Pernambuco e Bahia, região privilegiada pelo fato de produzir uvas o ano inteiro e assim aproveitar as melhores condições de preços quando as demais regiões produtoras não estão produzindo. Entretanto, a região ainda possui uma produção modesta de industrializados deste fruto tais como vinhos e sucos. Nos últimos anos os produtores nordestinos têm vislumbrado este mercado, pois se percebeu que a região possui características que favorecem a produção de excelentes vinhos e sucos. Ademais, a produção de processados de uva gera um número significativo de empregos em torno das regiões produtoras e possibilita um maior valor agregado (MELLO, 2012).

Dados de 2012 revelam que a produção anual de uvas no Brasil foi de 1.455.809 t, sendo que 830.915 t, aproximadamente 57% do total produzido, foram destinadas ao processamento de suco, vinho ou derivados e cerca de 624.894 t, aproximadamente 43% do total produzido, foi comercializada como uvas de mesa (MELLO, 2013b). Destas, mais de 120 cultivares de Vitis vinifera e mais de 40 cultivares de uvas americanas, incluindo castas de Vitis labrusca, Vitis bourquina e de híbridas interespecíficas (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011; IBGE, 2013).

Do total de produtos industrializados, geralmente 77% são vinhos de mesa e 22% são sucos de uva, ambos elaborados a partir de uvas de origem americana, especialmente cultivares de *Vitis labrusca*, *Vitis bourquina* e híbridos interespecíficos diversos. Cerca de 1% restante dos produtos industrializados, são outros derivados da uva e do vinho (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011; MELLO, 2013b; IBGE, 2013).

Grande parte da produção brasileira de uvas e derivados da uva e do vinho é destinada ao mercado interno. O principal produto de exportação, em volume, é o suco de uva, sendo cerca de 15% do total destinado ao mercado externo; apenas 5% da produção de uvas de mesa é destinada à exportação e menos de 1% dos vinhos produzidos são comercializados fora do país (CAMARGO, TONIETTO e HOFFMANN, 2011; MELLO, 2011).

Em relação à produção de uvas no Brasil, em 2012, houve uma redução de 0,52% em relação ao ano de 2011. A maior redução da produção ocorreu no Estado do Paraná (-32,86%), seguida dos Estados da Bahia (-4,80%) e de São Paulo (-0,18%). Em Pernambuco, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, houve um aumento da produção de uvas de 7,71%, 3,09%, 4,64% e 1,29%, respectivamente, em relação ao ano de 2011. Em relação à produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados), o valor em quilos foi de 830,92 milhões, representando 57,07% da produção nacional. O restante da produção (42,93%) foi destinado ao consumo in natura (MELLO, 2013b).

Segundo Mello (2013b) a crise econômica mundial dos últimos anos, associada ao ingresso de outros países no mercado, dificultou a exportação de uvas de mesa do Vale do São Francisco. Além disso, o excesso da oferta de vinhos no mercado internacional, associado ao aumento do poder aquisitivo dos brasileiros, tem facilitado o ingresso de vinhos importados no país, influenciando fortemente o desempenho da vitivinicultura brasileira no mercado.

Com relação à área plantada e colhida de uvas no Brasil no ano de 2012, ocorreu um aumento de 0,72% e 0,78%, respectivamente. Os maiores aumentos de área aconteceram nos Estados do Paraná e de Santa Catarina. No Paraná, a área plantada aumentou 3,37% e, em Santa Catarina, aumentou 3,33%, em 2012. No maior Estado produtor de uvas do Brasil, o Rio Grande do Sul, ocorreu um aumento da área plantada de apenas 1%, em 2012. Em Pernambuco, a área plantada com videiras sofreu redução de 2,15% e, na Bahia, a redução foi de 5,00%, em 2012. Nos demais Estados, as áreas permaneceram inalteradas ou apresentaram pequena redução. Embora não apareça nas estatísticas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a viticultura está sendo implantada em vários estados, como Mato Grosso do Sul, Goiás, Espírito Santo, Ceará e Piauí (MELLO, 2013b; ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2013).

Informações do IBGE que confrontam produção agrícola do ano de 2012 e dados de fevereiro de 2013 indicam que a área total colhida em hectares teve um decréscimo de 0,1%,

com 80.630 hectares em 2012 e passando para 80.530 hectares em fevereiro de 2013. No entanto, a produção em toneladas e o rendimento em Kg/ha tiveram crescimento de 2,6% e 2,7%, respectivamente. De acordo com esta pesquisa, em 2012, o Brasil teve uma produção anual de 1.455.809 t e rendimento médio de 18.055 Kg/ha. A região Sul apresentou maior produção anual de uvas do Brasil, com 981.660 t, sendo o estado do Rio Grande do Sul, seu maior produtor, com 840.251 t/ano; seguido da região Sudeste, com 187.099 t/ano e o estado de São Paulo com a maior produção (176.992 t/ano). Dados de fevereiro de 2013 apontam que a produção anual brasileira passou para 1.493.399 t e o rendimento médio para 18.545 Kg/ha (IBGE, 2013).

Em relação ao comparativo dos meses de janeiro e fevereiro de 2013, a pesquisa mostrou que a área colhida em hectares cresceu 0,5%, a produção em toneladas cresceu 0,7% e o rendimento em Kg/ha subiu 0,2% (IBGE, 2013).

Segundo projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a uva tem sido uma das frutas que mais tem crescido no valor das exportações. Considerandose a banana, a maçã e a uva; a banana é a mais difundida pelo país, enquanto a maçã e uva têm suas regiões de produção mais restritas ao Sul e Nordeste. As projeções de produção até 2021/2022 mostram que a maior expansão de produção deverá ocorrer na maçã, 2,9% de crescimento ao ano, seguida pela uva, 2,0% ao ano e pela banana, 0,4% ao ano. A produção conjunta de maçã, uva e banana devem aumentar em 24,5% em 2021/22 (BRASIL, 2012).

De acordo com o Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN), o Brasil tem desenvolvido uma capacidade excepcional para a produção de vinhos de qualidade. Atualmente, o país é considerado uma das melhores regiões no mundo para o cultivo de uvas destinadas a produção de vinhos espumantes. O Brasil exporta hoje vinhos para 22 países, dentre os principais destacamos Estados Unidos, Alemanha, Inglaterra e República Tcheca (IBRAVIN, 2010).

3.1 Cultivo e comercialização de uvas no Nordeste do Brasil

Nos municípios do Nordeste do Brasil, predominam o clima semiárido e subúmido seco, caracterizados pela baixa precipitação e umidade relativa do ar e alta temperatura do ar e radiação solar global (ANDRADE JÚNIOR et al., 2005). Nestas condições, os problemas fitossanitários tendem a ser menores e a qualidade do fruto melhor, o que é essencial para a expressão do potencial produtivo da videira europeia (COSTACURTA e ROSELLI, 1980; COOMBE,1987).

A área plantada no Nordeste saltou de 3.028 hectares, em 1996, para 6.724 hectares em 2006. Isto representou uma variação de 122,1% no período entre os censos. Esse aumento, em termos percentuais, foi superior ao da variação nacional, que oscilou somente 12,6% no mesmo período (IBGE, 2006; OLIVEIRA FILHO, 2011).

A produção Nordestina, que em 1996 foi de 60.729 toneladas, alcançou 111.375t em 2006, um aumento de 83,4%. A Região oscilou sua produção acima da variação nacional, que foi de apenas 26,9%, fato que propiciou um avanço do Nordeste na participação da produção brasileira, de 9,3% no Censo de 1996 para 13,4% no Censo de 2006. Estados do Ceará e Paraíba registraram grande aumento entre os censos, 34,5% para o primeiro e 108% para o segundo. Mas, como têm pouca participação regional, juntos somaram 1,4% da produção do Nordeste em 2006, mesmo percentual do censo anterior. O avanço de produção da região Nordeste foi impulsionado pelos estados de Pernambuco e Bahia que aumentaram sua produção em 101,5% e 58,7%, respectivamente, e possuem grande participação na produção de uvas. Pernambuco aumentou a sua participação regional de 62,5% para 68,7% de um censo ao outro, enquanto a Bahia perdeu participação, de 34,5% em 1996, caiu para 29,9% em 2006, mas continua com participação expressiva (IBGE, 2006; OLIVEIRA FILHO, 2011).

No que se refere ao efetivo, o Nordeste obteve um aumento de 105%, elevando em mais de 4 milhões o número de vinhas existentes na Região entre um censo e outro. Também nesse item a variação nordestina se manteve acima da variação Nacional. O Estado de Pernambuco foi o que registrou maior variação; 113,3%, aumentando sua participação relativa à região Nordeste, de 61,6% para 64,1% entre 1996 e 2006. Os demais estados produtores também registraram aumento em seu efetivo. A Bahia registrou variação de 104% e Ceará e Paraíba oscilaram 19,6% e 112,7%, respectivamente. Entretanto, esses estados não conseguiram aumentar sua participação no Nordeste; enquanto os dois primeiros perderam participação, o terceiro manteve o mesmo índice (IBGE, 2006; OLIVEIRA FILHO, 2011).

O aumento tanto da produção como da área colhida e do efetivo de uva na região Nordeste pode ser explicado em grande parte pela expansão das áreas de fruticultura irrigada no Submédio do Vale do São Francisco. Entretanto, na região Nordeste como um todo, o aumento na área colhida não foi acompanhado na mesma proporção pelo aumento na produção e no efetivo, provavelmente devido à redução de mão de obra para cultura de outras frutas no Vale do São Francisco que exigem menor capacitação que a cultura de uva. Este fato explica a queda de rendimento na Região que em 1996 foi de 20,1 t/ha e em 2006 caiu para 16,6 t/ha. Nesse mesmo período, o rendimento do Brasil aumentou; entretanto, a produtividade nacional ainda permaneceu abaixo do Nordeste. Dos estados produtores somente a Paraíba conseguiu um aumento de produção acima da variação na área colhida, com um aumento em seu rendimento de 1,2 t/ha, de 1996 a 2006 (IBGE, 2006; OLIVEIRA FILHO, 2011).

A quantidade de uva vendida no Nordeste obteve um avanço significativo. A Região cresceu 80,9% (60.614 a 109.630 mil toneladas entre 1996 e 2006); enquanto o País como um todo cresceu apenas 33%. O Estado que mais elevou suas vendas foi a Paraíba, com variação de 107,5%, seguido de Pernambuco, Bahia e Ceará, com 97,2%, 59% e 35% de crescimento, na respectiva ordem. O Nordeste, nos anos decorridos entre os Censos, registrou um aumento nas exportações de uva, tanto em volume quanto em valor (AGROSTAT, 2011). Este fato, como era de se esperar, refletiu em um aumento da quantidade vendida desse fruto pela Região. No Nordeste, a produção de uva é quase toda voltada para venda, tanto para mercado externo como para o restante do País. Em 2006, o Nordeste vendeu mais de 98% da sua produção. Os últimos dados revelam que o Nordeste é um dos maiores exportadores de uva in natura do País (IBGE, 2006; OLIVEIRA FILHO, 2011).

Em 2008, a região Nordeste ocupou o segundo lugar no ranking nacional de produção de uvas, com um total de 267.280 toneladas de frutos, em uma área plantada de 11.558 hectares, sendo os Estados da Bahia e Pernambuco responsáveis por 36,5% e 61,8%, respectivamente, da produção nordestina de uva neste ano, destacando-se a região do Submédio São Francisco, onde predomina o cultivo da videira europeia tanto para consumo in natura como para a produção de vinhos finos (TEIXEIRA, 2009).

De acordo com o IBGE, no ano de 2012, o plantio de uvas no Nordeste do Brasil ocupava 9.437 ha, com produção total de 287.050 t e rendimento médio de 31.043 Kg/ha. Dados de fevereiro de 2013 indicam um acréscimo de 2% desta produção, embora tivesse sido observado um decréscimo de 0,4% na área total plantada. Em relação aos estados do Nordeste, Pernambuco e Bahia foram os estados de destaque, com produção anual de 224.758 t e 62.292 t, respectivamente (IBGE, 2013).

Em relação às exportações, em 2010, representaram 99% do total de exportações no País. Porém, o Brasil como um todo, ainda exporta pouco de sua produção. Em 2008, apenas 5,8% da produção foram exportadas. Os principais importadores são os Países Europeus e os Estados Unidos que exigem uma qualidade superior do produto. Portanto, ainda há espaço para o crescimento das vendas para o mercado externo, desde que os produtores tenham suas estratégias voltadas para atender tais exigências. A Região é privilegiada pelo fato de produzir uvas o ano inteiro e assim aproveitar as melhores condições de preços quando as demais Regiões produtoras não estão produzindo (AGROSTAT, 2011; FAO, 2010).

O Nordeste também tem incrementado a produção de uvas sem sementes, que tem um excelente valor de exportação. Entretanto, a Região ainda possui uma produção modesta de industrializados deste fruto; tais como, vinhos e sucos. Nos últimos anos, os produtores nordestinos têm vislumbrado este mercado, pois se percebeu que a Região possui características que favorecem a produção de excelentes vinhos e sucos. Ademais, a produção de processados de uva gera um número significativo de empregos em torno das regiões produtoras e possibilita um maior valor agregado (OLIVEIRA FILHO, 2011).

3.1.1 Cultivo e comercialização de uvas no estado do Piauí

Embora o Estado do Piauí ainda não possua tradição no cultivo da videira, dados do ano de 2010, do IBGE, mostraram que no período de 1990 à 2008, foram registradas áreas de cultivo e produção de uvas nos municípios de Ipiranga do Piauí (2 ha /28 t), Valença do Piauí (2 ha /52 t), Teresina (3 ha /18 t), Batalha (4 ha /24 t) e São João do Piauí (6 ha /120 t.) (IBGE, 2010). A Figura 4 apresenta o zoneamento de aptidão climática da videira europeia no Estado do Piauí.

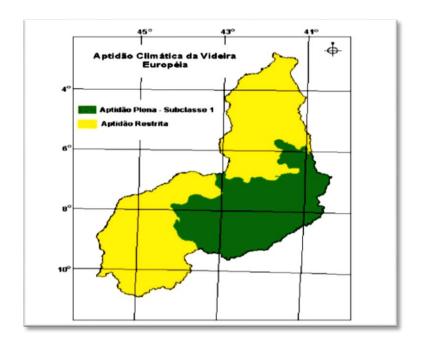


FIGURA 4: Zoneamento de aptidão climática da videira europeia no Piauí.

FONTE: Andrade Júnior et al. (2010).

Estudo realizado por Andrade Junior e Colaboradores (2009), indica que é possível o cultivo da videira no Estado do Piauí. Entretanto os reduzidos valores de precipitação pluviométrica mensal no período de maio a outubro indicam a necessidade de irrigação dos vinhedos, como forma de reduzir os efeitos do estresse hídrico no solo sobre a produção da cultura. Comportamento semelhante foi observado por Conceição e Tonietto (2005) na região norte de Minas Gerais. É importante ressaltar que, embora apresentando valores próximos para os índices climáticos, a dinâmica do clima, durante o ciclo da videira, em zonas tropicais é distinta da de zonas temperadas, já que no clima temperado o início do ciclo se dá com temperaturas amenas e crescentes; no tropical, com temperaturas elevadas em todo o período, afetando a fenologia da videira. Além disso, nos climas temperados, ocorre apenas um ciclo da videira por ano.

A região do município de São João do Piauí, mais precisamente no Assentamento Marrecas, tem merecido destaque. Trata-se de um projeto piloto que tem como objetivo incentivar o cultivo da videira européia na região semiárida do Piauí. Nesta área, são cultivados seis hectares irrigados, com as variedades Itália e Benitaka, e produtividade média de 30 t/ha.

De acordo com Andrade Júnior e colaboradores (2004) em estudo de zoneamento agrícola, com o objetivo de delimitar as regiões ou zonas do Estado do Piauí com aptidão climática para o cultivo da videira européia (Vitis vinifera L.) sob irrigação, como base para um programa de expansão do seu cultivo comercial, não ocorrem limitações de temperatura para o cultivo comercial da espécie no Estado do Piauí. Sem excesso de precipitação pluviométrica que provoque prejuízos em termos de produtividade e qualidade das uvas, as regiões com temperaturas mais elevadas proporcionam maiores concentrações de açúcar nos frutos, em detrimento de ácido málico (TEIXEIRA e AZEVEDO, 1996). A quase totalidade da superfície do Piauí (97%), durante o mês mais quente do ano (outubro), apresenta valores de temperatura média do ar variando de 28°C a 36°C.

Quanto à disponibilidade hídrica no solo, o Piauí apresenta 38,1% de sua área com aptidão plena ao cultivo da videira européia, abrangendo as regiões com tipo climático semiárido e subúmido seco, onde as baixas precipitações pluviométricas e umidade relativa do ar reduzem a ocorrência de problemas fitossanitários (ANDRADE JÚNIOR et al., 2005).

Em regime irrigado, o cultivo da videira européia no Piauí apresentou aptidão plena em 78 municípios, ocupando 27,0% da superfície do Estado (FIGURA 4). O cultivo da videira européia apresenta aptidão restrita em 145 municípios (73,0% da superfície do Piauí). A classe de aptidão plena abrangeu municípios das mesorregiões do Sudeste e Sudoeste Piauiense, notadamente, das microrregiões do Alto Médio Canindé, São João do Piauí, São Raimundo Nonato, Picos, Pio IX, Floriano e Bertolínia, onde predominam o tipo climático semiárido e subúmido seco (ANDRADE JÚNIOR et al., 2005).

Merece atenção especial os municípios de Acauã, Belém do Piauí, Betânia do Piauí, Caldeirão Grande do Piauí, Campo Alegre do Fidalgo, Capitão Gervásio Oliveira, Caridade do Piauí, Coronel José Dias, Curral Novo do Piauí, Dom Inocêncio, Francisco Macedo, Jacobina do Piauí, Jaicós, João Costa, Lagoa do Barro do Piauí, Marcolândia, Massapê do Piauí, Nova Santa Rita, Padre Marcos, Patos do Piauí, Paulistana, Pedro Laurentino, Queimada Nova, São Francisco de Assis do Piauí, São João do Piauí e Simões, que apresentam características climáticas predominantemente de clima semiárido, com níveis de Índice de Umidade (IU) inferiores a 33,3; próximos aos mesmos níveis de IU observados nas regiões produtoras de uva em Argel, na Argélia (32,8) e Varna, na Bulgária (33,6), que asseguram melhor desempenho produtivo e qualitativo da videira européia nessas regiões. Por isso, esses municípios apresentam potencial climático elevado para a produção de uva de mesa e para a produção de passas e vinhos doces (ANDRADE JÚNIOR et al., 2004).

Assim, apesar da produção de uvas no Piauí ainda ser pontual, o Estado apresenta elevado potencial para o cultivo da videira, especialmente a européia. Em regime irrigado, o cultivo da videira no Piauí mostrou-se adequado em 78 municípios, com características climáticas do semiárido e subúmido seco, com baixa precipitação e umidade relativa do ar e alta temperatura e radiação solar global. Nestas condições, os problemas fitossanitários tendem a ser menores e a qualidade do fruto melhor, com ocupação de 27% de sua superfície (ANDRADE JÚNIOR. et al., 2009).

3.1.1.1 Cultivo e comercialização de uvas no município de São João do Piauí

São João do Piauí (FIGURA 5) é um município brasileiro da região sudeste do Estado do Piauí, às margens do Rio Piauí, e à aproximadamente 450 km da capital Teresina. Está localizado a uma latitude 08°21'29" sul, a uma longitude 42°14'48" oeste e a uma altitude de 222 metros. Ocupa uma área de 1.532,43 km², possui clima semiárido quente e vegetação caatinga. De acordo o IBGE, sua população é estimada em 20.000 habitantes (IBGE, 2013).

Tem sua economia concentrada na agricultura familiar, na pecuária e mais recentemente no comércio, sendo assim uma das cidades mais importantes do Sul do Estado, possuindo uma das maiores subestações de energia do país, bem como a Barragem do Jenipapo (ANDRADE JÚNIOR. et al., 2010).



FIGURA 5: Localização geográfica do município de São João do Piauí, Piauí em relação ao Brasil (destaque em vermelho).

FONTE: MAPSTORE (2014)

Nesta região, está a localidade Capim Grosso, nome dado também a um poço jorrante da região. Está localizado à aproximadamente 30 km do Município de São João do Piauí e à aproximadamente, 500 km ao Sul de Teresina, onde em 1989, foi fundado o Assentamento Marrecas.

Os dois principais acessos até o local são; a partir da BR-230 até o município de Oeiras, passando-se pela PI-143 até o município de Simplício Mendes e, em seguida, pela BR-020 até o município de São João do Piauí; ou, a partir do município de Floriano, na BR-230, passando-se pela PI-140 até o município de Canto do Buriti e, em seguida, com acesso pela PI-141 até São João do Piauí.

O Assentamento Marrecas é o primeiro da Reforma Agrária no Piauí, com 15 anos de existência e área total é de 10.600 hectares, onde vivem atualmente cerca de 300 famílias. Além da pequena agricultura, ou agricultura de subsistência, os agricultores exploram atualmente a caprinocultura, possuindo áreas de pastagens e locais para manejo.

O poço Capim Grosso tem vazão de 120m³/h, coluna d'água de 45 metros de altura e pressão de 4 kg, que pela força de sua vazão, dispensa o uso de bombas e barateia os custos de produção. Desde 1982, não havia um aproveitamento racional da água e o que acarretava em desperdício.

Desde ao ano de 2002, a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba (CODEVASF), sob a jurisdição da 7ª SR (Superintendência Regional) da CODEVASF em Teresina-PI, vem implantando diversos projetos de aproveitamento racional da água subterrânea do poço jorrante Capim Grosso. Dentre eles, o Projeto de Irrigação Marrecas/Jenipapo, o primeiro investimento do País realizado pela CODEVASF na área de irrigação. Além de uvas, são cultivada banana, goiaba, tomate e caju.

Desde sua implantação, o Projeto tem como objetivo melhorar a renda de famílias de pequenos agricultores através da exploração racional de projetos produtivos relacionados à agricultura irrigada. Para o projeto piloto foram selecionadas pela Associação de Assentados de Marrecas, cerca de 20 famílias. Atualmente, o assentamento é dotado de água encanada, energia e escola.

A experiência com agricultura irrigada é pioneira para os moradores do Assentamento Marrecas. Até então, a criação de caprinos e ovinos era a única atividade do local. Desde a implantação do Projeto, toda a água está sendo direcionada para a plantação através de um sistema de irrigação denominado de micro-aspersão (sistema de irrigação localizada onde a água é aspergida através de microaspersores próximo ao sistema radicular das plantas). É um sistema de baixa manutenção, alto desempenho e resistência mecânica, que permite a irrigação de áreas de formas e tamanhos diferentes, conforme a necessidade do projeto.

De acordo com recortes de relatos dos moradores do Assentamento, descritos abaixo, a agricultura irrigada garantiu melhores condições de vida às pessoas daquela localidade.

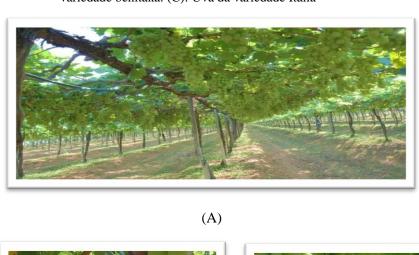
> ... "Passamos 15 dias comendo maxixe, já pensou você acordar todos os dias e ter que dar maxixe para seus filhos? Não é fácil. Hoje, temos a uva, a melancia, a goiaba, feijão, então foi uma mudança radical", acrescentou a agricultora, destacando ainda a construção da Igreja pelos próprios populares e a energia elétrica. Antes era no candeeiro e na vela"...(M.F.S, 45 anos).

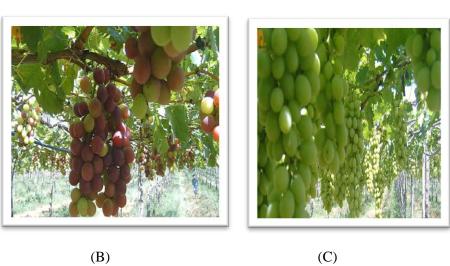
> > ... "Nem eu mesmo acredito nisso aqui. A gente não conhecia nada da uva. Estamos muito felizes e altos demais até"...(J.S.R, 37 anos).

O Projeto viabiliza a irrigação de 150 hectares de hortifrutigranjeiros, construção de aproximadamente 6.500 m de adutoras, chafarizes e bebedouros em diversos locais da área, bem como a implantação de uma área experimental de para o cultivo de videira (FIGURA 6), possibilitando a um grupo de agricultores o desenvolvimento da atividade de forma prática, com erros e acertos que, com o passar dos anos, trouxeram mais adeptos e reforçaram a viabilidade de planejamento e a implantação de um parreiral cada vez maior.

A topografia da área do projeto varia entre plana e suavemente ondulada, com boa drenagem, favorecendo a agricultura mecanizada e a irrigação. A existência de solos com boa profundidade (cerca de 8 metros) e de textura média favorece o desenvolvimento do sistema radicular das plantas, principalmente de espécies perenes (frutíferas). Por outro lado, por apresentar uma baixa capacidade de troca catiônica (CTC), necessita normalmente da utilização de um programa de adubação e correção do solo, visando atender à demanda das plantas em nutrientes, especialmente no caso de cultivos intensivamente explorados (ANDRADE JÚNIOR. et al., 2010).

FIGURA 6: (A): Área experimental para cultivo da videira no Assentamento Marrecas. (B): Uva da variedade benitaka. (C): Uva da variedade Itália





FONTE: ACESSEPIAUI (2012)

A primeira colheita de uvas aconteceu em agosto de 2008, quando foram colhidas 17t/ha, em uma área de quatro hectares. Parte da produção foi consumida em São João do Piauí, e o restante, comprado pelo Governo Estadual através do Programa Compra Direta, da Secretaria do Desenvolvimento Rural (SDR). Em seu primeiro ano de colheita, a produção comprada pelo governo rendeu R\$ 40 mil aos agricultores. No ano de 2013, foram colhidos aproximadamente 30 toneladas de uva/ha, numa área de seis hectares e distribuídos em duas safras.

Embora a área plantada indique pequeno crescimento, a produtividade ganhou força e, atualmente, há condições de se conseguir até três colheitas por ano, rendendo algo em torno de 360 mil quilos de uva.

Atualmente, um grupo de dez mulheres é responsável por uma associação de processamento de frutas, com produção de doce, licor e geleia de frutas, inclusive de uva, que são vendidas no comercio local; contribuindo para um incremento maior na renda familiar destas mulheres.

4. AGRICULTURA E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS

Nos primórdios da civilização, o homem supria suas necessidades básicas por meio da caça e da pesca, sem interferir negativamente com o meio ambiente. No entanto, com o aumento da população e a consequente escassez de alimentos, o homem passou a cultivar o solo, dando origem à agricultura e consequentemente, à geração de resíduos, que inicialmente eram constituídos basicamente de restos de vegetais e excrementos humanos e de animais (RODRIGUES, 2010).

Com o advento da Revolução Industrial e a consequente produção de bens de consumo em grande escala e aumento da industrialização, a geração de resíduos tornou-se cada vez maior e mais diversificado, ocasionando maiores prejuízos ao meio ambiente uma vez que a taxa de resíduos gerados é maior que a taxa de degradação destes (RODRIGUES, 2010).

De acordo com Matos (2005), a produção de resíduos agrícolas é extremamente variável, dependendo de fatores, tais como, a espécie cultivada, o fim a que se destinam condições de fertilidade do solo, condições climáticas, dentre outros. Além disso, a geração de resíduos agroindustriais é sazonal, e por isso, diz-se que existe alta instabilidade do volume produzido. As estimativas da geração de resíduos orgânicos oriundos das agroindústrias associadas à agricultura brasileira representaram em torno de 290.838.411t em 2009. Os resíduos que mais contribuíram com estes valores foram os de cana-de-açúcar (671.394.957t), soja (57.345.382t), milho (50.745.996t), mandioca (23.786.281t), laranja (16.944.529t), uva (614.574t) e castanha de caju (110.253t). O uso energético desses resíduos poderia representar um potencial energético instalado de até 23 GW/ano (Giga-Watt-Hora/ano), o que equivale a 201.471 GWh/ano (BRASL, 2011).

A Legislação Brasileira através do Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, conceitua resíduo como "toda substância ou mistura de substâncias remanescentes ou existentes em alimentos ou no meio ambiente, decorrente do uso ou não de agrotóxicos e afins, inclusive qualquer derivado específico, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, considerados toxicológica e ambientalmente importantes" (BRASIL, 2002c).

O agronegócio vem sendo, desde o processo de modernização e industrialização da produção agropecuária, objeto de diversas pesquisas e debates. A partir de 1980, a geração, a adaptação, a transferência e a adoção de inovações tecnológicas possibilitaram ganhos de produtividade expressivos (GASQUES e BASTOS, 2003). A agroindústria faz parte do agronegócio, sendo basicamente o setor que transforma ou processa matérias-primas agropecuárias em produtos elaborados, agregando valor ao produto. Dentre as diversas definições para o termo agroindústria, Lauschner (1995), define como "a unidade produtora que transforma o produto agropecuário natural ou manufaturado para a sua utilização intermediária ou final".

Os significativos avanços no desempenho do agronegócio implicaram na geração de resíduos nas atividades agropecuária e agroindustrial. Pesquisas científicas apontam, a partir da década de 1980, para o agravamento de problemas ambientais globais, como a destruição da camada de ozônio, o efeito estufa e o comprometimento da biodiversidade, além dos impactos locais provenientes da geração de resíduos líquidos e sólidos. Estes problemas demandaram a rediscussão do modelo de desenvolvimento que se mostrava limitados por seus efeitos sobre a sustentabilidade (ROSA et al, 2011).

Os resíduos agroindustriais são gerados no processamento de alimentos, fibras, couro, madeira, produção de açúcar, produção de álcool etc. Os resíduos agroindustriais podem ser sólidos ou líquidos. Os resíduos agroindustriais líquidos podem ser o resultado da lavagem do produto, escaldamento, cozimento, pasteurização, resfriamento e lavagem do equipamento de processamento e das instalações. Os resíduos agroindustriais sólidos são constituídos pelas sobras de processo e descartes de matadouros e indústrias do processamento de carnes (vísceras e carcaça de animais), frutas e hortaliças (bagaço, tortas, refugo e restos), indústria da celulose e papel (resíduos da madeira, curtume (aparas de couro e lodo do processo e tratamento de águas residuais) e lixo proveniente de embalagens, além de lixo gerado no pátio, refeitório e escritório da agroindústria). Resíduos sólidos orgânicos provocam fermentação, com formação de ácidos orgânicos e geração de odores desagradáveis e diminuição do oxigênio dissolvido em águas superficiais; além de ser fonte nutritiva para proliferação de microorganismos e macrovetores, tais como moscas, ratos, baratas etc (MATOS, 2005; RODRIGUES, 2010).

A geração de resíduos está associada ao desperdício de matéria-prima, às perdas entre a produção e o consumo. Estima-se que, em média, 35% da safra de grãos, de frutas e de hortaliças colhidas no Brasil sejam desperdiçados no caminho entre a lavoura e o consumidor. Isso significa que mais de 10 milhões de toneladas de alimentos poderiam estar na mesa dos 54 milhões de brasileiros que vivem abaixo da linha da pobreza (IPEA, 2009). Resíduos podem representar perda de nutrientes, além de aumentar o potencial poluidor associado à disposição inadequada que, além da poluição de solos e de corpos hídricos quando da lixiviação de compostos, acarreta problemas de saúde pública (CARIOCA e ARORA, 2000).

Em todo o mundo e principalmente no Brasil, que possui sua economia fortemente baseada no agronegócio, são geradas grandes quantidades de resíduos pelas indústrias processadoras de alimentos, que apesar de serem considerados sérios problemas ambientais, podem servir em muitos dos casos, como fontes ricas de compostos bioativos, incluindo substâncias antioxidantes e antimicrobianas. Assim estes resíduos podem ser considerados fontes potenciais desses compostos naturais, de modo que, ao serem aproveitados, resultam em maiores ganhos econômicos, diminuindo simultaneamente, o impacto do descarte destes ao ambiente (MAKRIS, BOSKOU e ANDRIKOPOULOS, 2007).

Atenção especial tem sido voltada à minimização ou reuso de resíduos e ao estabelecimento de novos usos de produtos e subprodutos agroindustriais. De forma geral, os resíduos da agroindústria de processamento de produtos de origem vegetal apresentam em suas composições diferentes constituintes, que abrem muitas oportunidades de agregação de valor nutricional e econômico.

4.1 Resíduos agrícolas de uva

Em geral, os resíduos agrícolas de processamento de produtos de origem vegetal (frutas, cereais, leguminosas, oleaginosas), apresentam em suas composições diferentes constituintes. Os resíduos agrícolas da uva são compostos principalmente por subprodutos sólidos, como o engaço, o bagaço e por material filtrado dos líquidos. O engaço é formado pela armação do cacho da uva que suporta o fruto e representa de 3% a 7% do peso total do cacho. Dentre seus constituintes estão a água, celulose, taninos e minerais. O bagaço da uva é um subproduto constituído pela casca ou película, as sementes e os restos da polpa da uva, sendo o resultado do esmagamento do grão através de um processo de separação do suco ou mosto (sumo de uva fresca antes da fermentação). Em condições normais, o bagaço equivale a 12% a 15%; podendo chegar à 20% do peso da uva (ISHIMOTO, 2008; FERREIRA, 2010; YU e AHMEDNA, 2013).

O bagaço, constituído de água, glicídios, lipídeos, vitaminas e minerais, possui também compostos com propriedades biológicas importantes, tais como fibras e compostos fenólicos, dependendo do tipo de bagaço, a natureza das castas de que provêm, as condições climáticas e de cultivo (ROCHENBACH, 2008; OLDONI, 2010).

4.2 Valorização de resíduos da agricultura

Existem inúmeros resíduos da agricultura (principalmente cascas, sementes, talos aparas e engaços) que têm potencial para a alimentação humana, devido às suas excelentes características nutritivas e à suas propriedades funcionais; contribuindo também para um menor desperdício e maior rentabilidade industrial (SILVA et al., 2014).

Segundo Pelizer, Pontieri e Moraes (2007), os resíduos podem conter muitas substâncias de alto valor agregado e se for aplicado uma tecnologia adequada, este material pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários. Inúmeros estudos utilizando resíduos industriais do processamento de alimentos têm sido realizados com objetivo de aproveitamento destes, minimizando-se o impacto ambiental na região onde estas indústrias estão situadas e agregando-se valor aos produtos do mercado.

Ferrari et al. (2004) realizaram um estudo para caracterizar e verificar um melhor aproveitamento das sementes excedentes do processamento do suco do maracujá na alimentação humana. Segundo os autores, cascas e sementes de maracujá, provenientes do processo de corte e extração da fruta para obtenção do suco, são ainda, atualmente, em grande parte descartada. Como este descarte representa inúmeras toneladas, agregar valor a estes subprodutos é de interesse econômico, científico e tecnológico.

Borges et al. (2004) desenvolveram um estudo sobre a viabilidade da utilização de resíduos das indústrias de conserva de abacaxi da região de Pelotas -RS para a produção de suco. O processamento do suco-base foi feito a partir da obtenção das cascas, centros e aparas da fruta e consistiu das etapas de branqueamento, prensagem e filtragem. Conclui-se que é viável a elaboração de suco de abacaxi a partir de resíduos de sua industrialização.

Kobori e Jorge (2005) realizaram um estudo, cuja finalidade foi caracterizar os óleos extraídos das sementes de laranja, maracujá, tomate e goiaba, como aproveitamento de resíduos industriais. As análises realizadas indicaram que esses óleos possuem características físico-químicas semelhantes a alguns óleos comestíveis, podendo ser uma nova fonte de óleos para o consumo humano.

Reda et al. (2005) fizeram a caracterização dos óleos essenciais de limão rosa e de limão siciliano, considerados resíduos industriais e concluíram que têm propriedades semelhantes aos dos óleos comestíveis com boa perspectiva de utilização na produção de alimentos.

5. BIOTECNOLOGIA E AGRICULTURA

A biotecnologia é realizada pelo homem desde aproximadamente 6.000 anos a.C., a partir dos relatos de que os microorganismos eram usados nos processos fermentativos para produção da cerveja e do pão por babilônicos e suméricos; 4.000 anos a.C. os egípcios já fabricavam pães e em 1800 a.C. quando se iniciou a utilização de fermento na produção de vinho. No entanto, as bases fundamentais da biotecnologia agrícola consideram a biologia molecular e as técnicas relacionadas como os eventos mais importantes da história da biotecnologia (CARRER, BARBOSA e RAMIRO, 2010).

Inicialmente, a biotecnologia esteve focada na questão da saúde humana e animal, em que se utilizou de microorganismos para a fabricação de antibióticos. Relatos de culturas de células in vitro são datados da Segunda Guerra Mundial, quando cultura de Penicillum notarum era usada para a produção do antibiótico penicilina cuja ação como antibiótico foi descoberta por Alexander Fleming em 1929 (BENNETT e CHUNG, 2001). Mas foi na década de 1970 que ocorreu o início das metodologias de uso do DNA recombinante e do sequenciamento do DNA que proporcionaram grandes avanços na ciência de plantas. A seguir, foram listados os principais eventos que marcaram os avanços da biotecnologia desde 1953 quando James Watson e Francis Crick descreveram a estrutura do DNA até os dias atuais (CARRER, BARBOSA e RAMIRO, 2010).

De acordo com Borzani et al. (2001), o termo biotecnologia refere-se a aplicação da bioquímica, da biologia, da microbiologia e da engenharia química aos processos e produtos industriais (incluindo os produtos relativos a saúde, energia e agricultura) e ao meio ambiente.

Estudos utilizando a biotecnologia têm contribuído para os cuidados de saúde, no que se refere ao tratamento de doenças cardiovasculares, autoimunes, neurodegenerativas, entre outras (FREI, 1994; BIANCHI e ANTUNES, 1999; WARIS e AHSAN, 2006; HALLIWELL, 2007; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

A biotecnologia tem revolucionado a agricultura com modernas tecnologias que nos permitem identificar e selecionar genes que codificam características benéficas para serem usados como marcadores moleculares nos processos de seleção assistida, ou ter a expressão de um determinado gene em outro organismo por transgenia e, assim, com maior precisão, obter novas características agronômicas e nutricionais desejáveis nos cultivos de plantas; além da identificação e quantificação de propriedades antioxidantes e funcionais em espécies vegetais e em seus subprodutos. Pode também contribuir com a sustentabilidade e a segurança da produção alimentar, manutenção da biodiversidade e minimização da ocupação dos solos e desmatamento (PELIZER, PONTINERI e MORAES, 2007; CARRER, BARBOSA e RAMIRO, 2010).

5.1 Biotecnologia e atividade antioxidante

Os produtos da agroindústria e muitos dos seus resíduos são ricos em compostos bioativos, que exercem efeito antioxidante no combate à formação de radicais livres e por consequência disso, promovem benefícios à saúde humana (VIEIRA et al., 2011; SCOLA et al., 2011; COSTA, 2012).

Para melhor entendimento das propriedades biotecnológicas dos antioxidantes, faz-se necessário um breve entendimento sobre a formação dos radicais livres e os mecanismos de oxidação lipídica.

5.1.1 Radicais Livres e oxidação lipídica

Quimicamente, os radicais livres podem ser definidos como moléculas orgânicas, inorgânicas e átomos que contém um ou mais elétrons não pareados (que ocupa sozinho um orbital atômico ou molecular) na sua última camada eletrônica, tornando-os altamente reativos, provocando reações em cadeia que desestabilizam o meio molecular, interferindo de forma negativa na manutenção de funções fisiológicas do organismo e consequente surgimento de doenças (GILLHAN et al., 1997; RAHMAN, 2007; FERNANDEZ-PANCHON et al, 2008; BERGAMASCHI, 2010; MACHADO, 2010; BARRETO, 2011; COSTA, 2012; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Estes radicais livres podem ser produzidos a partir de átomos de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio, sendo que os radicais livres derivados do oxigênio são os mais reativos e danosos. Pela sua configuração eletrônica, o oxigênio tende a receber um elétron de cada vez, formando compostos intermediários altamente reativos, tais como o ânion superóxido (O₂), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (OH) (ISHIMOTO, 2008). Estas espécies são também conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio - ERO, onde o elétron encontra-se livre em sua órbita externa e centrado nos átomos de oxigênio, ou Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN), onde o elétron encontra-se livre em sua órbita externa e centrado nos átomos de nitrogênio (HILGEMANN, 2010; ISHIMOTO, 2008). As principais ERO distribuem-se em dois grupos, as radicalares: hidroxila (OH[•]), superóxido (O_{2•}), peroxila (ROO•), alcoxila (RO•) óxido nítrico (NO•) e as não-radicalares: oxigênio singleto (1O₂), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o ácido hipocloroso (HOCl). Dentre as ERN incluem-se o óxido nítrico (NO^{*}), o óxido nitroso (N₂O₃) e o peroxinitrito (ONOO), dentre outros (GILLHAM et al., 1997; SIES, 1997; MACHADO, 2010; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Os radicais livres ocorrem naturalmente no metabolismo celular com funções na fagocitose, durante a fosforilação oxidativa; mecanismo usado pelas células para produzir energia química (Adenosina Trifosfato - ATP), regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas, ou pela exposição à fatores exógenos, como tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, pesticidas, luz ultravioleta e radiações (JUNQUEIRA e RAMOS, 2005; OLDONI, 2010; MONTEIRO, 2011). Uma exposição prolongada a estes fatores (poluição atmosférica, irradiações, tabagismo, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas), dentre outras situações, leva à formação de radicais livres, que causam peroxidação dos lipídios de membrana e agressão à proteínas dos tecidos e membranas, enzimas, carboidratos e DNA (Ácido desoxirribonucleico), levando ao envelhecimento celular e surgimento de diversas doenças crônicas e degenerativas (ISHIMOTO, 2008; BERGAMASCHI, 2010; BARRETO, 2011; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Em condições fisiológicas normais, as ERO podem desempenhar importante papel fisiológico na regulação da resposta imunológica, participando do processo fagocítico de defesa contra infecções e atuando como fatores de transcrição na sinalização intracelular, induzindo a apoptose (HALLIWELL, 1994; CAROCHO e FERREIRA, 2013). No entanto, o aumento na sua produção e/ou a redução na sua eliminação gera um desequilíbrio fisiológico, caracterizando o estresse oxidativo (FINKEL e HOLBROOK, 2000; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2000; JUNQUEIRA e RAMOS, 2005; OLIVEIRA, 2008).

O acúmulo destas espécies leva a danos celulares e seus principais alvos são o DNA (ácido desoxirribonucléico), moléculas de RNA (ácido ribonucléico), lipídios, proteínas e açúcares (FIGURA 7); levando em conta o local onde a espécie reativa é gerada, a suscetibilidade de uma molécula ser oxidada e a disponibilidade de íons metálicos associados a essa biomolécula (ISHIMOTO, 2008, CAROCHO e FERREIRA, 2013).

PROTEÍNAS Oxidação de um aminoácido específico Clivagem de um peptideo mediada por radical livre Formação de ligações cruzadas devido à reacção com produtos de peroxidação lipídica LIPÍDEOS Sitios base-livre $L-H+OH \rightarrow H_2O+L$ Supressão Modificações bases L-H + CCl3O2 · → L · + CCl3OH **ALVO DOS** Mudanças estruturais **RADICAIS LIVRES** Quebra cadeias L - H + HO 2 - L · + H2O2 Ligação cruzada DNA-Proteina Arranjos cromossômicos **CARBOIDRATOS** Fragmentação Não-ciclilização Glicoaldeído não-enzimática de açúcar Radical ≈cH₂ Superóxido Autooxidação Reação em cadeia a-dicarbonila β-dicarbonila

FIGURA 7: Principais alvos dos radicais livres.

FONTE: Adaptado de: Carocho e Ferreira (2013).

Com relação às proteínas, existem três mecanismos de ação dos radicais livres: (1) oxidação de um aminoácido específico, (2) clivagem de um peptídeo mediada por radical livre e (3) a formação de ligações cruzadas devido à reacção com produtos de peroxidação lipídica (LOBO, PHATAK e CHANDRA, 2010; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

O dano induzido pelos radicais livres ao DNA pode ser descrito tanto quimicamente e estruturalmente com um padrão característico de alterações: produção de sítios de base-livre, supressões, modificações de todas as bases, mudanças de estrutura, quebras de cadeias, ligação cruzada DNA-proteína e arranjos cromossômicos (CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Quanto aos açúcares, a formação de radicais livres de oxigénio, ocorre durante as fases iniciais da glicosilação, com fragmentação não enzimática de açúcar produzindo espécies de cadeia curta, como glicoaldeído cuja cadeia é muito curta para ciclizar e, por conseguinte, sujeito a auto-oxidação, formando o radical superóxido. A reação em cadeia resultante propagada por este radical pode formar compostos α e β-dicarbonils, que são mutagénicos (BENOV e BEEMA, 2003; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Embora proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos sejam suscetíveis à oxidação, os ácidos graxos insaturados são mais instáveis, devido às suas múltiplas duplas ligações, e, portanto, mais propensos à oxidação (MARTINS, 2010).

A oxidação lipídica de ácidos graxos insaturados nas membranas lipídicas celulares ou peroxidação lipídica pode ser definida como uma série de eventos bioquímicos resultantes da ação de radicais livres sobre os lipídeos insaturados das membranas, produzindo principalmente radicais hidroxilas, peroxilas e alcoxilas e consequente alterações na membrana celular, tais como destruição da sua estrutura, causando perda de fluidez, alteração das funções secretora e perda da seletividade na troca iônica, com liberação de conteúdos de organelas e formação de produtos citotóxicos e até morte celular (SOUSA et al, 2007; BERGAMASCHI, 2010; BARRETO, 2011).

O mecanismo da oxidação lipídica é descrito como uma reação em cadeia envolvendo os estágios de iniciação, propagação e terminação (FIGURA 8).

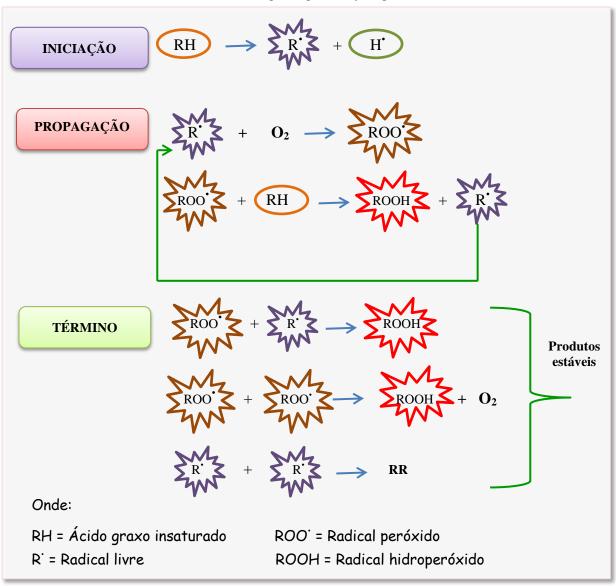
A iniciação ocorre quando um átomo de hidrogênio é retirado de uma molécula de ácido graxo insaturado (RH) para formar um radical livre (R') (KIRK e OTHMER, 1978; BRAUN e OMEIS, 2001; HILGEMANN, 2010; MARTINS, 2010; RAVELLI, 2011).

A fase de propagação envolve a reação do radical livre (R*) com o oxigênio molecular (O₂) para formar um radical peróxido (ROO^{*}) que pode capturar um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado (RH) e propagar uma reação em cadeia. Os hidroperóxidos formados (ROOH) podem sofrer uma cisão para formar radicais alcoxila (RO') e hidroxila (HO^{*}) que são capazes de propagar ainda mais a reação (KIRK e OTHMER, 1978; BRAUN e OMEIS, 2001; HILGEMANN, 2010; MARTINS, 2010; RAVELLI, 2011).

A terminação envolve a reação entre radicais livres para formar produtos estáveis secundários da oxidação (KIRK e OTHMER, 1978; BRAUN e OMEIS, 2001; HILGEMANN, 2010; MARTINS, 2010; RAVELLI, 2011).

A peroxidação lipídica pode ocorrer por via enzimática e não enzimática. A via enzimática de peroxidação lipídica envolve as enzimas ciclooxigenases e lipoxigenases na oxigenação dos ácidos graxos poliinstaturados. A via não enzimática envolve a participação de espécies reativas de oxigênio, espécies reativas de nitrogênio, metais de transição e outros radicais livres (BERGAMASCHI, 2010).

FIGURA 8: Etapas da peroxidação lipídica.



FONTE: Adaptado de: Ramalho e Jorge (2006).

Em média, o corpo humano produz diariamente mais de 10 bilhões de ERO via reações de auto-oxidação e metabólicas, principalmente pelo sistema de transferência de elétrons mitocondrial. O dano celular ou até mesmo a morte celular pode ocorrer quando o potencial do sistema defensivo é excedido pela concentração ERO, ou quando eles são gerados próximos a locais onde as defesas não são fortes o suficiente (GONZÁLEZ, 2008; HILGEMANN, 2010).

A consequência direta do ataque de ERO é o dano oxidativo a várias biomoléculas, o que, combinado à idade, pode contribuir para o desenvolvimento de inúmeras doenças, como arteriosclerose, cardiopatias, diabetes, catarata, certos tipos de câncer, lesões inflamatórias, doenças autoimunes (artrite reumatoide), distúrbios renais e hepáticos, úlceras gástricas, doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer, entre outras (FREI, 1994; BIANCHI e ANTUNES, 1999; WARIS e AHSAN, 2006; HALLIWELL, 2007; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Em alimentos, resulta em produção de sabores indesejáveis, odores de ranço, descoloração e outros produtos de degradação que além de provocar outras alterações que reduzem a vida útil dos produtos e podem gerar produtos citotóxicos. Além disso, podem afetar a qualidade nutricional dos alimentos, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis, vitamina C e ácidos graxos essenciais; podendo também causar irritação da mucosa intestinal, provocando diarreia e diminuição da capacidade de absorção dos nutrientes, além do comprometimento da integridade e segurança destes alimentos (ANTONIASSI, 2001; MACHADO, 2009; MUSA et al., 2013).

O estresse oxidativo, corresponde ao desequilíbrio entre a produção de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante, que conduz a um aumento intracelular de espécies oxidantes. É assim, um efeito químico, com repercussões biológicas, provocado por espécies oxidantes sobre os tecidos vivos. A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de radical livre superior à capacidade de defesa pode causar danos e morte celular (SIES, 1993; COSTA, 2008).

5.1.2 Os Antioxidantes

Do ponto de vista bioquímico, o organismo humano possui sistemas de defesa contra o estresse oxidativo, que incluem os sistemas enzimáticos (especialmente superóxido dismutase, glutationa peroxidase e catalase) e a ação dos antioxidantes não enzimáticos, compostos principalmente por vitaminas, principalmente C e E; polifenóis, flavonoides; carotenoides e licopeno. As ações destes compostos são de neutralizar radicais livres, quelar metais e bloquear a ação de espécies reativas, principalmente as de oxigênio (DEL RÉ e JORGE, 2012).

O termo antioxidante foi inicialmente usado referindo-se especificamente a uma substância química que impedisse o consumo de oxigênio. No fim do século XIX e início do século XX, foram realizadas pesquisas sobre o uso de antioxidantes em importantes processos industriais, como na prevenção da corrosão do metal, a vulcanização da borracha, e a polimerização de combustíveis na incrustação em motores de combustão interna. A investigação sobre a forma como a vitamina E previne o processo da peroxidação dos lípidos levou à identificação do antioxidante como agente redutor que previnem reações de oxidação, frequentemente pela neutralização das espécies reativas do oxigênio antes que estas possam danificar as células (SIES e STAHL, 1995).

Podem ser definidos como qualquer substância que, quando presentes mesmo em baixas concentrações e quando comparada com um substrato oxidável atrasa ou inibe a oxidação deste de maneira eficaz (KIRK e OTHMER, 1978; HALLIWELL e GUTERIDGE, 1990). Anos depois, era definida como "qualquer substância que atrasa ou inibe os danos oxidativos a uma molécula alvo" (HALLIWELL, 2007).

Os antioxidantes podem inibir a peroxidação lipídica, interagindo com radicais peroxila ou alcoxila. De acordo com Sousa et al. (2007), a limitação na disponibilidade de antioxidantes no organismo pode levar ao surgimento de lesões de caráter cumulativo. Assim, os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células. Em óleos vegetais, para aumentar a resistência à oxidação, é necessário o uso de um antioxidante do tipo que provoca a quebra da cadeia, como os compostos fenólicos, ou do tipo decompositor de hidroperóxidos. Óleos vegetais geralmente contêm antioxidantes fenólicos, os tocoferois e tocotrienois (SOUSA et al., 2007).

Além disso, outros efeitos positivos estão ligados aos antioxidantes, como a sua aplicação na indústria, para a produção de cosméticos, fármacos e alimentos, prevenindo a decomposição oxidativa desses pela ação da luz, temperatura e umidade (BARREIROS et al., 2006; COSTA, 2012).

De acordo com Ravelli (2011), os antioxidantes são adicionados em óleos, gorduras e alimentos processados a fim de prevenir ou retardar a deterioração oxidativa desses alimentos suscetíveis á oxidação.

Diversas pesquisas envolvendo substâncias bioativas, especialmente os antioxidantes naturais têm merecido destaque no mundo científico devido, principalmente, aos seus efeitos sobre os radicais livres e consequentes benefícios à saúde humana (CATANEO et al, 2008; SOARES et al, 2008; BERGAMASCHI, 2010; BALESTRO, SANDRI e FONTANA, 2011; VIEIRA et al., 2011; SCOLA et al., 2011; COSTA, 2012).

5.1.2.1 Mecanismo de ação dos antioxidantes

Os antioxidantes podem atuar por meio dos seguintes mecanismos: (1) bloqueio da etapa de iniciação, tanto pela inibição enzimática ou por quelar elementos de pequenas quantidades, tais como ferro e cobre, envolvidos na produção de radicais livres, de forma a impedir sua interação com alvos celulares; são exemplos enzimas antioxidantes, tocoferóis, flavonoides e carotenoides; (2) bloqueios da etapa de progressão da cadeia radicalar, sequestrando radicais intermediários; como exemplos têm-se a Vitamina E, flavonoides e antioxidantes sintéticos; e finalmente (3) reparação das lesões oxidativas; por meio de proteases e fosfolipases (DANTAS-JUNIOR, 2008; MARTINS, 2010; CAROCHO e FERREIRA, 2013). Geralmente, em um sistema complexo, admite-se que mais de um mecanismo esteja envolvido causando o efeito sinérgico (KIRK e OTHMER, 1978).

5.1.2.2 Classes de antioxidantes

Os antioxidantes podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são geralmente produzidos pelo próprio organismo, os chamados antioxidantes endógenos, o qual inclui várias enzimas (superóxido dismutase, catalase, glutationa peroxidase, glutationa redutase) e moléculas antioxidantes de alto e baixo peso molecular (glutationa, ácido úrico, bilirrubina, albumina) (KAUR e KAPOOR, 2001; RAHMAN, 2007; BERGAMASCHI, 2010; NATIVIDADE, 2010; BARRETO, 2011; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos estão incluídas substâncias com capacidade de proteger os sistemas biológicos contra reações oxidativas e seus efeitos deletérios, sendo que tais compostos podem também ser produzidos endogenamente como a bilirrubina, glutationa, melatonina, ácido úrico; ou então obtidos por meio da alimentação diária, os antioxidantes exógenos, que incluem o ácido ascórbico (vitamina C), a vitamina E, a vitamina A, os carotenoides, zinco, cobre, selênio e os compostos fenólicos. Os compostos fenólicos atuam protegendo as células vivas e alimentos in natura, bloqueando a ação de radicais livres, formados pela oxidação química e ou enzimática (lipoxigenase e cicloxigenase), envolvidas na oxidação de ácidos graxos poliinsaturados e, consequentemente, na formação de peróxidos (NATIVIDADE, 2010; BARRETO, 2011; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Estudos revelam que os antioxidantes exógenos são essenciais para a resistência ao estresse oxidativo, principalmente os presentes nos produtos de origem vegetal: compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenóides (McLEAN et al., 2005; LAGUERRE et al., 2007; SILVA et al., 2010; COSTA, 2012).

O mecanismo de ação antioxidante pelo qual um composto exerce sua ação permite classifica-los em primários e secundários (RAMALHO e JORGE, 2006; JARDINI, 2010). Os antioxidantes primários interrompem a cadeia de reações envolvidas na oxidação lipídica através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres convertendo-os em produtos mais estáveis termodinamicamente. São exemplos de antioxidantes primários: compostos fenólicos, tocoferóis, aminoácidos, butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (RAMALHO e JORGE, 2006; BERGAMASCHI, 2010; JARDINI, 2010).

Os antioxidantes secundários (sinergistas) atuam de forma sinergista regenerando o antioxidante primário ou inativando íons metálicos, neutralizando seu efeito pró-oxidante (BERGAMASCHI, 2010; JARDINI, 2010; RAMALHO e JORGE, 2006).

Para Oldoni (2010), estas definições não limitam a atividade antioxidante a um grupo específico de compostos químicos e nem se referem a um mecanismo particular de ação. Para análises in vivo, o conceito de antioxidante inclui enzimas antioxidantes, ligações de ferro e proteínas transportadoras e outros compostos que afetam o sinal de transdução e expressão gênica. Já para alimentos e bebidas, antioxidantes podem ser relacionados à proteção da oxidação de substratos específicos ou a formação de produtos de oxidação específicos, e podem variar entre os diferentes produtos.

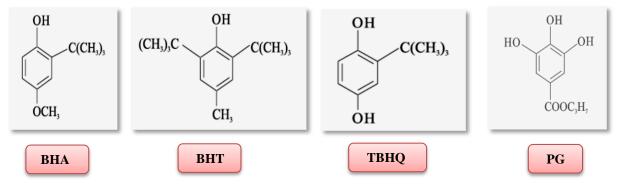
5.1.2.2.1 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos, principalmente BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butilhidroxi-tolueno) e TBHQ (tercibutil- hidroxiquinona), são comumente utilizados para a preservação de alimentos, principalmente por indústrias de óleos e derivados lipídicos para evitar o processo de oxidação (CARROCHO e FERREIRA, 2013).

A estrutura fenólica destes compostos (FIGURA 9) permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres (RAMALHO e JORGE, 2006).

O BHA é um antioxidante mais efetivo no combate á oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. Como a maior parte dos antioxidantes fenólicos, sua eficiência é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes. Apresenta pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mas é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como aqueles contidos em óleo de coco e palma. O BHT tem propriedades similares ao BHA, porém, enquanto o BHA é um sinergista para propilgalatos, o BHT não é. BHA e BHT podem conferir odor em alimentos quando aplicados em altas temperaturas em condição de fritura, por longo período. O BHA e o BHT são sinergistas entre si. O BHA age como seqüestrante de radicais peróxidos, enquanto o BHT age como sinergista, ou regenerador de radicais BHA. O TBHQ é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras e não se complexa com íons de cobre e ferro, como o galato de propila (PG). É considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais que BHA ou BHT; em relação à gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT. O TBHQ é considerado também o melhor antioxidante para óleos de fritura, pois resiste ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados. Ácido cítrico e TBHQ apresentam excelente sinergia em óleos vegetais (RAMALHO e JORGE, 2006).

FIGURA 9: Representação da estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ e PG.



FONTE: Ramalho e Jorge (2006)

No entanto, devido à suas propriedades carcinogênicas, pesquisas sobre o potencial de aplicação de antioxidantes naturais provenientes de origem vegetal, têm recebido maior atenção da comunidade científica (BARRETO, 2011; COSTA, 2012). Por estes motivos, o uso destes antioxidantes em alimentos é limitado e têm seu uso aprovado em alimentos após investigações que comprovam sua segurança dentro de um limite de ingestão diária, e seu consumo está sujeito à legislação específica de cada país ou normas internacionais (TIVERON, 2010). De acordo com a Norma Geral de Aditivos Alimentares do Codex, que limita o uso de antioxidantes de acordo com a categoria do alimento, o seu consumo varia de 175 a 400 mg/kg para BHA, de 75 a 400 mg/Kg para BHT e de 100 a 400 mg/Kg para TBHQ (RAMALHO e JORGE, 2006; FAO, 2013).

De acordo com a European Food Safety Authority (EFSA), a ingestão diária aceitável para BHT é de 0,25 mg/kg de peso corporal/dia e de 1,0 mg/kg de peso corporal/dia para o BHA (EFSA, 2011; EFSA, 2012). Em relação ao TBHQ, a recomendação da EFSA é de 0,7 mg/kg de peso corporal/dia (EFSA, 2004).

Os antioxidantes sintéticos requerem testes extensos e de custo elevado para comprovar a sua segurança para aplicação em alimentos e, por esta razão, a busca por substitutos naturais para os antioxidantes sintéticos tem elevado o número de pesquisas envolvendo os alimentos de origem vegetal, que são potenciais fontes destas substâncias. De acordo com Ravelli (2011), os antioxidantes sintéticos apresentam o inconveniente de serem voláteis (durante o processamento térmico à 185°C ocorrem volatilização e decomposição destes componentes).

São características desejáveis de um antioxidante: a eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%), ausência de agentes indesejáveis na cor, sabor, odor e outras características dos alimentos, estabilidade durante o processamento e armazenamento e seus produtos de oxidação não serem tóxicos (TIVERON, 2010).

5.1.2.2.2 Antioxidantes naturais

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de vegetais e plantas, sendo considerados excelentes compostos bioativos, por serem fontes de terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Entre estes estão o ácido ascórbico, Vitamina E, carotenóides e uma ampla variedade de compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE, PERIAGO e ROS, 2000; MELO, 2010; BARRETO, 2011).

O ácido ascórbico, também denominado ascorbato ou vitamina C, é um poderoso antioxidante solúvel em água e exerce um papel vital na proteção contra danos oxidativos, prevenindo o aparecimento de certos tipos de câncer, envelhecimento precoce e doenças cardiovasculares. Sua ação antioxidante deve-se à sua facilidade em perder elétrons. Ele interage com radicais livres, sendo oxidado a ácido dehidroascórbico, que é novamente convertido à ácido ascórbico por ação da enzima dehidroascorbato-redutase (MOREIRA, 2007; CARVALHO, SOUSA e MOREIRA-ARAÚJO, 2009).

A vitamina E é uma designação coletiva que engloba oito tocoferóis e tocotrienóis, que são vitaminas solúveis em lípidos com propriedades antioxidantes. Está presente na forma de α , β , γ e δ -tocoferol, sendo o α -tocoferol mais estudada, por ser a mais biodisponível já que é esta forma que o corpo preferencialmente absorve e metaboliza. A atividade antioxidante desta vitamina se dá por meio da doação de átomos de hidrogênio aos radicais lipídicos, interrompendo assim, a propagação da cadeia (RAMALHO e JORGE, 2006; TIVERON, 2010).

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis de coloração amarelo, laranja e vermelho, presentes em muitas frutas e vegetais. Os exemplos mais comuns são: tomate (licopeno), cenoura (α e β -caroteno), milho (luteína e zeaxantina), pimenta vermelha (capsantina), urucum (bixina) e batata doce (β-caroteno). Outras fontes vegetais de carotenóides são: abóbora, pimentão vermelho e amarelo, inhame, cará, azeitona roxa, repolho roxo, folhas verde-escuras (como brócolis e espinafre), alface, aipo, maçã, damasco, manga, ameixa, frutas vermelhas, melancia, laranja, tangerina, nectarina e mamão. A característica estrutural comum dos carotenóides é a cadeia polieno, um longo sistema de ligação dupla conjugada, que forma a "espinha dorsal" da molécula. Esta cadeia pode apresentar grupos terminais cíclicos, que apresentam substituintes contendo oxigênio. O sistema conjugado e rico em elétrons do polieno é responsável pela atividade antioxidante dos carotenóides: tanto na absorção do oxigênio singleto quanto de radicais livres, para interromper as reações em cadeia onde eles estão envolvidos (CARVALHO, SOUSA e MOREIRA-ARAÚJO, 2009; SILVA et al., 2010).

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários de vegetais com variadas funções; desde a proteção da planta contra ataque de herbívoros e microorganismos patogênicos, proteção contra radiação ultravioleta e importante atividade antioxidante (COSTA, 2012).

Além de preservar os alimentos contra danos oxidativos pela ação da luz, temperatura e umidade, os antioxidantes podem agir como nutracêuticos, proporcionando benefícios à saúde dos consumidores (RAVELLI, 2011; SOUZA et al., 2012a), além da aplicação na indústria, para a proteção de cosméticos e fármacos (BARREIROS et al., 2006).

Os antioxidantes naturais estão presentes numa grande variedade de alimentos, como as hortaliças, fruta, cereais, ovos, carne, legumes e frutos secos. Alguns antioxidantes como o licopeno e o ácido ascórbico podem-se decompor como resultado de armazenamento a longo prazo ou excesso de cozimento. Outros compostos antioxidantes são mais estáveis, como por exemplo os antioxidantes polifenólicos presentes no chá ou nos cereais integrais. Os efeitos do cozimento e do processamento alimentar são bastante complexos, já que podem também aumentar a biodisponibilidade dos antioxidantes, como no caso de alguns carotenóides nas hortaliças. Em geral, alimentos processados contêm menos antioxidantes do que os frescos e crus, uma vez que os processos de preparação causam exposição ao oxigênio (RAVELLI, 2011; SOUZA et al., 2012a).

5.1.2.3 Aplicações tecnológicas para os antioxidantes

Além da aplicação no campo da saúde, os antioxidantes têm inúmeras aplicações industriais. Na indústria de alimentos, pode ser utilizado como conservantes alimentar; na indústria farmacêutica ou cosmética, como componentes de formulações tópicas para prevenção do envehecimento celular; além disso, são também importantes aditivos para combustíveis, prevenindo a formação de gomas que interferem com a atividade dos motores de combustão interna (KIRK e OTHMER, 1978).

5.1.2.3.1 Conservantes alimentares

As principais causas de deterioração dos alimentos são a exposição ao oxigênio e à luz. As moléculas mais frequentemente atacadas pela oxidação são as gorduras insaturadas, tornando-se rançosas. Uma vez que os lípidos oxidados perdem a cor e normalmente apresentam odores desagradáveis como aromas metálicos ou de enxofre, é importante evitar a oxidação em alimentos ricos em gorduras (CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Os antioxidantes podem ser usados como aditivos alimentares na prevenção contra a deterioração. Estes conservantes incluem antioxidantes naturais como o ácido ascórbico e os tocoferóis, bem como antioxidantes sintéticos como o galato de propila (PG), a TBHQ, o BHA e o BHT (KIRK e OTHMER, 1978).

A presença de um antioxidante em um alimento deve ser declarada no rótulo do produto listando o antioxidante e finalidade da sua utilização, por exemplo, "... usado para preservar o sabor". Nem todos os países permitem que os antioxidantes sejam aplicados em alimentos. Assim, informações normativas devem ser obtidas de acordo com cada país. Além disso, a seleção do antioxidante e o nível necessário para uma ótima efetividade é baseada no substrato, seu método de preparação, embalagem e distribuição (KIRK e OTHMER, 1978).

5.2 Biotecnologia e compostos bioativos

Os compostos bioativos são os elementos presentes em pequenas quantidades, em certos tipos de alimentos e que são capazes de atuar diretamente na prevenção e no tratamento de doenças crônicas, tais como as cardiovasculares, o diabetes e câncer. Em sua maioria, os compostos bioativos estão distribuídos entre as frutas, legumes, verduras, cereais, peixes de água fria, leite fermentado, dentre outros. Eles são aproveitados pelo próprio consumo dos alimentos in natura ou estão isolados e inseridos em outro produto que passa então a ser enriquecido. Deste processo surgem, por exemplo, as cápsulas de fibras e aminoácidos, os leites enriquecidos com ácidos graxos (Ômegas 3 e 6) e as vitaminas (CARRATU et al., 2005; BARRETO, 2011; COSTA, 2012).

O conhecimento dos compostos bioativos em alimentos inspirou o conceito de alimentos funcionais (MORAES e COLLA, 2006; COSTA, 2012). Segundo Anjo (2004), essa denominação foi utilizada pela indústria japonesa para descrever alimentos fortificados com ingredientes específicos que provêm da combinação de produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, agindo como estratégia para corrigir distúrbios metabólicos, resultando na prevenção e no tratamento de várias doenças, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis. De acordo com o mesmo autor, esses ingredientes podem variar de nutrientes isolados, produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos, alimentos geneticamente construídos até alimentos processados e derivados de plantas.

Outra definição é proposta por Lajolo (2005), que descreve alimentos funcionais ou alimentos com alegações de funcionais ou de saúde, como alimento semelhante em aparência ao alimento convencional, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além de suas funções nutricionais básicas.

Em termos mais abrangentes, alimento funcional seria qualquer alimento, natural ou preparado pelo homem, que contenha um ou mais compostos bioativos, classificados como nutrientes ou não nutrientes, capazes de atuar no metabolismo e na fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos à saúde, podendo retardar o estabelecimento de doenças crônicas e/ ou degenerativas e melhorar a qualidade e a expectativa de vida das pessoas (CARVALHO, SOUSA e MOREIRA-ARAUJO, 2009).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamenta os alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde. De acordo com a legislação vigente, as alegações são permitidas, em caráter opcional, desde que o alimento que alegar propriedades funcionais ou de saúde além das funções nutricionais básicas produza efeitos metabólicos, fisiológicos ou benéficos à saúde comprovados. Ainda, tais alegações podem fazer referência à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico dos nutrientes e não nutrientes e à redução de risco para doenças. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou à prevenção de doenças (BRASIL, 1999).

De acordo com Resolução nº 19 de 30/04/99, da ANVISA, a alegação de propriedade funcional é: "aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano", já a alegação de propriedade de saúde é: "aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde" (BRASIL, 1999).

Uma série de compostos bioativos é descrita como responsável pelos efeitos benéficos de uma alimentação diária rica em compostos fenólicos, vitaminas, fibras e carotenóides (LAJOLO, 2001; COSTA, 2012; MARTÍNEZ et al., 2012; SOUZA et al., 2012b; PIANO et al., 2013; CHIOU et al., 2014).

Pesquisas evidenciando a importância dos compostos bioativos para a saúde humana têm crescido no mundo científico. Estudos vêm buscando determinar as concentrações destes compostos nos alimentos mais consumidos e em especial nas frutas e em seus subprodutos. Estudos têm demonstrado o efeito protetor de dietas ricas em frutas e vegetais contra doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer, devido, em parte, aos antioxidantes contidos nestes alimentos (RODRIGUES et al., 2003; LIMA et al., 2004; GRANDIS et al., 2005; MELO et al., 2006; BARRETO, 2011; COSTA, 2012; ESPÍRITO SANTO et al., 2012; POZUELO et al., 2012; PIANO et al., 2013; TSENG e ZHAO, 2013; CHIOU et al., 2014; SILVA et al., 2014).

5.2.1 Compostos bioativos derivados de metabólitos secundários de espécies vegetais

Os metabólitos secundários ou compostos secundários de vegetais são uma variedade de compostos orgânicos que não possuem uma distribuição universal no reino vegetal, ou seja, são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas; ao contrário dos metabólitos primários, que se encontram distribuídos em todo o reino vegetal, desempenhando funções vitais, como a fotossíntese, respiração e transporte de solutos. São exemplos de metabólitos primários: carboidratos, lipídeos, aminoácidos, nucleotídeos e clorofila (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Os metabólitos secundários são derivados das vias metabólicas do ácido chiquímico, a principal, e mevalônico, de pouca importância para o metabolismo de vegetais (FIGURA 10).

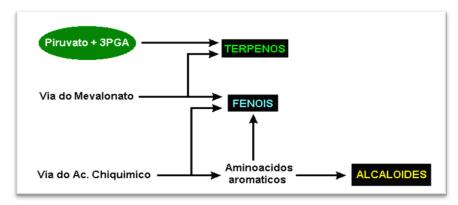


FIGURA 10: Principais vias do metabolismo secundário de espécies vegetais.

FONTE: Adaptado de Silva et al. (2010).

Atuam na defesa do vegetal contra ataque de patógenos, mas durante muito tempo essa função era desconhecida; eles eram considerados apenas produtos finais do metabolismo ou resíduos sem qualquer função importante. São classificados em: terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (ANJO, 2004; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; BERGAMASCHI, 2010; NATIVIDADE, 2010).

Os principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários são expostos a seguir e representados na Figura 11.

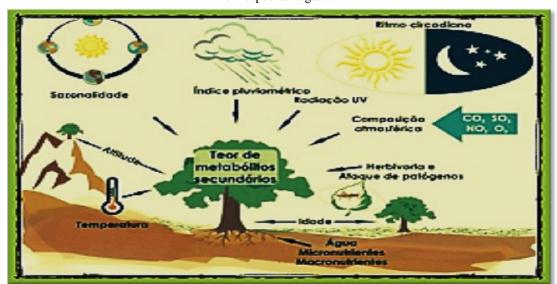


FIGURA 11: Principais fatores que podem influenciar o conteúdo de metabólitos secundários em espécies vegetais.

FONTE: Adaptado de Gobbo-Neto e Lopes (2007).

- Sazonalidade: A época em que uma planta é coletada é um fator de grande importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano todo. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), são relatados variações sazonais no conteúdo de praticamente todos os metabólitos secundários.
- Ritmo circadiano: A composição de metabólitos secundários de uma planta pode variar apreciavelmente durante o ciclo dia/noite. Silva et al. (1999) relataram uma variação de mais de 80% na concentração de eugenol no óleo essencial da alfavaca (Ocimum gratissimum), o qual atingiu um máximo em torno do meio-dia, horário em que foi responsável por 98% do óleo essencial, em contraste com uma concentração de 11% em torno de 17h.
- Idade: Tecidos mais novos geralmente possuem maiores taxa biossintética de metabólitos secundários, tais como óleos essenciais, ácidos fenólicos, alcalóides, flavonóides e estilbenos. Há uma correlação inversa entre alta atividade metabólica e produção de aleloquímicos, isto é, um decréscimo na produção de metabólitos secundários

- Temperatura: A faixa em que ocorrem as variações anuais, mensais e diárias na temperatura é um dos fatores que exerce maior influência em seu desenvolvimento, afetando, portanto, a produção de metabólitos secundários. No entanto, o fato da temperatura ser, de modo geral, uma consequência de outros fatores, como altitude e sazonalidade, a temperatura não deve ser considerada um fator isolado na produção de metabólitos secundários (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).
- Disponibilidade Hídrica: Fatores fisiológicos críticos, tais como fotossíntese, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados por estresse hídrico e, consequentemente, levar a alterações no metabolismo secundário. Em geral, o estresse hídrico, leva a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos secundários, como glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, alguns terpenóides, antocianinas e alcalóides. O efeito da seca na concentração de metabólitos é, às vezes, dependente do grau de estresse e do período em que ocorre, sendo que efeitos a curto prazo parecem levar a uma produção aumentada, enquanto a longo prazo é observado um efeito oposto. Outro fator importante é que a chuva contínua pode resultar na perda de substâncias hidrossolúveis das folhas e raízes por lixiviação (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).
- Radiação Ultravioleta: Existe uma correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonóides, taninos e antocianinas. Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonóides, pela proteção contra a foto-destruição proporcionada por estes metabólitos ao absorver e/ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B. No caso específico dos flavonóides, estes são acumulados principalmente em tecidos superficiais (tais como epiderme, subepiderme, pêlos, cutícula e material epicuticular) e utilizados pela planta como filtros UV, pois absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa. Além disso, também podem atuar como antioxidantes (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).
- Nutrientes: Em solos pobres em nutrientes, paralelamente à menor taxa de crescimento, geralmente se verifica maior produção de metabólitos secundários, particularmente derivados fenólicos. O estresse nutricional usualmente resulta em aumento nas concentrações de metabólitos secundários, exceto no caso da deficiência de nitrogênio e enxofre, em que a produção de metabólitos secundários contendo estes elementos é diminuída. Há evidências de que não é somente a disponibilidade ambiental de nitrogênio

em si que influencia o metabolismo secundário, mas sim a quantidade deste que é incorporada aos tecidos da planta. Em solos ácidos, devido a uma redução na taxa de conversão de amônio a nitrato, a incorporação de nitrogênio pode ser inibida, o que tem sido utilizado para explicar estudos que constataram altos níveis de produção de metabólitos secundários (especialmente compostos fenólicos) associados a plantas crescendo nesse tipo de solo. Os níveis de fósforo e potássio, apesar de relativamente pouco estudados, também podem ter efeitos na produção de metabólitos nitrogenados. Uma correlação bem estabelecida é que menores quantidades de metabólitos fenólicos são produzidas em condições de fornecimento abundante de nitrogênio. Os efeitos de nutrientes nos níveis de derivados do ácido chiquímico (especialmente ácidos cinâmicos simples e taninos hidrolisáveis e condensados) são bem documentados e deficiências em nitrogênio, fósforo, enxofre e potássio geralmente resultam em maiores concentrações destes metabólitos (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Em relação aos micronutrientes, a falta de boro reduz a produção de compostos fenólicos em palmeiras (RAJARATNAM e HOOK, 1975) e o fornecimento de estanho e bismuto aumenta a quantidade de taninos produzidos por Acacia catuchu (WATERMAN e MOLE, 1989).

- Altitude: De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), existe uma correlação positiva entre o conteúdo total de flavonóides e a altitude; podendo ser explicada pela maior susceptibilidade à radiação UV em altitudes maiores.
- Estímulos Mecânicos e Ataques por Patógenos: Fatores mecânicos aos quais as plantas estão susceptíveis, tais como ferimentos, ou mesmo meros estímulos, causados por chuva, granizo, vento, areia, invasão por patógenos e pastagem de herbívoros, também podem influenciar a expressão do metabolismo secundário. Uma forma de defesa induzida é a resposta a curto ou longo prazo à danificação de tecidos vegetais aumentando a produção e o acúmulo de metabólitos secundários já existentes na planta, levando à fuga dos animais. Este acréscimo é, às vezes, uma resposta restrita ao órgão danificado, e outras vezes uma resposta mais geral, podendo afetar a bioquímica vegetal como um todo (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Além destes, outros fatores, tais como, condições de coleta, estabilização e estocagem podem afetar o conteúdo final de metabólitos secundários em plantas (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Visto que inúmeros fatores podem levar a variações no conteúdo de metabólitos secundários, fica clara a necessidade de estudos visando detectar as condições e épocas para cultivo e/ou coleta que conduzam a uma matéria-prima vegetal com concentrações desejáveis de princípios ativos. Também se existe a necessidade de uma análise química detalhada, visando identificar e quantificar quais os principais constituintes bioativos presentes na espécie vegetal a ser pesquisada.

5.2.1.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólicos secundários das plantas derivados principalmente da via metabólica do ácido chiquímico (FIGURA 12), a qual converte intermediários da glicólise e da via das pentoses fosfato (fosfoenolpiruvato e a eritrose-4fostato) em aminoácidos aromáticos, cujo principal representante é a fenilalanina (NATIVIDADE, 2010).

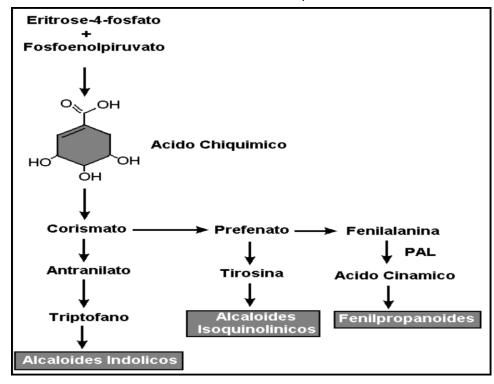


FIGURA 12: Via do ácido chiqímico.

FONTE: Adaptado de Dantas (2010).

A enzima fenilalanina amônia liase (PAL) atua como reguladora do processo e dela originam-se a maioria dos compostos fenólicos, na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas, englobando moléculas simples até compostos com alto grau de polimerização (FIGURA 13) (NATIVIDADE, 2010).

СООН NH2 Fenilalanina ESCURO COOH ÁCIDO BENZÓICO ÁCIDO SALICÍLICO COOH LIGNINAS Ácido para-coumárico В Flavonóides

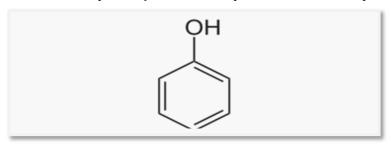
FIGURA 13: Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amônia liase (PAL).

FONTE: Adaptado de Dantas (2010).

5.2.1.1.1. Estrutura química dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem uma ampla variedade de estruturas, variando de estruturas simples que contêm um único anel aromático a substâncias poliméricas altamente complexas, englobando mais de 10.000 compostos distintos, sendo o composto mais comum um fenol simples (FIGURA 14) (OLDONI, 2007; PRADO, 2009; ANASTASIADI et al., 2010; KATALINIC et al., 2010; SANTOS 2012). Mas apesar desta diversidade estrutural, o grupo de compostos é frequentemente referido como "polifenóis".

FIGURA 14: Representação da estrutura química de um fenol simples.



FONTE: Bravo e Saura-Calixto (1998)

Podem ser encontrados na natureza sob a forma de ésteres ou heterosídeos, sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Apresentam intensa absorção na região do ultravioleta e são facilmente oxidáveis por enzimas, metais, luz, calor ou em meio alcalino, acarretando em escurecimento de soluções ou compostos isolados. Por terem características de um ácido, podem ser isolados por solubilidade em soluções básicas alcalinas, como a solução de carbonato de sódio (OLDONI, 2007).

5.2.1.1.2 Classificação dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos podem ser classificados de acordo com sua estrutura química básica ou esqueleto principal e possíveis substituições nessa estrutura básica por associação com carboidratos e formas polimerizadas (TABELA 1) (FARAH e DONANGELO, 2006; OLDONI, 2007; BERGAMASCHI, 2010; SANTOS, 2012).

Podem também ser divididos em dois grupos: os flavonoides e os não-flavonóides. Os flavonoides podem subdividir-se em: flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas/antocianinas. Já os compostos fenólicos não-flavonóides são representados pelos ácidos fenólicos e outros derivados fenólicos como os estilbenos, cumarinas e taninos (FIGURA 15) (ANASTASIADI et al., 2010; KATALINIC et al., 2010; RAVELLI, 2011).

TABELA 1: Classificação dos compostos fenólicos de acordo com sua estrutura química básica.

Estrutura Básica	Compostos Fenólicos		
C6	Fenóis simples		
C6-C1	Ácidos Hidroxibenzóicos		
C6-C2	Acetofenonas e Ácidos Fenilacéticos		
C6-C3	Ácidos Hidroxicinâmicos (ácidos cinâmicos		
	compostos análogos, fenilpropenos,		
	cumarinas, isocumarinas e cromonas)		
C6-C4	Naftoquinonas		
C6-C1-C6	Xantonas e Benzofenonas		
C6-C2-C6	Estilbenos e Antraquinonas		
C6-C3-C6	Flavonóides, Isoflavonóides e Chalconas		
(C6-C3) ₂	Lignanas		
$(C6-C3-C6)_2$	Diflavonóides		
(C6) _n	Melaninas vegetais		
(C6-C3) _n	Ligninas		
(C6-C1) _n	Taninos hidrolisáveis		
(C6-C3-C6) _n	Taninos condensados		

FONTE: Adaptado de Oldoni (2007).

Legenda: C6 corresponde ao anel benzênico e CX à cadeia substituinte com X átomos de carbono.

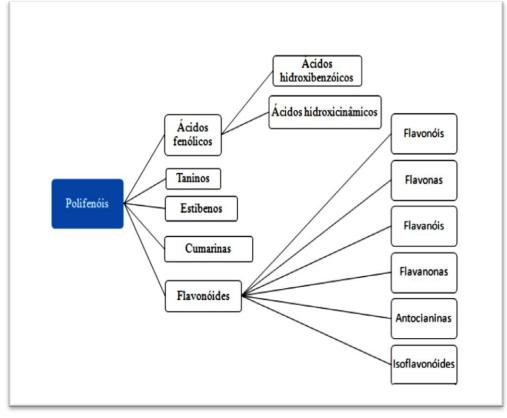


FIGURA 15: Classificação dos compostos fenólicos

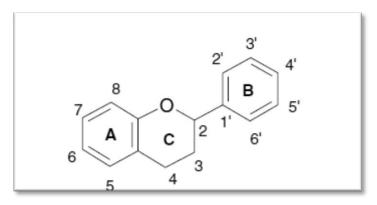
FONTE: Adaptado de: Ferreira e Abreu (2007)

Flavonóides

Os flavonóides foram descobertos em 1930, pelo ganhador do prêmio Nobel de Medicina, Szent-Gyrgy, que extraiu a citrina da casca do limão, possuindo esta substância a capacidade de regulação da permeabilidade dos capilares. Assim, esta classe de produtos foi inicialmente denominada vitamina P, e também por vitamina C2, visto que algumas substâncias pertencentes a esta classe apresentam propriedades semelhantes às da vitamina C. Porém, essas substâncias não foram confirmadas como vitaminas e esta classificação foi abandonada em 1950 (MARTÍNEZ-FLORES et al., 2002; SANTOS, 2009).

A estrutura básica dos flavonoides é um esqueleto de 15 átomos de carbono organizados em três anéis (C6-C3-C6), denominados A, B e C (FIGURA 16). É baseada no núcleo flavilium, o qual consiste de três anéis aromáticos. O benzeno do primeiro anel (A) é condensado com o sexto carbono do terceiro anel (C), que na posição 2 carrega um grupo fenila como substituinte. O anel C pode ser um pirano heterocíclico, gerando as estruturas básicas das leucoantocianinas (ou pró-antocianinas ou catequinas) e antocianidinas, e é denominado de núcleo flavana. As várias classes de flavonoides diferem quanto ao nível de substituição do anel C, enquanto compostos individuais dentro da mesma classe diferem no padrão de substituição dos anéis B e C (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; SANTOS, 2009; HILGEMANN, 2010; SANTOS, 2012).

FIGURA 16: Representação da estrutura química geral de uma molécula de flavonóide.



FONTE: Balasundram, Sundram e Samman (2006)

Os flavonoides em plantas geralmente são acompanhados por açúcares, recebendo assim a denominação de glico-flavonoides ou flavonoides glicosilados. Estas substituições incluem D-glicose, L-ramnose, glicoramnose, galactose e arabinose. O resíduo de açúcar da molécula do flavonoide é provavelmente o principal fator determinante de sua absorção pelo organismo. Quando se apresenta isenta de glicídios (açúcares), a estrutura recebe o nome de aglicona. Esta forma é mais lipofílica, facilitando a interação com as membranas celulares (BIRT et al., 2001; NIELSEN et al., 2006; SALEM et al., 2010; ARAUJO, 2012).

É o grupo mais comum e amplamente distribuído de compostos fenólicos em plantas (FIGURA 17). São parte integral tanto da dieta de animais como de humanos. Os flavonoides geralmente ocorrem em plantas como derivados glicosilados, e contribuem para os tons azul, vermelho e laranja, em folhas, flores e frutas. Além de vários vegetais e frutas, os flavonoides são encontrados em sementes, nozes, grãos, condimentos, e diferentes plantas medicinais, assim como em bebidas, como vinho, chá e cerveja (HILGEMMAN, 2010).

Os flavonoides desempenham diferentes papéis na ecologia de plantas. Devido a suas cores atrativas, flavonas, flavonóis e antocianidinas podem agir como sinais visuais para a polinização de insetos. Em virtude de sua adstringência, catequinas e outros flavonóis podem representar um sistema de defesa contra insetos prejudiciais à planta. Além disso, protegem a planta da radiação UV solar devido à sua propriedade de absorver este tipo de radiação (HASSIMOTO, 2005; HILGEMMAN, 2010).

Flavonol Flavanona Flavanol Isoflavona Antocianidina

FIGURA 17: Representação da estrutura química geral das principais classes de flavonoides.

FONTE: Balasundram, Sundram e Samman (2006)

Grande parte das ações biológicas dos flavonóides pode ser atribuída às suas propriedades antioxidantes, seja através de sua capacidade redutora, seja por meio da influência que exercem no estado redox do meio intracelular (SANTOS, 2012). A atividade antioxidante de flavonóides é determinada pelo anel B, enquanto que o resto da estrutura apresenta apenas uma pequena contribuição. Isto se verifica devido uma maior capacidade eletro-doadora deste anel. Além disso, a presença de grupos hidroxila nas posições 3, 4 e 5 do anel B tem sido descrita como responsável por aumentar a atividade antioxidante dos flavonóides em comparação a outros compostos com apenas um grupo hidroxila (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; SANTOS, 2009).

Os flavonóides possibilitam a inibição da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade pelos macrófagos. Diversos flavonóides apresentaram a capacidade de inibir a formação de óxido nítrico em macrófagos e sequestrar os radicais peroxila, hidroxila e DPPH. Eles também podem inibir as enzimas responsáveis pela formação do ânion superóxido, além das enzimas ciclooxigenase, lipoxigenase, mono-oxigenase, succinoxidase mitocondrial, NADH oxidase (SANTOS, 2009).

Em alguns estudos, flavonóides como a catequina, quercetina e o kaempferol foram capazes de inibir a oxidação do ácido linoléico. A categuina também apresentou atividade antioxidante no retardamento da degradação endógena do α-tocoferol e do β-caroteno, bem como, na inibição da oxidação de lipídios plasmáticos (SANTOS, 2009).

Devido a suas propriedades antioxidantes os flavonoídes estão envolvidos na prevenção de doenças como, alergias, inflamações, artrites, doenças cardiovasculares, arteriosclerose, doenças degenerativas e câncer (SCHRAMM e GERMAN, 1998; ISHIGE et al., 2001; KATSUBE et al., 2003; ABDILLE et al., 2005; SANTOS, 2009)

De acordo com Santos (2012), os flavonóides são os polifenóis mais comuns na dieta, correspondendo a aproximadamente 1/3 da ingestão diária. Em um estudo citado por Horst e Lajolo (2007) sugeriu que a ingestão mínima total de flavonóides por dia seja de 1 g.

Fatores agronômicos e ambientais podem influenciar na quantidade e, em consequentemente, no perfil de flavonóis de uvas. A quantidade total de flavonóides nas uvas varia de 1 a 80 mg/Kg de baga fresca, nas cultivares vermelhas; muitas vezes sendo mais rica do que as de cor branca (MATTIVI et al., 2006; MAKRIS, KALLITHRAKA e KEFALAS, 2006; CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ et al., 2012; FLAMINI et al., 2013).

> Flavonóis

Os flavonóis são uma das maiores subclasses de flavonoides e possuem no anel C, uma dupla ligação na posição C2-C3 (GRIS, 2010).

Possuem coloração branca ou amarela clara e geralmente acompanham as antocianinas em frutos, provavelmente porque apresentam rotas de biossíntese semelhantes, além de atuarem na copigmentação das antocianinas e função de foto-proteção (BATISTA, 2010; FLAMINI et al., 2013).

Estão localizados principalmente na epiderme externas da pele, uma vez que eles atuam como agentes de proteção UV. Em uvas, sua síntese começa nos botões florais, as maiores concentrações sendo encontradas algumas semanas depois do véraison (mudança de coloração da baga). É então estabilizada durante o desenvolvimento inicial dos frutos e diminui à medida que os bagos de uva aumentam de tamanho (FLAMINI et al., 2013).

O conteúdo total e padrão de flavonóis é altamente variável entre os genótipos e também pode ser modulada em certa medida por fatores bióticos e abióticos (FLAMINI et al. 2013).

Dentre os flavonóis, destacam-se a quercetina, rutina, kaempferol e miricetina. Os principais flavonóis da uva são a quercetina e a miricetina (GRIS, 2010).

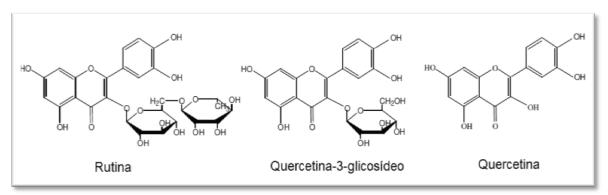
A quercetina é encontrada em altas concentrações na cebola (284-486 mg/ kg), couve (100 mg/kg), vagem (32-45 mg/kg), brócolis (30 mg/kg), repolho (14 mg/kg) e tomate (8mg/ kg). Entre as frutas, grandes concentrações de quercetina são encontradas na maçã (21-72 mg/ kg). No vinho tinto, o teor de quercetina varia entre 4 -16 mg/ L. O chá preto é a bebida que apresenta maior concentração de quercetina, em torno de 10-25 mg/L (HERTOG et al., 1993; ARAÚJO, 2012). Abe et al. (2007), relataram valores de 0,72 mg.100g⁻¹ em base úmida para

uvas da variedade Moscato Embrapa e de 2,57 mg.100g⁻¹ em base úmida, para uvas da variedade Niágara Rosada.

Além de sua atividade antioxidante, a quercetina exerce um efeito próapoptótico direto em células tumorais, podendo efetivamente bloquear o crescimento de várias linhagens celulares de câncer em diferentes fases do ciclo celular. Estudos demonstram que a quercetina é capaz de regular o ciclo celular, interagir com os locais de ligação do estrógeno tipo II, diminuir a resistência às drogas e induzir a apoptose de células tumorais (YOSHIDA et al., 1990; XIAO et al., 1998; YANG et al., 2001; ARAÚJO, 2012).

A isoquercitrina (Q3G) é composta pela quercetina ligada a uma molécula de glicose. Como pode ser visto na Figura 18, existe uma similaridade estrutural entre a quercetina, a Q3G e a rutina, e por isso os três compostos exibem atividades biológicas em comum, incluindo os efeitos antiproliferativos em diversas linhagens tumorais, propriedades antiinflamatórias e antialérgicas, atividade antioxidante e efeitos na prevenção de doenças ateroscleróticas (FERNANDEZ et al., 2005; WACH, PYRZYNSKA e BIESAGA, 2007; MOTOYAMA et al., 2009; ARAÚJO, 2012).

FIGURA 18: Representação da estrutura química das molécula de rutina, isoquercitrina e quercetina.



FONTE: Adaptado de Wang et al. (2011).

A rutina (quercetina-3-0-rutinosídeo) é um glicosídeo conjugado, pertencente à classe dos flavonóis, caracterizada pela forma aglicona, a quercetina (3, 5, 7, 3'-4'pentahidroxiflavona) ligada na posição C2 do anel C a uma molécula dissacarídica, a rutinose (C₁₂H₂₂O₁₀), que é composta por uma molécula de ramnose e uma de glicose (WILLIAMSON et al., 1996; ARAÚJO, 2012). A rutina e seus derivados representam cerca de 95% do total de flavonoides ingeridos, estando presentes em altas concentrações na cebola, na maçã, no brócolis, no vinho, no chá (HERTOG et al., 1993), nos frutos de fava d'anta (Dimorphandra sp.) (planta do cerrado brasileiro) (CHAVES e USBERTI, 2003), em cascas de frutas cítricas (laranja, limão, lima) (BILBAO et al., 2007).

De acordo com Jo et al. (2010), em um estudo a respeito das propriedades inibitórias da rutina, da quercetina e da Q3G sobre as α-glicosidases, enzimas responsáveis pela hidrólise de carboidratos e, consequentemente, pela hiperglicemia pós-prandial que ocorre no diabetes mellitus não-dependente de insulina; a quercetina e seus derivados foram inibidores da isomaltase ainda mais potentes do que a acarbose, fármaco empregado regularmente como redutor da glicemia.

A alta atividade antioxidante exercida pela Q3G desempenha papel importante na proteção das células contra o dano oxidativo. Soundararajan et al. (2008) mostraram que essa atividade citoprotetora resulta da indução exercida pela Q3G sobre a expressão de genes associados à biossíntese de lipídeos e de colesterol, resultando na manutenção da integridade da membrana celular na presença de estresse oxidativo. No entanto, investigações in vitro a respeito do mecanismo protetor da quercetina e seus derivados sobre danos oxidativos em células C6 de glioma murinho mostraram que a quercetina, mas não a rutina e a Q3G, foi efetiva como protetor celular (CHEN et al., 2006).

Estudos relataram que a rutina possui várias propriedades farmacológicas, tais como: atividade antioxidante (BOYLE et al., 2000) com alto potencial de neutralização de radicais OH e O₂ (METODIEWA, KOCHMAN e KAROLCZAK, 1997) e inibição da peroxidação lipídica (NEGRÉ-SALVAYRE et al., 1991), além das atividades citoprotetora (POTAPOVICH e KOSTYUK, 2003), vasoprotetora (IHME et al.,1996; LINDAHL e TAGESSON, 1997; TANG et al., 2011), antiproliferativa (SANTOS et al., 2011, KUNTZ et al., 1999), antitrombótica (SHEU et al., 2004) e cardioprotetora (ZIAEE et al., 2009).

A rutina é capaz de diminuir a permeabilidade capilar, exercendo efeito vasoconstritor sobre os vasos sanguíneos periféricos e inibindo o conteúdo de fator de ativação plaquetária (PAF) (IZZO et al., 1994). Pérez-Guerrero et al. (1994) relataram que a rutina previne ulcerações na mucosa gástrica em diversos modelos animais.

> Flavanóis

São polímeros de unidades de flavonoides. Dentre os flavanóis, destacam-se os flavan-3-óis (catequina, epicatequina e proantocianidinas ou taninos condensados). Estes compostos são responsáveis pela adstringência e amargor em vinhos (GRIS, 2010).

De acordo com Araújo (2012), a atividade pró-oxidante das catequinas é responsável pela indução da apoptose em células tumorais, e também é capaz de induzir sistemas antioxidantes endógenos em tecidos normais, oferecendo proteção contra danos carcinogênicos.

Os taninos condensados podem conter de duas até cinquenta unidades de flavonoides. Em uvas, as proantocianidinas ou taninos condensados são sintetizados durante a primeira etapa de crescimento da baga até o início da coloração das cacas. Representam, na casca de uvas, 3% a 6% do conteúdo fenólico total e, nas sementes, 60% a 70% (GRIS, 2010).

> Antocianidina/antocianina

As antocianidinas derivam do cátion 2-fenilbenzopirílio (também conhecido por flavílio). O cátion flavílico encontra-se normalmente glicosilado, sendo que também pode ocorrer a presença de ácidos ligados aos açucares. A Figura 19 representa a estrutura do cátion flavílico (a) e (b) um exemplo de uma estrutura de uma antocianidina, a cianidina (MARÇO e POPPI, 2008; MACHADO, 2010; DULLIUS, 2012).

FIGURA 19: (a) Representação da estrutura do cátion flavilium e (b) Representação de uma estrutura da antocianidina, a Cianidina.

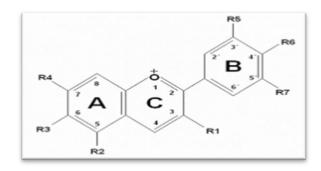
FONTE: Março e Poppi, 2008.

Os pigmentos ocorrem geralmente na forma de antocianinas, que são derivadas das antocianidinas. As antocianidinas não possuem grupos glicosídeos e a maioria possui hidroxilas nas posições 3, 5 e 7. Já nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns a glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados ácidos fenólicos, como p-coumárico, caféico, fenílico e vanílico. O açúcar presente nas moléculas de antocianinas confere maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos, quando comparados com as antocianidinas (MARÇO e POPPI, 2008).

O termo antocianina é de origem grega (anthos, flor, e kyanos, azul), e foi inventado por Marquart em 1853 para se referir aos pigmentos azuis das flores. Percebeu-se mais tarde que não apenas a cor azul, mas também várias outras cores observadas em flores, frutos, folhas, caules e raízes são atribuídas a pigmentos quimicamente similares aos que deram origem à "flor azul". Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal e compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal; sendo encontradas em maior quantidade nas angiospermas (MARÇO E POPPI, 2008).

Com a mesma origem biossintética dos outros flavonóides naturais, as antocianinas são estruturalmente caracterizadas pela presença do esqueleto contendo 15 átomos de carbono na forma C6-C3-C6 (FIGURA 20), porém, ao contrário dos outros flavonóides, as antocianinas absorvem fortemente na região visível do espectro, conferindo uma infinidade de cores, dependendo do meio de ocorrência.

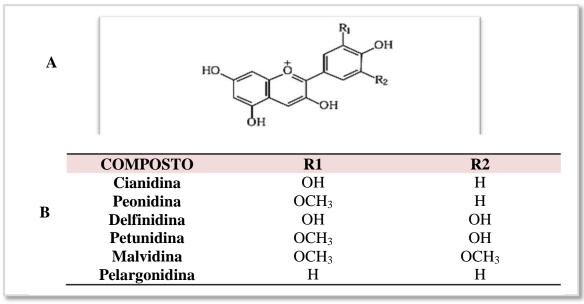
FIGURA 20: Representação da estrutura química das antocianinas.



FONTE: Março e Poppi, 2008.

As antocianinas mais comumente encontradas em frutas são derivadas principalmente de seis antocianidinas: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina (FIGURA 21) (WU e PRIOR, 2005; MACHADO, 2010).

FIGURA 21: Representação da estrutura geral da molécula de antocianidina (A) e principais formas de antocianidina encontradas na natureza (B).



FONTE: LÓPEZ, JIMÉNEZ e VARGAS, 2000.

A nomenclatura dos pigmentos é derivada da fonte (do vegetal) em que eles foram primeiramente isolados. As diferenças entre as várias antocianinas estão no número de grupos hidroxílicos na molécula, no grau de metilação destes grupos, na natureza e no número de açúcares ligados à molécula e na posição dessas ligações, bem como na natureza e no número de ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados ao(s) açúcar (es) na molécula de antocianina (CHIOU et al., 2014).

A Figura 22 é um exemplo de estrutura de antocianina presente na maioria dos vegetais, a cianidina 3-glucosídeo.

FIGURA 22: Representação da estrutura da antocianina cianidina 3-glucosídeo.

FONTE: Março e Poppi, 2008.

As antocianinas são muito instáveis e altamente susceptíveis à degradação. Os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos (FRANCIS, 1989), que levam a degradação desses pigmentos com consequente formação de compostos poliméricos e derivados do acido benzóico e do benzaldeido como produtos finais (FRANCIS, 1989; MACHADO, 2010; DULLIUS, 2012).

O pH exerce profunda influência na cor das antocianinas, assim como na sua estabilidade. As antocianinas são mais estáveis em soluções ácidas do que em neutras e alcalinas. No entanto são rapidamente destruídas pelo aquecimento durante o processamento e estocagem de alimentos. Processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos. No caso de sucos de frutas vermelhas, perdas de antocianinas mostraram-se insignificantes para tratamentos térmicos com duração inferior a 12 minutos a 100°C (MARKAKIS, 1982). A influencia do pH sobre a cor e a estabilidade das antocianinas é bem conhecida; em solução aquosa ha uma mistura de diversas estruturas em equilíbrio químico: cátion flavilium (vermelho), bases quinonoidais (azul), pseudobases carbinol ou hemiacetais (incolor) e chalconas (amarelo claro/incolor) (MACHADO, 2010).

As antocianinas são moléculas polares, em função dos grupos substituintes polares (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Consequentemente, elas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares, porém, dependendo das condições do meio, as antocianinas podem ser solúveis em éter. Estas características ajudam na extração e separação das antocianinas (KATO et al., 2012).

A estabilidade das antocianinas ao descoramento é aumentada consideravelmente pela presença de ácidos fenólicos. O mesmo efeito é observado pela presença de flavonóides nãoantociânicos, especialmente os flavonóis, como por exemplo, a rutina. Compostos como o acetaldeído, amino ácidos, taninos, dentre alguns outros, também conferem aumento na estabilidade da molécula. Esse aumento na estabilidade é atribuído à copigmentação, ou seja, associação entre antocianina e flavonol (copigmento) por ligações de hidrogênio, de modo que o flavonol venha a formar uma estrutura protetora envolvendo a antocianina (MARÇO e POPPI, 2008).

A quantificação das antocianinas é realizada por métodos espectrofotométricos baseados em medições simples de absorbância nos seus respectivos comprimentos de onda (465 a 550 nm) (WROLSTAD, 1976).

As antocianinas têm diferentes funções biológicas nos tecidos vegetais, como a proteção contra a exposição solar e radiação UV, ataques de patógenos, danos oxidativos e ataque de radicais livres, pois eles também são capazes de atrair os animais para a dispersão de sementes e de modular sinalização cascatas (HE et al., 2010; FLAMINI et al. 2013). Juntamente com os outros polifenóis, as antocianinas têm sido estudadas para avaliar a fase de maturação da uva e por suas propriedades biológicas, tais como, antioxidante, antimicrobiana e anticancerígena, e seu efeito protetor sobre o sistema cardiovascular, como no controle da obesidade, diabetes e na melhoria das funções visuais e cerebrais (MOCHIOKA et al., 1995; DI STEFANO, 1996; FLAMINI e TOMASI, 2000; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ et al., 2012). Além disso, elas representam uma importante fonte de corantes naturais para alimentos, em substituição aos corantes sintéticos, devido ao seu alto poder de coloração e sua relativa baixa toxicidade (FLAMINI et al. 2013; CHIOU et al., 2014).

Nas videiras estas se acumulam nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também, na polpa de algumas variedades de uvas (KATO et al., 2012).

A composição das antocianinas em uvas difere com a espécie, maturidade e condições climáticas. Em geral, uvas e vinho tinto contêm antocianinas em quantidades que variam 30-750 mg/100 g de peso fresco e 16 - 35 mg/100 mL, respectivamente (CHIOU et al., 2014).

Em uvas, as antocianidinas são a cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina. A falta de expressão da enzima flavonóide 3',5' – hidroxilase nas uvas brancas restringe a presença destes compostos (FLAMINI et al., 2013).

> Flavanonas, flavonas e isoflavonas

Flavanonas são encontradas principalmente em frutas cítricas, e as flavonas, no aipo. Isoflavonas são encontradas quase exclusivamente em alimentos de soja (HILGEMMAN, 2010).

Não-Flavonóides

Os compostos fenólicos não-flavonóides são compostos fenólicos mais simples. São constituídos pelos ácidos fenólicos e outros derivados fenólicos como os estilbenos (resveratrol), taninos hidrolisáveis e cumarinas (PIOVACARI, 2009).

> Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos são compostos fenólicos que possuem um ácido carboxílico funcional. São divididos em dois grupos, o primeiro é composto pelos ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos. Embora possuam o mesmo esqueleto básico, os números e posições dos grupos hidroxila no anel aromático diferem (YU e AHMEDNA, 2013).

Os ácidos hidroxibenzóicos possuem uma estrutura básica (C6-C1), caracterizando-se pela hidroxilação do carbono 4 do ácido benzóico. São os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. Estes compostos estão associados a importantes funções biológicas para as plantas, como germinação de sementes e crescimento (SANTOS, 2009). Pertencem a este grupo os ácidos gálico, p-hidroxibenzóico, protocatequico, vanílico e siríngico (FIGURA 23).

Os ácidos hidroxicinâmicos possuem estrutura básica (C6-C3), com hidroxilação do carbono 4 do ácido cinâmico. Estão também envolvidos nas funções de germinação e crescimento de plantas, além disso, apresentam atividade antibiótica. Pertencem a este grupo os ácidos caféico (FIGURA 23), ferúlico, p-cumárico e sinápico (SANTOS, 2009; YU e AHMEDNA, 2013).

a COOH COOH ÁCIDO GÁLICO ÁCIDO PROTOCATEQUICO b COOH HO COOH ÁCIDO P-CUMÁRICO ÁCIDO CAFEICO CH₂O COOH COOH CH₂O HO ÁCIDO FERRÚLICO OCH, ÁCIDO SINÁPTICO

FIGURA 23: Representação da estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b)

FONTE: Balasundram, Sundram e Samman (2006).

Os ácidos fenólicos encontram-se distribuídos na casca e na polpa da uva. Sua concentração diminui durante o desenvolvimento da baga e se estabiliza na maturação (GRIS, 2010).

> Resveratrol

O resveratrol é uma fitoalexina, isto é, componente sintetizado nas plantas em resposta a situações de estresse, como infecções por fungos ou por fatores ambientais, como a exposição à radiação UV (LANGCAKE e PRYCE, 1976; YU e AHMEDNA, 2013).

Foi primeiramente isolado e 1940, das raízes da planta Veratum grandiflorum O. Loes e em 1963 das raízes da planta Polygonum cuspidatum, comumente utilizada na medicina tradicional japonesa e chinesa. Em 1976, foi identificado a presença do trans-resveratrol em Vitis vinífera. Nos anos 90, os estudos biológicos sobre o resveratrol tornaram-se mais frequentes devido ao "paradoxo francês", fenômeno que contempla baixos índices de mortalidade por doenças do coração mesmo quando a dieta adotada inclui altos índices de lipídios. As respostas para este fenômeno podem ser atribuídas à influência do estilo de vida francês, que apesar de adotar uma dieta básica com altos níveis de gordura nas preparações culinárias, inclui o vinho em sua dieta (KATALINIC et al., 2010; DULLIUS, 2012).

Esta substância existe nas formas cis e trans. Sua estrutura é composta por dois anéis aromáticos conectados por uma ligação dupla (FIGURA 24). O resveratrol encontra-se em 72 espécies vegetais, no entanto, é encontrado em poucos alimentos para o consumo humano. Algumas fontes são o amendoim, cacau, algumas variedades de chás, porém a principal fonte são as uvas e seus derivados (COUNET, CALLEMIEN e COLLIN, 2006).

FIGURA 24: Representação da estrutura química dos isômeros trans-resveratrol e cis-resveratrol.

FONTE: Sautter et al. (2005)

O resveratrol é encontrado na videira, nas raízes, sementes, cascas e talos. Sua quantidade varia entre os diversos tipos de uva e localização geográfica onde são cultivadas. De acordo com Santillo (2011), a concentração de resveratrol na baga, é em média 0,05 a 0,1mg/g⁻¹. Já as cascas, têm em média, 50 a 100 mg/g⁻¹ e o vinho tinto, 1,5 a 3 mg/L⁻¹ (DULLIUS, 2012). Em sementes de uva, Kammerer et al. (2004) relataram $1,42 \pm 0,18$ mg/100 g de resveratrol.

O resveratrol age na prevenção de doenças cardíacas, assim como na inibição da agregação plaquetária, inibição da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados e lipoproteínas. Sua estrutura química é similar a do estrogênio sintético, portanto o trans-resveratrol tem propriedades farmacológicas similares à do estradiol (hormônio da classe dos esteróides, produzido pelos folículos ovarianos, responsável pela manutenção dos tecidos do organismo, garantindo a elasticidade da pele e dos vasos sanguíneos e a reconstituição óssea, entre outras funções). Além disso, estudos relatam e sua proteção contra o câncer e doenças degenerativas, como o Alzheimer (SALVADOR, 2009; SANTILLO, 2011; FLAMINI et al., 2013).

Dentre os benefícios do resveratrol comprovados cientificamente, estão o aumento da resistência das fibras colágenas e consequente efeito protetor sobre as paredes dos vasos sanguíneos; inibição da formação de radicais livres, reduzindo a oxidação dos lipídeos; preservação do sistema imunológico, por impedir a destruição de linfócitos; conter o envelhecimento celular e favorecer as funções digestivas e aumentar o apetite (SANTILLO, 2011).

A atividade antioxidante do trans-resveratrol esta relacionada com sua estrutura quimica, especialmente o numero e o arranjo dos grupos hidroxilas livres nos anéis aromaticos. Sua função "protetora" esta relacionada com a doação de hidrogênios das hidroxilas para os radicais livres (SALVADOR, 2009; GALLICE, 2010).

De acordo com Yu e Ahmedna (2013), o resveratrol potencia os efeitos apoptóticos de citoquinas, agentes quimioterapêuticos e radiação gama. Os estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos demonstram que os principais órgãos alvo de resveratrol são fígado e rim, e que é metabolizado por hidroxilação, glucuronidação, sulfatação e hidrogenação.

> Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis estes são ésteres dos ácidos gálico e elágico glicosilados, formados a partir do chiquimato. Os taninos elágicos são muito mais frequentes que os gálicos (GRIS, 2010).

5.2.1.1.3 Fontes alimentares de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos podem ser encontrados em ampla diversidade no reino vegetal, mas distribuídos em quantidades diferentes em cada parte dos vegetais, podendo apresentar variações entre a mesma espécie vegetal, dependendo da diversidade química, do estádio de maturação da planta, condições ambientais, condições de cultivo, do solo, do manejo, condições de armazenamento e processamento; o que confere aos compostos fenólicos uma série de funções (TAIZ e ZEIGER, 2009; BERGAMASCHI, 2010).

Os compostos fenólicos são responsáveis pelo crescimento e germinação das plantas, apresentam também a função de protegê-las de infecções e agressões de microrganismos e servem como filtros de radiação UV, além disso, contribuem com o aroma, adstringência, cor e estabilidade oxidativa das mesmas (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; SANTOS, 2009; COSTA, 2012).

O conteúdo de compostos fenólicos pode variar entre frutas ou hortaliças, ou mesmo para as mesmas frutas ou hortaliças, como relatado por diferentes autores (TABELA 2).

Estas diferenças podem ser devido a complexidade destes grupos de compostos, e também em função dos métodos de extração e análise (BRAVO e SAURA-CALIXTO, 1998; KALT et al., 2001). Além disso, o conteúdo de compostos fenólicos em alimentos vegetais depende de fatores intrínsecos (género, espécies, cultivares) e extrínsecos (ambientais, manuseio, armazenamento e processamento) (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Em uvas, os compostos fenólicos estão presentes principalmente na casca e nas sementes. A videira os sintetiza como defesa a situações adversas ou ao estresse (ataque de fungos, déficit hídrico, radiação ultravioleta e variações de temperatura). A concentração de compostos fenólicos em uvas depende também da variedade de videira e é influenciado por fatores vitivinícolas e ambientais (ANASTASIADI et al., 2010; KATALINIC et al., 2010).

Dentre os compostos fenólicos presentes na uva, destacam-se no grupo dos flavonoides, as antocianinas (na casca de uvas tintas), os flavonóis (quercetina e miricetina), flavanóis (nas sementes, catequina e epicatequina; e taninos condensados). No grupo dos nãoflavonóides, os estilbenos (resveratrol) (OLIVEIRA, 2006; GRIS, 2010; GRANATO, 2011; **DULLIUS**, 2012).

TABELA 2: Conteúdo de fenólicos totais em algumas espécies de frutas e hortaliças expresso em EAG/100g (equivalente de ácido gálico por 100g de amostra fresca).

Fruta	Fenólicos Totais (EAG/100g)	Referência
Maçã	296.3 ± 6.4	Sun et al. (2002)
Banana	90.4 ± 3.2	Sun et al. (2002)
Banana	11.8 ± 0.4	Luximon-Ramma et al (2003)
Amora	417-555	Sellappan et al (2002)
Goiaba (vermelha)	126.4 ± 6.0	Luximon-Ramma et al (2003)
Goiaba (branca)	247.3 ± 4.5	Luximon-Ramma et al (2003)
Manga	56.0 ± 2.1	Luximon-Ramma et al (2003)
Pêssego	84.6 ± 0.7	Sun et al. (2002)
Mamão	57.6 ± 4.1	Luximon-Ramma et al (2003)
Abacaxi	94.3 ± 1.5	Sun et al. (2002)
Uva tinta	201 ± 2.9	Sun et al. (2002)
Morango	161-290	Heinonen et al. (1998)
Morango	160 ± 1.2	Sun et al. (2002)
Hortaliça	Fenólicos Totais (EAG/100g)	Referência
•	(, (,,,,	
Brócolis	101.6 ± 1.24	Chu et al. (2002)
	, S	
Brócolis	101.6 ± 1.24	Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0	Chu et al. (2002) Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6	Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5	Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9	Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002) Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola Goiaba (vermelha)	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9 126.4 ± 6.0	Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola Goiaba (vermelha) Goiaba (branca)	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9 126.4 ± 6.0 247.3 ± 4.5	Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola Goiaba (vermelha) Goiaba (branca) Manga	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9 126.4 ± 6.0 247.3 ± 4.5 56.0 ± 2.1	Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola Goiaba (vermelha) Goiaba (branca) Manga Pêssego	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9 126.4 ± 6.0 247.3 ± 4.5 56.0 ± 2.1 84.6 ± 0.7	Chu et al. (2002)
Brócolis Repolho Pepino Espinafre Cebola Goiaba (vermelha) Goiaba (branca) Manga Pêssego Mamão	101.6 ± 1.24 54.6 ± 7.0 19.5 ± 1.6 91 ± 8.5 76.3 ± 1.9 126.4 ± 6.0 247.3 ± 4.5 56.0 ± 2.1 84.6 ± 0.7 57.6 ± 4.1	Chu et al. (2002)

O quadro 1 apresenta o conteúdo dos principais fenólicos presentes em diferentes partes de uvas da variedade Vitis vinífera L..

QUADRO 1: Principais fenólicos presentes em uvas da variedade Vitis vinífera L. em (mg.g⁻¹).

Composto	Casca	Semente	Bagaço
Ácidos Fenólicos	0,17-8,23	0,10-0,11	0,03-8,31
Antocianinas Totais	11,47-29,82	-	11,47-29,82
Flavonóis Totais	0,48-0,63	0,02-0,05	0,03-0,63
Flavanóis Totais	0,12-3,38	3,56-6,15	0,34-4,25

FONTE: Adaptado de Ferreira (2010) e Pinelo, Arnous e Meyer (2006).

Bebidas como sucos de frutas, chá e vinhos são fontes importantes de compostos fenólicos na dieta humana (TABELA 3).

TABELA 3: Conteúdo de fenólicos totais em sucos de frutas, chás e vinhos expresso em EAG/L (equivalente de ácido gálico por litro) ou EAG/g (equivalente de ácido gálico por grama).

Sucos Comerciais	Fenólicos Totais (EAG/L)	Referência
Maçã	339	Gardner et al. (2000)
Uva (tinta)	535	Gardner et al. (2000)
Laranja	755	Gardner et al. (2000)
Abacaxi	358	Gardner et al. (2000)
Suco in natura	Fenólicos Totais (EAG/L)	Referência
Uva (verde)	519	Sánchez-Moreno et al. (1999)
Uva (tinta)	1728	Sánchez-Moreno et al. (1999)
Laranja	382-1147	Rapisarda et al. (1999)
Chá	Fenólicos Totais (EAG/g)	Referência
Chá preto	62-107	Luximon-Ramma et al (2005)
Chá verde	117.3	Samman et al. (2001)
Café	Fenólicos Totais (EAG/g)	Referência
Café instantâneo	146-151	Lakenbrink et al. (2000)
Café em grãos	52.5-57	Lakenbrink et al. (2000)
Vinho tinto	Fenólicos Totais (EAG/L)	Referência
Argentino	1593-1637	Sánchez-Moreno et al. (2003)
Brasileiro	1947-1984	Minussi et al. (2003)
Chileno	2133	Minussi et al. (2003)
Francês	1018-3545	Landrault et al. (2001)
Italiano	3314-4177	Minussi et al. (2003)
Português	1615	Minussi et al. (2003)
Espanhol	1869	Sánchez-Moreno et al. (2003)
Espanhol Vinho branco	1869 Fenólicos Totais (EAG/L)	Sánchez-Moreno et al. (2003) Referência
		` '
Vinho branco	Fenólicos Totais (EAG/L)	Referência
Vinho branco Argentino	Fenólicos Totais (EAG/L) 216	Referência Minussi et al. (2003)
Vinho branco Argentino Brasileiro	Fenólicos Totais (EAG/L) 216 256-353	Referência Minussi et al. (2003) Minussi et al. (2003)

5.2.1.1.4 Atividade antioxidante dos compostos fenólicos

Uma de suas principais funções dos compostos fenólicos é a capacidade de atuar como antioxidante no combate aos radicais livres e estresse oxidativo. Segundo Gómez-Ruiz, Leake e Ames (2007), os compostos fenólicos atuam como antioxidantes tanto na fase de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Esta atividade está diretamente relacionada com a estrutura química do composto, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor, por meio da velocidade de inativação do radical livre, reatividade com outros antioxidantes e capacidade de quelar metais (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; OLDONI, 2007; BERGAMASCHI, 2010).

De uma maneira geral, os compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, apresentam estrutura ideal para o seqüestro de radicais, sendo considerados antioxidantes efetivos. Sua atividade antioxidante depende da estrutura e pode ser determinada por 5 fatores: reatividade como agente doador de hidrogênio e elétrons, estabilidade do radical flavanoil formado, reatividade frente a outros compostos antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (BARREIROS et al., 2006; SANTOS, 2012; YU E AHMEDNA, 2013).

Em consequência disso, são associados a vários efeitos benéficos à saúde, como à redução no risco de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas (MALACRIDA e MOTTA, 2005; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; COSTA, 2012).

Várias pesquisas sobre os efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídas aos compostos fenólicos presentes em espécies vegetais, incluindo as uvas e seus resíduos. Estes estudos mostram inúmeros efeitos biológicos positivos relacionados aos compostos fenólicos, como por exemplo, atividades antioxidantes, antiinflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (TABELA 4).

TABELA 4: Síntese de pesquisas sobre atividade antioxidante de espécies vegetais (Continua).

Desenho do Estudo	Principais Resultados	Ano	Referência
Avaliação da capacidade antioxidante de frutas (acerola, caju, mamão "Formosa", mamão Havaí, laranja pêra e goiaba) através do método de DPPH e da inibição da oxidação lipídica no sistema β-caroteno/ácido linoleico.	A acerola, caju, mamão Formosa, mamão Havaí, goiaba, laranja pera, e a pinha destacaram se por terem apresentado uma potente capacidade antioxidante.	2008	Melo et al.
Extração dos polifenóis presentes em resíduo agroindustrial de acerola e investigação da sua capacidade de sequestrar o radical DPPH.	Frente ao potencial antioxidante exibido, resíduos de acerola surgem como uma fonte promissora de antioxidante natural.	2009	Caetano et al.
Determinação das características físico- químicas e níveis de compostos bioativos (ácido ascórbico, fenólicos totais) em quinze amostras de polpas de frutos da Amazônia (abiu, acerola, açaí, araçá-boi, bacaba, bacuri, buriti, cajá, cajarana, caju, cupuaçu, graviola, murici, noni e tamarindo).	Várias polpas apresentam bom potencial antioxidante, detectada tanto pela medida específica da atividade quanto pela inibição de radicais livres, bem como pela presença de compostos bioativos como fenóis e ácido ascórbico, destacando-se acerola e açaí.	2010	Canuto et al.
Determinação da quantidade dos compostos fenólicos dos resíduos de polpas de frutas tropicais acerola, goiaba, abacaxi, cupuaçu, bacuri e graviola, bem como avaliar a sua capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .	Os resíduos de polpas de acerola e goiaba exibiram as maiores concentrações de compostos fenólicos totais. Os extratos exibiram ação antioxidante, com destaque para os extratos de polpa de acerola e goiaba, os quais se mostraram mais eficientes em sequestrar os radicais livres.	2011	Sousa et al.
Determinação do conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais.	Os extratos de polpa de acerola obtiveram os melhores resultados, sendo assim, a de maior capacidade antioxidante dentre as demais polpas de frutas analisadas (polpa de caju e de goiaba).	2011	Vieira et al.
Determinação dos compostos fenólicos totais e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana <i>in vitro</i> de extratos de caqui (<i>Diospyros kaki</i> L.).	O extrato hidroetanólico de caqui e sua fração residual apresentaram maior teor de compostos fenólicos que as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila, além de maior atividade antioxidante. Os extratos de caqui e as frações não apresentaram atividade antimicrobiana.	2012	Milani <i>et al</i> .

TABELA 4: Síntese de pesquisas sobre atividade antioxidante de espécies vegetais (*Conclusão*).

Desenho do Estudo	Principais Resultados	Ano	Referência
Determinação de propriedades antioxidantes <i>in vitro</i> de co-produtos da industrialização de algumas frutas exóticas tropicais, como manga, abacaxi, goiaba e maracujá, e avaliar o seu potencial uso como fontes de fibras alimentares para enriquecimento de alimentos.	As amostras analisadas apresentaram boa capacidade antioxidante. O teor de fibra alimentar dos co-produtos variaram em uma faixa entre 69,1 e 81,5 g/100 g de matéria seca, com uma relação equilibrada entre fibra dietética insolúvel e fibra dietética solúvel. Os resultados deste estudo indicam que as fibras de frutas exóticas obtida como co-produto no processo de obtenção de sumo pode ser considerada uma boa fonte de compostos naturais com atividade antioxidante significativa.	2012	Martínez <i>et al</i> .
Determinação dos teores de fenólicos totais, antocianinas, flavonóides amarelos, β-caroteno e licopeno; bem como a quantificação de compostos bioativos, em polpas e subprodutos de doze frutas tropicais do Brasil.	Em geral, os subprodutos das frutas apresentaram maior conteúdo de compostos bioativos que as respectivas polpas de frutas. O resveratrol foi identificado em subprodutos de goiaba e pitanga e a cumarina em subprodutos de maracujá, goiaba e pitanga e em polpa de manga.	2012b	Souza et al.
Determinação dos teores de fenólicos totais, antocianinas, flavonóides amarelos, β-caroteno e licopeno; bem como a quantificação de compostos bioativos, em polpas e subprodutos de doze frutas tropicais do Brasil.	Em geral, os subprodutos das frutas apresentaram maior conteúdo de compostos bioativos que as respectivas polpas de frutas. O resveratrol foi identificado em subprodutos de goiaba e pitanga e a cumarina em subprodutos de maracujá, goiaba e pitanga e em polpa de manga.	2014	Silva et al.

5.2.1.1.5 Metabolismo e biodisponibilidade de compostos fenólicos

Biodisponibilidade pode ser definida como a fração de um nutriente presente em um alimento que é disponível para ser utilizada nas funções fisiológicas ou para ser estocada (TOGNON, 2012).

Os possíveis efeitos benéficos à saúde provenientes de uma dieta fonte de compostos fenólicos dependem da sua biodisponibilidade, pois algumas classes de polifenóis, como os flavonols, as isoflavonas, flavonas e antocianinas, encontram-se, na maioria das vezes, na forma glicosilada. O acúcar ligado é geralmente a glicose ou a ramnose, mas também pode ser galactose, arabinose, xilose ou outros açúcares. Comumente, a conjugação acontece apenas com um açúcar, mas pode haver dois ou três açúcares ligados à mesma molécula. Essa glicosilação pode influenciar nas propriedades químicas, físicas e biológicas dos polifenóis (HORST e LAJOLO, 2007).

O primeiro passo após a ingestão de compostos fenólicos da dieta é a liberação dos mesmos de sua matriz. A remoção dos glicosídeos de flavonoides (flavonóides glicosilados têm seu açúcar removido por enzimas glicosidases transformados em agliconas depois de sofrer um processo prévio de hidrólise no interior do trato digestivo), a clivagem de proantocianidinas poliméricas e a hidrolise de ácidos fenólicos esterificados são consideradas pré-requisitos para a absorção dos mesmos pela barreira intestinal (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; GONÇALVES, 2012)

Para a avaliação da biodisponibilidade dos compostos bioativos, alguns processos fisiológicos normais devem ser avaliados: a liberação, que torna um composto disponível para absorção, por liberá-lo da matriz do alimento (denominada de bioacessibilidade); a absorção, que compreende o movimento do composto do lúmen digestivo para a circulação sangüínea; a distribuição, processo no qual os compostos são difundidos ou transferidos do lúmen intravascular para o extra vascular; o metabolismo, que é a conversão ou transformação química de um composto às suas respectivas formas mais eletrofílicas e, portanto, mais suscetíveis à última etapa, que é a excreção dos compostos não modificados ou de seus metabólitos conjugados, pelas vias renal, biliar ou pulmonar. O conjunto desses processos é designado LADME (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; HORST e LAJOLO, 2007; TOGNON, 2012).

Apenas uma pequena parte de compostos fenólicos ingeridos é absorvida pelo intestino delgado (cerca de 5 a 10%). Este processo ocorre através de difusão passiva e esta associado com hidrolise e liberação da aglicona pela ação da lactase phloridzina hidrolase (LPH) presente nas microvilosidades intestinais. Depois de absorvida, a aglicona sofre metabolização no fígado formando metabolitos sulfatados, glicurônicos e/ou metilados por meio da ação das enzimas de fase II sulfotransferase (SULT), uridina-50-difosfato glicorosiltransferase (UGT) e catecol- O-metiltransferase (COMT) (GONÇALVES, 2012)

Os produtos desta metabolização podem entrar na corrente sanguínea e serem excretados através da urina, ou ainda, pela circulação enterohepatica; uma fração considerável pode ser excretada pelo fígado como componente da bile de volta para o intestino. Uma vez liberados no lumen intestinal, estes conjugados podem ser hidrolisados por enzimas bacterianas (β-glicuronidases, sulfatases e glicosidases). Os compostos que não são absorvidos no intestino delgado vao diretamente para o intestino grosso, sendo degradados pela microflora colonica a compostos mais simples, como ácidos fenólicos, e asim, serem absorvidos pelo sistema circulatório (GONÇALVES, 2012).

Uma vez no intestino grosso, os flavonóides e seus metabolitos podem apresentar benefícios a microflora colônica, selecionando bactérias probióticas ou inibindo a proliferação de células cancerígenas (GONÇALVES, 2012)

De acordo com Horst e Lajolo (2007), os polifenóis mais comuns na dieta humana não são os mais ativos biologicamente, devido à sua baixa atividade intrínseca, absorção intestinal reduzida ou rápida metabolização e excreção. Em adição, os metabólitos que são encontrados no sangue, em órgãos alvo ou como resultado da atividade digestiva e hepática, podem diferir das formas nativas das substâncias com relação à atividade biológica.

A biodisponibilidade de polifenóis é influenciada por numerosos e às vezes interrelacionados fatores, como interação entre polifenóis e alguns componentes de alimentos (como ligações com proteínas e polissacarídeos), fatores genéticos e microbianos, como observado em ensaios de intervenção humana (KEMPERMAN et al., 2010). Além destes, efeitos indiretos da dieta na fisiologia intestinal (pH, fermentação intestinal, excreção biliar, tempo de trânsito intestinal, entre outros) também são fatores relevantes na absorção dos polifenóis (HORST e LAJOLO, 2007)

Arabbi, Genovese e Lajolo (2004) estimaram que a ingestão dietética de flavonóides pela população brasileira é de 60 a 106 mg/dia. Estudos de biodisponibilidade em humanos relatam que a quantidade de compostos fenólicos encontrados na urina pode variar de um composto para outro e que cerca de 75% a 99% dos polifenóis não são encontrados na urina, indicando que quantidades significativas são absorvidas e distribuídas pelo sistema circulatório (HORST e LAJOLO, 2007; KEMPERMAN et al., 2010; GONÇALVES, 2012).

Altas taxas de excreção dos metabólitos nas fezes indicam baixa absorção dos flavonoides pelo organismo. Baixos valores de excreção urinária podem ser indicativos de excreção pronunciada pela bile, ou ainda de metabolismo intenso (HORST e LAJOLO, 2007).

O tempo de meia-vida dos polifenóis no plasma é de, aproximadamente, 2 horas para antocianinas, 2 a 3 horas para flavanóis, 4 a 8 horas para isoflavonas e 11 a 28 horas para flavonóis, como a quercetina. Já a epicatequina galato (ECG) possui eliminação mais lenta, possivelmente devido à sua alta excreção biliar, que permite sua alta reabsorção no intestino delgado juntamente com a bile, ou à sua grande complexidade com as proteínas plasmáticas (HORST e LAJOLO, 2007).

Em relação à bioacessibilidade de um determinado alimento, esta pode ser determinada por meio de teste in vivo ou in vitro. Os testes in vivo incluem estudos de balanço da matéria (que determinam a quantidade absorvida de um nutriente por medidas da diferença entre a quantidade de nutriente ingerida e a quantidade deste nutriente que é excretada) e de concentração tecidual (onde é monitorado o aumento da concentração de um determinado nutriente no plasma sanguíneo). Os estudos in vitro simulam as condições fisiológicas e os eventos que ocorrem durante a digestão no trato gastrointestinal humano, levando em consideração os eventos que ocorrem na boca, estômago e intestino; além de fatores como temperatura, velocidade de agitação, composição química e enzimática da saliva, dos sucos gástrico, duodenal e biliar (TOGNON, 2012).

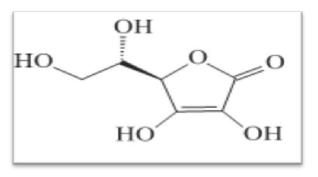
O estudo de Porfírio et al. (2010) verificou que a atividade antioxidante de infusões de boldo-de-jardim (Plectranthus barbatus) não diminui após a simulação in vitro da digestão gástrica, mas que se reduzia em cerca de 50% após a digestão pancreática. Após a análise cromatográfica dos extratos, as perdas podiam variar bastante, dependendo do composto analisado, podendo resultar em até uma degradação quase total. Gião et al. (2012) verificaram que dependendo da sua estrutura, os compostos antioxidantes podem ou não ser afetados pela simulação in vitro da digestão gastrointestinal.

5.2.2 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico (FIGURA 25) é um composto hidrossolúvel, cristalino e muito instável, podendo ser facilmente oxidada pelo calor, alcalinidade, presença de luz UV, oxigênio, metais (Ferro e Cobre) e danos físicos. Além disso, o conteúdo de ácido ascórbico varia entre espécies e variedades e pode ser influenciada pelo tipo de solo, forma de cultivo e condições climáticas (BARRETO, 2011; DANTAS, 2010). O nome ácido ascórbico foi

adotado em reconhecimento às suas propriedades antiescorbúticas (previne o escorbuto) e apesar das formas ativas da vitamina C ser uma denominação genérica para todos os compostos que apresentam atividade biológica de ácido ascórbico (AA) e sua forma oxidada, o ácido dehidroascórbico (DHA), a maioria dos trabalhos relata ou enfatiza a presença do AA, pois o DHA representa menos de 10% do total de vitamina C, mas tende a aumentar durante o armazenamento (WILLS et al., 1984; BARRETO, 2011; COSTA, 2012). De acordo com pesquisa realizada por Gardner et al. (2000) a capacidade antioxidante de sucos de diversas frutas foi maior naqueles sucos com altas concentrações de vitamina C, sendo o ácido ascórbico responsável por 65 a 100% do total da capacidade antioxidante de sucos derivados de frutas cítricas.

FIGURA 25: Representação da estrutura química do Ácido ascórbico.



FONTE: Bobbio e Bobbio (1992)

É um metabólito primário das plantas e apresenta uma grande variedade de funções em processos vitais, tais como: síntese de lipídeos e proteínas, metabolismo de carboidratos, respiração celular, formação e manutenção de colágeno, regeneração dos tecidos, prevenção de sangramento, reduzindo o risco de infecções e facilitando a absorção de ferro e principalmente como antioxidante (PELÚZIO e OLIVEIRA, 2006; DANTAS, 2010; SANTOS, 2012). É capaz de reduzir a maioria das espécies reativas de oxigênio (EROs) que chegam ou são formadas nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; COSTA, 2012; SANTOS, 2012).

O ascorbato (forma do ácido ascórbico como antioxidante) age como sequestrante de espécies reativas do oxigênio, formadas, em geral, durante o metabolismo normal das células. É responsável por doar elétrons a espécies reativas como: hidroxil, peroxil, superóxido, peroxinitrito e oxigênio singleto, formando compostos menos reativos, além de atuar como cofator de inúmeras enzimas para manter os íons metálicos no estado reduzido. Os produtos da oxidação do ácido ascórbico (radical ascorbila e dehidroascórbico) são pouco reativos, quando comparados a outros radicais livres. Esta propriedade torna o ácido ascórbico um eficiente antioxidante, capaz de eliminar espécies altamente reativas e formar um radical de reatividade baixa (BARRETO, 2011; DANTAS, 2010).

Esta vitamina atua como um excelente antioxidante sobre os radicais livres na fase aquosa, devido ao seu alto poder redutor, embora não seja capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação lipídica. Por outro lado, estudos in vitro mostraram que essa vitamina, na presença de metais de transição, tais como o ferro e cobre, pode atuar como molécula pró-oxidante e gerar os radicais livres peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH'); porém estes metais estão presentes em quantidades muito limitadas (PEREIRA, 2009; COUTO e CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Para Barreto (2011), o consumo de dietas ricas em vitamina C está relacionado com a prevenção de diversos tipos de câncer através da inibição da formação de células cancerosas, de compostos nitrosos no estômago e pela estimulação do sistema imunológico; além disso, esse micro nutriente desempenha importante papel na prevenção do Alzheimer.

A ingestão diária de vitamina C pelo homem faz-se necessária, uma vez que o organismo humano não é capaz de sintetizá-la, sendo encontrada abundantemente em hortaliças e frutas (destacando principalmente os frutos ácidos, como caju, uva, acerola, limão e laranja), em menor quantidade, em produtos cárneos e no leite de vaca in natura (DANTAS, 2010; COSTA, 2012). Em uvas, a quantidade de vitamina C é, em média, 10,8mg/100g de parte comestível (PINHEIRO, 2008).

A vitamina C é transportada no plasma sob a forma de ânion livre e transferida para o interior dos leucócitos e eritrócitos por difusão simples. A reserva de ácido ascórbico no ser humano adulto sadio é de aproximadamente 1.500mg, sendo a ingestão média diária de 45 a 75 mg. A deficiência desta vitamina ocorre quando a reserva orgânica encontra-se abaixo de 300mg e é acompanhada de sintomas clínicos do escorbuto (petéquias, hiperceratose, inflamações na gengiva, anemia, dentre outras) após 30 a 45 dias (GONÇALVES, 2008).

A ingestão alimentar de referência (*Dietary Reference Intakes* - DRI) para vitamina C varia de acordo com o estágio de vida e faixa etária. Os valores variam de 40 a 50 mg/dia para bebês de ambos os sexos até 12 meses; de 15 a 45 mg/dia para crianças de ambos os sexos e com idades entre 1 a 13 anos; de 75 a 90 mg/dia para indivíduos do sexo masculino com faixa etária entre 14 à maiores de 70 anos; de 65 a 75 mg/dia para indivíduos do sexo feminino com faixa etária entre 14 à maiores de 70 anos; exceto para gestantes, em que a recomendação varia de 80 a 85 mg/dia e lactantes, em que a recomendação varia de 115 a 120 mg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE/FOOD NUTRITION BOARD, 2000).

Para Pereira (2009), a garantia de benefícios de vitaminas e outros antioxidantes na prevenção e modulação das consequências negativas à saúde humana proveniente dos radicais livres, precisa de definição de doses e protocolo de tratamento, sendo também necessários mais estudos envolvendo o mecanismo de ação dessas substâncias para garantir sua prescrição em larga escala.

5.2.3 Fibra dietética

A ingestão de alimentos ricos em fibras (frutas, hortalicas, grãos integrais) tem sido associada a benefícios à saúde, tais como redução do colesterol LDL, maior controle da glicemia e trânsito intestinal mais eficaz, reduzindo o risco de dislipidemias, diabetes, constipação, diverticulite e obesidade. Tais benefícios são concedidos graças às propriedades das fibras de reduzir a absorção de colesterol (por meio da fermentação no intestino grosso e produção de ácidos graxos de cadeia curta que irão inibir a síntese de colesterol hepático), redução da absorção de glicose sanguínea, aumento do peristaltismo intestinal e redução do esvaziamento gástrico, proporcionando maior saciedade (FERREIRA, 2010; ESPIRITO SANTO et al., 2012; MILDNER-SZKUDLARZ et al., 2013; TSENG e ZHAO, 2013).

A denominação de fibra dietética surgiu em 1953, quando Hipsley utilizou este termo para denominar constituintes não digeríveis da parede celular de plantas. Mais tarde, entre 1972 e 1976, este termo foi associado a benefícios à saúde (FERREIRA, 2010).

O termo fibra dietética total inclui as frações solúvel e insolúvel em água. A fibra solúvel é responsável pelo aumento do tempo de trânsito intestinal e está relacionada à diminuição do esvaziamento gástrico, ao retardo da absorção de glicose, diminuição da glicemia pós-prandial e redução do colesterol sanguíneo devido às suas propriedades físicas que conferem viscosidade ao conteúdo luminal. No cólon, as fibras solúveis são fermentadas pelas bactérias intestinais, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico). Estes ácidos graxos são responsáveis por regular a proliferação epitelial e diferenciação da mucosa colônica (butirato); aumentar o fluxo sangüíneo e produção de muco; constituir fonte energética preferencial para os colonócitos (butirato); reduzir o pH no cólon, com efeito no equilíbrio da microflora intestinal; estimular a absorção de sódio e água; exercer efeito sobre o metabolismo lipídico (propionato) e glicídico (acetato e propionato) e estimular a secreção pancreática e de outros hormônios. Consiste de polissacarídeos não celulósicos, como pectinas, gomas e mucilagens, encontradas em frutas, farelo de aveia, cevada e leguminosas (feijão, lentilha, ervilha e grão de bico) (FERREIRA, 2010; RODRIGUES, 2010).

A fibra insolúvel é composta principalmente por celulose, lignina, cutina, quitina, hemicelulose e amido resistente, presentes na maioria dos grãos, raízes e hortaliças. Contribui para o aumento do volume do bolo fecal, redução do tempo de trânsito intestinal, retardo da absorção de glicose e retardo da hidrólise do amido. Geralmente, não sofrem fermentação, de maneira que, quando esta ocorre, ela se dá de forma lenta. Proporcionalmente, a fração insolúvel das fibras é a mais abundante, constituindo cerca de 2/3 a 3/4 de a fibra alimentar de uma dieta composta por variados alimentos de origem vegetal (FERREIRA, 2010; RODRIGUES, 2010).

As fibras dietéticas podem também ser classificadas de acordo com o papel que desempenham nos vegetais, sendo polissacarídeos estruturais, constituído por componentes da parede celular de plantas (celulose, hemicelulose, pectina) e não estruturais (lignina) (RODRIGUES, 2010).

De acordo com Ferreira (2010), o termo fibra total seria o somatório de fibra dietética e fibra funcional. De acordo com os autores, fibra dietética são carboidratos não digeríveis e lignina, intrínseca e intacta em plantas, enquanto fibra funcional constitui carboidratos não digeríveis com efeitos benéficos à saúde humana.

A fibra dietética obtida a partir de subprodutos (casca, talos, farelos) podem conter quantidades apreciáveis de antioxidantes ou outras substâncias com efeitos positivos para a saúde, protegendo contra doenças cardiovasculares, proporcionando melhorias no funcionamento gastrointestinal; melhor tolerância à glicose e resposta à insulina, redução do risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer (MARTÍNEZ et al., 2012).

Assim, a utilização de subprodutos da agricultura fontes de fibras têm direcionado muitas pesquisas visando sua aplicação tecnológica em indústrias alimentícias e sugerindo benefícios à saúde. De acordo com Martínez et al. (2012) co-produtos ricos em fibra podem ser incorporados a produtos alimentares, como agentes de volume não calóricos utilizados em substituição parcial à farinha de trigo, gordura ou açúcar; para melhorar a emulsão ou aumentar a estabilidade oxidativa destes produtos. Uma grande variedade de alimentos, incluindo produtos de carne e derivados (FERNÁNDEZ- LÓPEZ et al, 2008; SÁNCHEZ-ZAPATA et al., 2010), produtos de padaria (MARTÍNEZ-CERVERA et al., 2011; MILDNER-SZKUDLARZ et al., 2013) e laticínios (SENDRA et al., 2008; ESPÍRITO SANTO et al., 2012 CHOUCHOULI et al., 2013; TSENG e ZHAO, 2013) foram enriquecidos com fibras de subprodutos agroindustrais.

Segundo Ferreira (2010), a utilização de fibras dietéticas na alimentação ainda permanece baixa, provavelmente devido à baixa qualidade sensorial e consequentemente pouca aceitação comercial dos produtos desenvolvidos.

Em relação à recomendação de consumo de fibras totais, a American Dietetic Association (ADA) recomenda, para adultos sadios, a ingestão de 20 a 35 g/dia ou 10 a 13 g de fibras para cada 1.000 kcal ingeridas. Para crianças (acima de 2 anos) e adolescentes (até 20 anos), a recomendação é igual à idade mais 5 g de fibras/dia. Para os idosos, recomenda-se de 10 a 13 g de fibras para cada 1.000 kcal ingeridas (COPPINI et al., 2004). Para uma ingestão diária equilibrada em fibras, a recomendação segundo a Food and Drug Administration (FDA) é que do consumo total de fibras, 70 a 75% seja de fibra insolúvel e 25 a 35% de fibra solúvel (PINHO, 2009).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo de fibras deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis. Para as fibras, a alegação de alimento funcional pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de fibras se o alimento for sólido ou 1,5g de fibras se o alimento for líquido. Além disso, na tabela de informação nutricional deve ser declarada a quantidade de fibras alimentares presente no produto. No caso de produtos nas formas de cápsulas, tabletes, comprimidos e similares, os requisitos devem ser atendidos na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. No rótulo do produto deve ainda conter a informação em destaque e em negrito: "O consumo deste produto deve ser acompanhado da ingestão de líquidos" (BRASIL, 1999)

O método enzímico-gravimétrico (PROSKY et al., 1984), oficializado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1999) tem sido um dos mais utilizados para análise do conteúdo de fibras em alimentos, por adaptar-se às necessidades de controle de qualidade e rapidez de execução. Neste método, o alimento é tratado com diversas enzimas fisiológicas com a finalidade de simular as condições do intestino delgado, permitindo separar e quantificar, gravimetricamente, o conteúdo total da fração fibra (FT), e/ou as frações solúveis (FS) e insolúveis (FI). Neste método, as amostras são tratadas com enzimas αamilase, protease e amiloglucosidase e soluções tampão em diferentes níveis de pH e temperatura, para remoção total do amido e parcial da proteína (PINHO, 2009).

Em uvas, o conteúdo de fibra dietética total está em torno de 0,9g/100g de parte comestível (NEPA, 2006; PINHEIRO, 2008).

6. POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BAGAÇO DE UVA

O bagaço da uva é um subproduto agroindustrial constituído pela casca ou película, as sementes e os restos da polpa da uva, sendo o resultado do esmagamento do grão através de um processo de separação do suco ou mosto (FERREIRA, 2010; YU e AHMEDNA, 2013).

A casca da uva representa 5% a 10% da baga e seu conteúdo em compostos fenólicos pode variar de 285 a 550 mg de fenóis/Kg de casca, dependendo também de fatores como variedade, condições climáticas e de cultivo (FERREIRA, 2010).

As sementes contém quantidades significativas de lipídeos, especialmente ácidos graxos essenciais, tais como os ácidos graxos poliinsturados linoleico e linolênico, relacionados à inúmeros efeitos benéficos à saúde, tais como, redução de colesterol LDL e glicose; além de fibras, proteínas, compostos fenólicos, açúcares e minerais (NATIVIDADE, 2010; SELANI, 2010).

Em virtude das propriedades funcionais dos resíduos de uva, a extração destas substâncias bioativas abrem muitas oportunidades de agregação de valor pela aplicação nas indústrias alimentícia, química e farmacêutica, em virtude dos diversos efeitos positivos sobre a saúde, tais como prevenção de câncer, doenças cardiovasculares, mal de Alzheimer e outras doenças degenerativas; além da redução do impacto ambiental e de perdas econômicas. Os antioxidantes naturais destes resíduos podem também ser utilizados para aumentar a vida de prateleira de alguns produtos alimentícios, como óleos e carnes processadas, por meio de sua propriedade de prevenção da peroxidação lipídica e proteção dos danos oxidativos nos alimentos (CATANEO et al, 2008; MONTEIRO, 2011).

6.1 Polifenóis de resíduos de uva

Subprodutos da uva representam uma rica fonte de fitoquímicos. A atividade antioxidante é a bioatividade mais notável dos compostos fenólicos de resíduos de uva. Características antioxidantes têm sido amplamente estudadas, incluindo a eliminação de radicais livres, a inibição da oxidação de lípidos e redução na formação de hidroperóxidos (XIA et al., 2010).

A composição de polifenóis de resíduos de uva depende da variedade de uva em estudo e é influenciado pelas condições de cultivo, tais como, localização geográfica e clima; além do estádio de maturação da uva. As castas tintas são geralmente mais ricas em antocianinas que as variedades brancas. Dentro da mesma variedade, há variações significativas na composição de polifenóis (YU e AHMEDNA, 2013).

A semente de uva é rica em polifenóis, como os ácidos fenólicos, flavonóides, procianidinas; enquanto em casca das uvas, destacam-se as antocianinas e resveratrol. Os benefícios de saúde de polifenóis em resíduos de uva tem sido de grande interesse para pesquisadores, indústria de alimentos e indústria nutracêutica. Em adição aos antioxidantes fenólicos, os resíduos de uva também contêm quantidades significativas de lípidos, proteínas, fibras e minerais (YU e AHMEDNA, 2013).

Óleo de semente de uva é composto de média de 90% de ácidos graxos poli e monoinsaturados, em especial de ácido linoléico (66,76-73,61 %), ácido oleico (17,8-26,5%), ácido palmítico (6,35-7,93%) e ácido esteárico (3,64-5,26%) (BEVERIDGE et al., 2005; RUBIO et al., 2009) e quantidades menores de ácidos graxos saturados (10%). Além disso, óleo de semente de uva possui um elevado ponto de fumaça (cerca de 190-230 °C), tornandoo adequado para cozinhar a altas temperaturas (MORIN, 1996; BAIL et al., 2008).

As composições de ácidos graxos e de antioxidantes em óleo de semente de uva podem ser significativamente afetadas pela variedade da uva, condições de cultivo e métodos de extração (BAIL et al., 2008).

Sementes de uva também contêm certa quantidade de fitoesteróis. Os fitoesteróis são bem conhecidos por sua ação antiarteriosclerótica. O conteúdo total de esteróis em sementes de uva foi estimado em 18 a 530 mg/L de óleo (RUBIO et al., 2009). Óleo de semente de uva é muito utilizado na indústria cosmética para regenerar tecidos da pele danificados (BEVERIDGE *et al.*, 2005).

A fibra dietética do bagaço de uva inclui pectina, celulose, lignina e polifenóis. A composição de fibra dietética de bagaço de uva também depende sobre a variedade de uvas e da composição do bagaço (LLOBERA e CANÊLLAS, 2007; DENG et al, 2011).

Diversos estudos têm sido realizados com objetivo de caracterizar estes resíduos quanto à composição química e nutricional e avaliar seu potencial biotecnológico (TABELA 5).

TABELA 5: Síntese de pesquisas sobre o potencial biotecnológico de resíduos de uva (Vitis vinífera L.) (Continua).

Desenho do Estudo	Principais Resultados	Ano	Referência
Avaliação do conteúdo total de polifenóis e capacidade antioxidante bagaços de uva das variedades Pinot Noir e Regente.	Os extratos de bagaço de uva apresentaram potencial antioxidante atuando como inibidores de radicais livres, ou atuando em sinergismo com o antioxidante sintético BHT	2007	Rockenbach et al.
Avaliação do conteúdo total de polifenóis e capacidade antioxidante de sementes de uvas tinta, de 11 variedades.	As sementes de uva apresentaram elevado conteúdo de fenólicos e apresentaram capacidade antioxidante, sugerindo sua aplicação como suplemento alimentar.	2008	Bozan <i>et al</i> .
Investigação do potencial antioxidante do resíduo no processamento de uvas de duas variedades coletadas em Videira-SC, como fonte natural de polifenóis e outros agentes profiláticos (antioxidantes) para aplicação nas indústrias alimentícia e de fitoterápicos.	Sugerem como fonte alternativa de compostos fenólicos, a utilização das biomassas residuais da indústria vitivinícola. Devido às suas propriedades antioxidantes, abrem espaço para uma série de perspectivas de sua exploração, principalmente na indústria de fitoterápicos e de complementos alimentares.	2008	Cataneo et al.
Quantificação de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante nos extratos de bagaço de uva das variedades <i>Tannat</i> e <i>Ancelota</i> .	O sistema solvente utilizado na extração influenciou diretamente os conteúdos de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante. Fenólicos totais foram mais bem extraídos em acetona (50 e 70%), enquanto que as antocianinas foram melhor extraídas em etanol (50 e 70%).	2008	Rockenbach et al.
Determinação da capacidade antioxidante hepatoprotetora em animais, induzida por resíduos de uva (casca e semente).	Os resíduos de uva administrados junto á dieta (20% do peso) protegeu o tecido hepático lesado por álcool, a partir do quinto dia de administração desta dieta.	2008	Sandoval <i>et al</i> .
Determinação do conteúdo total de compostos fenólicos, incluindo antocianinas totais e flavanois e a atividade antioxidante, nos extratos da casca das uvas de mesa Niagara Rosada e Isabel.	A capacidade antioxidante esta relacionada com o conteúdo de polifenois totais e antocianinas nas cascas analisadas. Apesar de a casca da uva 'Niagara' apresentar menor teor de antocianinas, os melhores valores de TEAC são devidos ao seu maior conteúdo de flavanois.	2008	Soares et al.
Determinação da capacidade antioxidante, antibacteriana e tanante de subprodutos de uva.	O extrato de semente de uva desengordurada apresentou alta atividade antibacteriana <i>in vitro</i> contra cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> e atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico. A atividade tanante mostrou-se elevada.	2009	Rotava <i>et al</i> .

TABELA 5: Síntese de pesquisas sobre o potencial biotecnológico de resíduos de uva (Vitis vinífera L.) (Continua).

Desenho do Estudo	Principais Resultados	Ano	Referência
Determinação do conteúdo de polifenóis e atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos de casca de uva de 14variedades cultivadas na Croácia.	O conteúdo total de catequina, epicatequina, proantocianidina, quercetina e resveratrol variaram em função de cada amostra pesquisada. Foi observada atividade antioxidante tanto nas uvas de cor verde como nas uvas de coloração tinta. As amostras inibiram o crescimento dos microorganismos Gram-positivo (Staphylococcus aureus, Bacillus cereus) e Gram-negativo (Escherichia coli, Salmonella Infantis, Campylobacter).	2010	Katalinic´ et al.
Investigação do teor de composto fenólico em diferentes partes de uvas.	As cascas das uvas provaram ser ricas fontes de antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos, flavonoides. Ácido gálico e flavonóides estavam presentes principalmente nas sementes.	2010	Xia et al.
Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares de uva cultivadas na China.	Diferenças significativas no conteúdo fenólico e de flavonoides das 18 cultivares estudadas, mas a atividade antioxidante foi semelhante entre as de mesma espécie.	2010	Xu et al.
Composição química de fibra alimentar e polifenóis de cinco diferentes variedades de casca de bagaço de uva de vinho.	O estudo mostrou que as cascas de uva podem ser fontes ideais de fibra dietética e compostos bioativos, especialmente flavonóides e antocianinas.	2011	Deng, Penner e Zhao
Determinação de fenólicos e atividade antioxidante de extratos de casca e semente de resíduos de vinificação.	Catequina foi o composto não antociânico mais abundante identificado em todas as variedades (150,16 mg.100 g ⁻¹). O bagaço de uva da variedade Cabernet Sauvignon teve o maior teor de compostos fenólicos totais (75 mg.g ⁻¹),	2011	Rockenbach et al.
Determinação de trans-resveratrol, atividade antioxidante, fenólicos totais, composição centesimal e perfil lipídico da casca, polpa e semente de 4 variedades de uva.	As sementes apresentaram maior conteúdo em ácidos graxos poli-insaturado, principalmente ácido oleico e elevados níveis de trans-resveratrol, fenólicos e atividade antioxidante, seguido dos valores para casca e polpa.	2011	Santos et al.

TABELA 5: Síntese de pesquisas sobre o potencial biotecnológico de resíduos de uva (Vitis vinífera L.) (Conclusão).

Desenho do Estudo	Principais Resultados	Ano	Referência
Avaliação da atividade antioxidante presente nas farinhas de resíduos de maçã, uva branca e escura. Adicionalmente, a farinha com maior atividade antioxidante foi utilizada na formulação de barra de cereais.	A utilização da farinha de uva escura com elevada atividade antioxidante, permitiu formular um produto integral e com características de alimento rico em fibras, além do aproveitamento do resíduo produzido durante o processamento da uva.	2011	Balestro, Sandri e Fontana
Avaliação da capacidade antioxidante da casca de diferentes variedades de uva.	As uvas quando comparadas com outras frutas, apresentam atividade antioxidante elevada sendo esta devido à presença de vitaminas e principalmente à grande quantidade de compostos fenólicos presentes nas cascas.	2012a	Souza et al.
Caracterização de sementes de uva por fenóis totais e conteúdo de elementos essenciais como um subproduto da vinificação.	Foi demonstrado um potencial considerável de sementes de uva, um subproduto do processo de vinificação, como uma fonte expressiva de alto valor agregado de compostos nutricionalmente benéficos – polifenois e antioxidantes e macro e microelementos.	2013	Lachman <i>et al</i> .

Além destes, estudos realizados anteriormente buscam elucidar os mecanismos pelos quais os compostos fenólicos presentes em uvas e seus resíduos agem na prevenção de doenças cardiovasculares, controle do peso corporal e envelhecimento, são de grande importância para a comunidade científica e impulsionam pesquisas futuras.

6.1.1 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva e doenças cardiovasculares

Estudos epidemiológicos sugerem que o consumo de vinho, suco de uva e outros alimentos que contêm polifenóis está associado à diminuição do risco de doença cardiovascular. A doença cardiovascular está relacionada com alterações no metabolismo de ácidos graxos e com a peroxidação lipídica excessiva de LDL. Estes produtos de oxidação também estão implicados na formação de tromboxano, que passa primeiro pelo aumento da agregação plaquetária, com consequente bloqueio da artéria e finalmente trombose. A acumulação de produtos de oxidação de lipídios de LDL pode ser atribuída aos baixos níveis de antioxidantes do plasma (YU e AHMEDNA, 2013).

Segundo Sano et al. (2005), os polifenóis de semente de uva podem reduzir o risco de doença cardíaca através da inibição da oxidação de LDL. A administração intravenosa e oral de procianidinas de semente de uva foi responsável por inibir significativamente a formação de trombos induzidos a laser na artéria carótida de ratos.

A proteção contra a isquemia-reperfusão do miocárdio e lesão miocárdica em ratos foi relatado por Karthikeyan et al. (2009). Os estudos experimentais em ratos, indicaram que polifenóis da uva podem reduzir a aterosclerose por uma série de mecanismos, incluindo inibição da oxidação de LDL e outros efeitos favoráveis sobre o estado redox celular, melhora da função endotelial, diminuindo a pressão arterial, inibição da agregação plaquetária, a redução da inflamação e de ativação de novas proteínas que impedem a senescência celular (DOHADWALA e VITA, 2009).

Em um estudo realizado por Norata et al. (2007), a suplementação com uma mistura de catequina, ácido cafeico e resveratrol na dieta de coelhos, reduziu significativamente a formação de placa aterosclerótica em 40 e 36 % na aorta seio e na aorta ascendente, respectivamente. A dieta suplementada apenas com resveratrol também mostrou significativa proteção antiaterogênica e anti- inflamatórios com uma dieta hipercolesterolemica (1 % de colesterol).

6.1.2 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva e controle do peso corporal

Em estudo realizado por Caimari et al. (2013), mostrou que a suplementação com farinha de semente de uva na proporção de 25 mg/ kg de peso corporal/dia na dieta com alto teor de gordura, mostrou redução no índice de adiposidade e peso corporal em ratos. De acordo com Yu e Ahmedna (2013), os polifenóis de sementes de uva podem desempenhar um papel importante no controle do peso corporal.

6.1.3 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva e controle envelhecimento celular

De acordo com Yu e Ahmedna (2013), extratos de semente de uva demonstram ter um papel modulador no dano oxidativo ao DNA relacionada à idade e peroxidação lipídica no sistema nervoso central de ratos. Ratos idosos suplementados com extratos de sementes de uva mostraram um melhor desempenho da memória, redução da produção de espécies reativas de oxigênio e redução da hipóxica e consequente lesão em seu sistema nervoso central. Além disso, o estudo mostrou que o resveratrol poderia exercer neuroproteção contra a isquemia e doenças neurodegenerativas (MARKUS e MORRIS, 2008).

6.1.4 Atividade antioxidante de polifenóis de resíduos de uva em alimentos

Polifenóis de sementes de uva tem reduzido o desenvolvimento do sabor rançoso associado a produtos de oxidação lipídica em vários produtos de carne bovina, óleo de peixe e frango (AHN et al, 2002; PAZOS et al, 2005; MIELNIK et al, 2006; BANON et al, 2007; BRANNAN e MAH, 2007; CARPENTER et al, 2007; BRANNAN, 2009). De acordo com Yu e Ahmedna (2013), o nível de concentração mínimo de fenólicos de sementes de uva necessária para produzir um efeito antioxidante seria de 400 microgramas/g¹.

O bagaço de uva tem sido relatado como útil para inibir a oxidação lipídica de frangos (cru e cozido) (SA'YAGO-AYERDI et al., 2009) e também tem sido utilizado na fortificação de pães (300, 600 e 1.000 mg por 500 g de pão), no intuito de avaliar atributos de qualidade como textura e cor (PENG et al, 2009).

Extratos de semente de uva foram empregados com sucesso para a produção iogurtes fortificados. A fortificação de iogurtes em 5 e 10 mg GAE/100g não influenciaram o pH dos iogurtes e a viabilidade das bactérias lácticas, enquanto que, além disso não causaram prejuízos na consistência, cor e sabor dos produtos. Além disso, as amostras de iogurte fortificado exibiram maior atividade antioxidante em relação aos controles, ao longo de 3 a 4 semanas de armazenamento (CHOUCHOULI et al., 2013).

7. ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE EM ESPÉCIES VEGETAIS

Os componentes isolados de produtos vegetais contêm inúmeros compostos orgânicos naturais, produtos do metabolismo primário e secundário, que podem exercer efeitos benéficos ou maléficos sobre o organismo. As reações adversas que estes compostos poderão desencadear podem ser decorrentes de seus próprios componentes ou pela presença de contaminantes. Dessa forma, para melhor entendimento do uso e garantia de benefícios de produtos vegetais, é necessária a avaliação da relação risco/benefício do seu uso, por meio de estudos farmacodinâmicos e de toxicidade (ALMEIDA et al., 2009).

7.1 Toxicidade frente ao micro crustáceo Artemia salina sp.

Dentre os testes que avaliam a toxicidade de produtos vegetais, têm-se o estudo com o micro custáceo Artemia salina sp. Esta metodologia é simples, de baixo custo e vem sendo bastante utilizada para avaliar a citotoxicidade de plantas. Embora não seja um método específico, apresenta uma boa correlação com toxicidade com células tumorais e atividade pesticida (KUNZ, 2007). É possível determinar a concentração letal (CL₅₀), concentração de um agente em um meio que causa mortalidade em 50% da população exposta, durante um determinado período de tempo (LHULLIER, HORTA e FALKENBERG, 2006; SANCHO, 2011). De acordo com Galotta e Boaventura (2005), extratos cuja CL₅₀ seja menor que 80μL/mL são considerados altamente tóxicos, moderadamente tóxicos os extratos com CL₅₀ entre80μL/mL e 250μL/mL, e pouco tóxicos ou não tóxicos, os extratos com CL₅₀ maior que $250\mu L/mL$.

A atividade do teste é determinada pela toxicidade de componentes ativos, frações ou extratos de produtos naturais frente à *Artemia salina* sp. (ARAUJO, CUNHA e VENEZIANI, 2010; SANCHO, 2011). A Artemia salina sp. é um micro crustáceo de água salgada, componente da fauna de invertebrados aquáticos de solução salina ou de ecossistemas marinhos, comumente utilizada para alimentação de peixes. Por sua alta sensibilidade a diferentes compostos, tem sido bastante utilizado em ensaios biológicos, tais como análises de resíduos de pesticidas, micotoxinas, anestésicos, toxinas de vegetais e toxicidade de dispersantes de óleo (SANTOS et al., 2010; SANCHO, 2011).

Estudos sobre a letalidade com Artemia salina sp., em extratos vegetais têm sido bastante realizados (KUNZ, 2007; NASCIMENTO et al., 2008; ARAUJO, CUNHA e VENEZIANI, 2010; LACHUMY et al., 2010; BUSSMANN et al., 2011; JIMÉNEZ et al., 2011; SANCHO, 2011). O ensaio permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto, é considerado essencial como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica (ARAUJO, CUNHA e VENEZIANI, 2010). De acordo com Sancho (2011), a avaliação da toxicidade frente à Artemia salina sp., pode indicar a utilização de extratos vegetais com atividade biológica. Em virtude de sua simplicidade de execução (não requer equipamentos especiais) favorece sua utilização.

REFERENCIAS

- ABDILLE, M. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. Food Chemistry, v. 90, n. 4, p. 891-896, 2005.
- ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis lambrusca L. e Vitis vinífera L. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, p. 394-400, 2007.
- ABRAHÃO, E. Potencialidades do município de lavras MG para a produção extemporânea de uvas "Niágara rosada" para mesa. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.26, n.4, p.865-868, jul./ago. 2002.
- ACESSEPIAUI, 2012. Festival da uva em São João do Piauí. Disponível em: http:// www.acessepiaui.com.br>. Acesso em 12 jan. 2012.
- AGROSTAT. 2011. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Disponível http://sistemasweb.agricultura.gov.br/ pages/AGROSTAT.html>. Acesso em: 11 fev. 2011.
- AHN, J., GRUN, I.U.; FERNANDO, L.N. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. Journal of Food Science, v.67, p.1364–1369, 2002.
- ÁJILA, C.M.; NAIDU, K. A.; BHAT, S. G.; RAO, U. J. S. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. Food Chemistry, v.105, p.982-988, 2007.
- ALMEIDA, A.C.; SOBRINHO, E.M.; PINHO, L. de.; SOUZA, P.N.S.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R.; SANTOS, H.O.; BRANDI, I.V.; CANGUSSU, A.S.; COSTA, J.P.R. Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.1, p.100-106,2009.
- ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quimica Nova**, v. 33, n. 10, p.2202-2210, 2010.
- AMORIM, R.; GALHARDO, A.; VALADÃO, C. A. A.; PECCININI, R. G. Determinação de cetamina em plasma por HPLC: aplicação em um estudo de farmacocinética de associação medicamentosa em cães. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Araraquara, v. 29, n. 1, p. 69-75, 2008.
- ANASTASIADI, M.; PRATSINIS, H.; KLETSAS, D.; SKALTSOUNIS, A.L.; HAROUTOUNIAN, S.A. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts. Food Research International, v. 43, p.805–813, 2010.

ANDRADE JÚNIOR, A.S.; TONIETTO, J.; BASTOS, E.A.; CONCEIÇÃO, M.A.F. Potencial climático da região semiárida do Piauí para a produção de uvas destinadas à elaboração de vinhos finos. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2010. 33 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 23).

ANDRADE JÚNIOR, A. S. de.; BASTOS, E. A.; SILVA, C. O. da. Zoneamento de aptidão climática para a videira européia no Estado do Piauí. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009. 30 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 194).

ANDRADE JÚNIOR, A.S.; TONIETTO, J.; BASTOS, E.A.; CONCEIÇÃO, M.A.F. Classificação climática e regionalização do semi-árido do Estado do Piauí sob cenários pluviométricos distintos. Revista Ciência Agronômica, v. 36, n. 2, p.143-151, 2005.

ANDRADE JÚNIOR, A. S. de.; BASTOS, E. A.; BARROS, A. H. C.; SILVA, C. O. da; GOMES, A. A. N. Classificação climática do Estado do Piauí. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2004. 86 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 86).

ÂNGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. Functional foods in angiology and vascular surgery. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n.2, p.145-154, 2004.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Editora Gazeta Santa Cruz Ltda. Santa Cruz do Sul: Gazeta. 136p. 2013.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 19, n. 2, jul./dez. 2001.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis.16th. ed. Washingthon, DC, 1995.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetables foods commonly consumed in Brazil and estimates ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.1124-31, 2004.

ARAUJO, M.E.M.B. de. Avaliação das atividades antioxidante e antiproliferativa da rutina e seus produtos obtidos por hidrolise enzimática. 2012. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-graduação em Ciencias da Saude, Universidade São Francisco. Bragança Paulista, SP, 2012.

ARAUJO, M.G.F.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de Artemia salina Leach do extrato obtido de frutos de Solannum lycocarpum A. ST.-Hill (Solanacede). Revista Ciência Farmacêutica Aplicada Basica, v.31, n.2, p.205-209, 2010.

ARAÚJO, J. M. Química de Alimentos: teoria e prática, 3ªed., Editora UFV, 2004. 478 p.

- ARTS, I.C.W.; VAN DE PUTTE, B.; HOLLMAN, P.C.H. Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands: tea, wine, fruit juice and chocolate milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.48, n.5, p.1752-1757, 2000.
- ATMANI, D.; CHAHER, N.; BOUDAOUD, H.; DEBACHE, N.; BERBOUCHA, M. Flavonoids in human health: from structure to biological activity. Current Nutrition & **Food Sci**ence, v.5, p.225-237, 2009.
- BAGCHI, D.; BAGCHI, M.; STOHS, S.J. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract, importance in human health and disease prevention. Toxicology, 148, 187–197, 2000.
- BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. Food Chemistry, v.108, p.1122-1132, 2008.
- BALASUNDRAM, N.; SUDRAN, K.; SUMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: antioxidant activity, occurrence and potencial uses. **Chemistry**, v.99, p.191-203, 2006.
- BALESTRO, E.A.; SANDRI, I.G.; FONTANA, R.C. Utilização de bagaco de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.13, n.2, p.203-209, 2011.
- BANON, S.; DIAZ, P.; RODRIGUEZ, M.; GARRIDO, M.D.; PRICE, A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. Meat **Science**, v.77, p.626–633, 2007.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quimica Nova, v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.
- BARRETO, N.D.S. Qualidade, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutos de híbridos comerciais de meloeiro cultivados no CE e RN. 2011.185f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Área de Concentração: Agricultura tropical.Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró, RN, 2011.
- BATISTA, Patrício Ferreira. Qualidade, compostos biativos e atividade antioxidante em frutas produzidas no Submédio do Vale do São Francisco. 2010. 162f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de concentração: Agricultura Tropical)- Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró, RN, 2010.
- BENNETT, J. W; CHUNG, K.-T. Alexander Fleming and the discovery of penicillin. Advances in Applied Microbiology, v.49, p.163-84, 2001.
- BENOV, L.; BEEMA, A.F. Superoxide-dependence of the short chain sugarsinduced mutagenesis. Free Radical Biology & Medicine, v.34, p. 429–433, 2003.

- BERGAMASCHI, K. B. Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento. 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, SP, 2010.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in **Enzymology**, v.29, p.15–27, 1999.
- BERSET, C.; CUVELIER, M. E. Scienses des Aliments. [S.l: s.n.], 1996, v. 16, 219p.
- BEVERIDGE, T.H.J.; GIRARD, B.; KOPP, T.; DROVER, J.C.G. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1799–1804, 2005.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BIESALSK, I. H. K. Free radical theory of ageing. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, v.5, p.5–10, 2002.
- BILBAO, M. L. M.; ANDRES-LACUEVA, C.; JAUREGUI, O.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Determination of flavonoids in a citrus fruit extract by LC-DAD and LC-MS. **FoodChemistry**, v.101, p. 1742-1747, 2007.
- BIRT, D.F.; HENDRICH, S.; WANG. W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v.90, p.157-77, 2001.
- BOBEK, P. Dietary tomato and grape pomace in rats: effect on lipids in serum and liver, and on antioxidant status. British Journal of Biomedical Science, v.56, p. 109–113, 1999.
- BOBBIO F.O., BOBBIO, P.A. Introdução à química de alimentos. 2.ed. São Paulo : Varela, 1992. p.163-190: Vitaminas.
- BORGES, C. D.; CHIM, J. F.; LEITÃO, A. M.; PEREIRA, E; LUVIELMO, M. M.Produção de Suco de Abacaxi Obtido a Partir dos Resíduos da Indústria Conserveira. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v.22, n.1, p.23-34, 2004.
- BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. (Coord.). Biotecnologia Industrial: fundamentos. 1ª. Ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2001, 254p.
- BOZAN, B.; TOSUN, G.; OZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (Vitis vinifera L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. Food **Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 426-430, 2008.
- BOYLE, S. P.; DOBSON, V. L.; DUTHIE, S. J.; HINSELWOOD, D. C.; KYLE, J. A. M.; COLLINS, A. R. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a

humansupplementation study. European Journal of Clinical Nutrition, v.54, p. 774-782, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BRANNAN, R.G. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. **Meat Science**, v.81, p.589–595, 2009.

BRANNAN, R.G.; MAH, E. Grape seed extract inhibits lipid oxidation in muscle from different species during refrigerated and frozen storage and oxidation catalyzed by peroxynitrite and iron/ ascorbate in a pyrogallol red model system. **Meat Science**, v.77, p.540-546, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 18 de 30 de Abril de 1999. Diretrizes básicas para a análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 mai. 1999, seção 1, p.11.

BRASIL. 2002a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 1 de fev. de 2002. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação da uva fina de mesa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 4 fev. 2002a. Seção 1, p. 7.

BRASIL. 2002b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 10 de fev. de 2002. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade para a Classificação de Abacaxi, Uva Fina e Uva Rústica. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 4 fev. 2002b. Seção 1, p. 7.

BRASIL. 2002c. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 jan. 2002c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação para específica aditivos. Disponível http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm. Acesso em: 10 jun. 2010.

BRASIL. Ministério do meio ambiente. Plano nacional de resíduos sólidos. Versão preliminar para consulta. Brasília 2011. 109 p.

BRASIL. 2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do agronegócio 2011/2012 à2021/2022. Brasília, DF, abril de 2012.

BRAUN, J.; OMEIS, J. Additives in lubricants and lubrications. MANG.T.; DRESEL, W. (eds.); Wiley-VCHGmbH, Weinheim, 2001.

- BRAVO L.; SAURA-CALIXTO, F. Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. American Journal of Enology and Viticulture, v.49, p. 135–141, 1998.
- BRAZ-FILHO, R. Atividades de investigação em química de produtos naturais. IN: BRAZ-FILHO, R.; MORAIS, S. M. de. (Organizadores). Produtos naturais: estudo químicos e biológicos. Fortaleza: Ed. UECE, 2007. 240P.
- BUSSMANN, R.W.; MALCA, G.; GLENNA, A.; SHARON, D.; NILSEN, B.; PARRIS, B.; DUBOCE, D.; RUIZ, D.; SALEDA, J.; MERTINEZ, M.; CARILLO, L.; WALKER, K.; KUHLMAN, A.; TOWNESMITH, A. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. Journal of Ethnopharmacology, v.137, n.1, p.121-140, 2011.
- CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. G.; ARAÚJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. Brasilian Journal of Food **Technology**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2009.
- CAIMARI, A.; DEL BAS, J.M.; CRESCENTI, A.; AROLA, L. Low doses of grape seed procyanidins reduce adiposity and improve the plasma lipid profile in hamsters. International Journal of Obesity, v.37, n.4, p.576-583, 2013.
- CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na Viticultura Brasileira. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 144-149, Out. 2011.
- CAMARGO, U. A. Impacto das cultivares brasileiras de uva no mercado interno e potencial no mercado internacional. In: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2008. Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 37-42.
- CANUTO, G.A.B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M. de T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, Dez. 2010.
- CANETT ROMERO, R.; LEDESMA OSUNA, A.I.; ROBLES SA' NCHEZ, R.M.; MORALES CASTRO, R.; LEO' N-MARTI'NEZ, L.; LEO' N-GA' LVEZ, R. Characterization of cookies made with deseeded grape pomace. Archivos Latinoamericanos Nutricion, v.54, p.93–99, 2004.
- CAO, G.H.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. Free Radical Biol. Med. V.14, p.303-311, 1993.
- CARPENTER, R.; O'GRADY, M.N.; O'CALLAGHAN, Y.C.; O'BRIEN, N.M.; KERRY, J.P. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. Meat Science, v. 76, p. 604–610, 2007.

CATANEO, C.B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico de resíduo agroindustrial da produção de vinho. Ciências Agrárias, Londrina, v.29, p.93-120, 2008.

CARIOCA, J.O.B.; ARORA, H.L. Recycling pocess for human food and animal feed from residues and resources. Fortaleza: Edições UFC/Banco do Nordeste, 2000.428p.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology, v.51, p. 15–25, 2013.

CARRATU, E; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable. Annali dell'Istituto Superiore di Sanita, v. 41, n.1, p.7-16, 2005.

CARRER, H.; BARBOSA, A.L; RAMIRO, D.A. Biotecnologia na agricultura. Estudos avançados. v. 24, p.70, 2010.

CARPENTER, R.; O'GRADY, M.N.; O'CALLAGHAN, Y.C.; O'BRIEN, N.M.; KERRY, J.P. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. Meat Science, v.76, p.604–610, 2007.

CARVALHO, C.M.R.de.; SOUSA, E.C.; MOREIRA-ARAÚJO, R.S. dos. R. Alimentos funcionais e longevidade. In: ARAÚJO, L. F. de.; CARVALHO, C.M.R. de.; LUCENA e CARVALHO, V.A.M. (Org.). As diversidades do envelhecer. Curitiba: Editora CRV, 2009. p.109-120.

CASTILLO-MUN'OZ, N.; GO' MEZ-ALONSO, S.; GARCI'A-ROMERO, E.; HERMOSI'N-GUTIE' RREZ, I. Flavonol profiles of Vitis vinifera white grape cultivars. Journal of Food Composition and Analysis, v. 23, p.699–705, 2010.

CELESTINO, S.M.C. Princípios de secagem de alimentos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Cerrados: Planaltina, DF, 2010. 51p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 276).

CHAVES, M. M. F.; USBERTI, R. Prediction of Dimorphandra mollis Benth seed longevity. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n.4, p. 557-564, 2003.

CHEN, T. J.; JENG, J. Y.; LIN, C. W.; WU, C. Y.; CHEN, Y. C. Quercetin inhibition of ROS-dependent and independent apoptosis in rat glioma C6 cells. Toxicology, v.223, p.113-126, 2006.

CHINCHOLE, R.; HATRE, P. M.; DESAI, U.; CHAVAN, R. Recent applications of hyphenated liquid chromatography techniques in forensic toxicology: a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, v. 14, n. 1, 2012

CHIOU, A.; PANAGOPOULOU, E.A.; GATZALI, F.; DE MARCHI, KARATHANOS, V.T. Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (Vitis vinifera L., var. Apyrena). Food Chemistry, v. 146, p. 157–165, 2014.

- CHOUCHOULI, V.; KALOGEROPOULOS, N.; KONTELES, S.J.; KARVELA, E.; MAKRIS, D.P.; KARATHANOS, V.T. Fortification of yoghurts with grape (Vitis vinifera) seed extracts. LWT - Food Science and Technology, v.53p. 522-529, 2013.
- CHU, Y.-F.; SUN, J.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.6910–6916, 2002.
- COLLINS, C. H. Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. Química Nova, São Paulo, v. 29, n. 4, 2006
- CONCEIÇÃO, M. A. F.; TONIETTO, J. Climatic potential for wine grape production in the tropical north region of Minas Gerais State, Brazil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 404-407, dez. 2005.
- COOMBE, B. G. Influence of temperature on composition and quality of grapes. Acta Horticulturae, v.206, p.23-35, 1987.
- COPPINI, L. Z., WAITZBERG, D. L., CAMPOS, F.G., HARB-GAMA, A. Fibras Alimentares e Ácidos Graxos de Cadeia Curta. In: Waitzberg, D.L. Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clinica. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 79 – 94.
- COSTA, G.F. Efeito do extrato da casca de uva Vitis Vinífera (GSE) na pressão arterial, no perfil lipídico e glicídico e no estresse oxidativo em ratos espontaneamente hipertensos. 2008. 89f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Fisiopatologia Clínica e Experimental)- Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, 2008.
- COSTA, Ana Carolina Sousa. Qualidade e atividade antioxidante na porção comestível e resíduos do processamento de acerola produzida no submédio do Vale do São Francisco. 2012.116f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2012.
- COSTACURTA, A.; ROSELLI, G. Critères climatiques et edaphiques pour l'établissement des vignobles. **Bulletin de l'O. I. V.**, Paris, v.53, n.596, p.783-786, 1980.
- COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; COLLIN, S. Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. Food Chemistry, v.98, p.649-657, 2006.
- COUTO, M.A.L.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. Ciência e Tecnolologia de Alimentos, Campinas, v.30, p.15-19, 2010.
- DANTAS, A. L. Qualidade, compostos bioativos, atividade antioxidante e enzimática de frutos de araçazeiros (*Psidium sp.*) do brejo paraibano, 2011. 102p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2010.
- DANTAS JUNIOR, O.R.C. Qualidade e capacidade antioxidante total de frutos de genótipos de umbuzeiro oriundos do semi-árido nordestino. 2008. 106f. Tese (Doutorado em Agronomia. Área de Concentração: Agricultura Tropical. Fisiologia Pós-

colheita de Frutos e Hortaliças Tropicais) - Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB, 2008.

DE´CORDE´, K.; TEISSE`DRE, P.L.; SUTRA, T.; VENTURA, E.; CRISTOL, J.P.; ROUANET, J.M. Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamstersby improving adipokine imbalance and oxidative stress markers. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.53, p.659–666, 2009.

DEGANI, A. L.; CASE, Q. L.; VIERA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química nova**, n. 7, p. 21-25, 1998.

DENG, Q.; PENNER, M.H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v.44, p.2712–2720, 2011.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DOHADWALA, M.M.; VITA, J.A. Grapes and cardiovascular disease. **Journal of Nutrition**, v.139, p.1788S–1793S, 2009.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; DANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DULLIUS, M.V. **Perfil de antocianinas e potencial antioxidante de vinhos tintos brasileiros.** 2012. 157f. Dissertação (Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2012.

EFSA. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to tertiary-butylhydroquinone (TBHQ). EFSA Journal, v. 84, p.1–50, 2004. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/84.pdf>. Acesso em 12 dez. 2013.

EFSA. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxyanisole–BHA (E 320) as a food additive. EFSA Journal, v. 9, 2011. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2392.pdf>. Acesso em 12 dez. 2013.

EFSA. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. EFSA Journal, v. 10, n.3, 2012. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2588.pdf>. Acesso em 12 dez. 2013.

ESPÍRITO SANTO, A.P. do.; CARTOLANO, N.S.; SILVA, T.F.; SOARES, F.A.S.M.; GIOIELLI, L.A.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M.N. Fibers from fruit by-

products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p.135–144, 2012.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. Chromatographia, Wiesbaden, v. 51, n. 1/2, 2000

FAO/WHO. CODEX ALIMENTARIUS. Norma Geral de Aditivos Alimentares do Disponível http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS 192s.pdf>. Acesso em 24 abr. 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statistical **Databases**, 2010. Disponível em: < http://faostat.fao.org/>. Acesso em 12 jan. 2012.

FLAMINI, R.; MATTIVI, F.; DE ROSSO, M.; BAVARESCO, P.A. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols. **International Journal of Molecular Science**, v.14, p.19651-19669, 2013.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. Brazilian Journal **Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006.

FARHOOSH, R.; NIAZMAND, R.; REZAEI, M.; SARABI, M. Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. European Journal of Lipid Science and Technology, Weinheim, v.110, p. 587-592, May, 2008.

FELTRIN, C. W.; MELLO, A. M. S.; SANTOS, J. G. R.; MARQUES, M. V.; SEIBEL, N. M.; FNTOURA, L. A. M. Quantificação de sulfadimetoxina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 80-82, 2007.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Development of functional ingredients: Fruits fibre. In J. Fernández-López & J. A. Pérez-Alvarez (Eds.). Technological strategies for functional meat products development, p.41–57. Kerala: Transworld Research, 2008.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R.A. Caracterização de Subprodutos da Industrialização do Maracujá - Aproveitamento das Sementes. Revista Brasileira de Fruticultura, v.26, n.1, p. 101-102, 2004.

FERREIRA, L.F.D. Obtenção e caracterização de farinha de bagaço de uva e sua utilização em cereais matinais expandidos. 2010. 157f. Tese. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

FERNANDEZ, J.; REYES, R.; PONCE, H.; OROPEZA, M.; VAN CALSTEREN, M-R;JANKOWSKI, C.; CAMPOS, M.G. Isoquercitrin from Argemone platyceras inhibitscarbachol and leukotriene D4-induced contraction in guinea-pig airways. **European Journal of Pharmacology**, v.522, p. 108-115, 2005.

FERNANDEZ-PANCHON, M.S.; VILLANO, D.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARRILA. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo

- evidence. Critical reviews in food science and Nutrition. Boca Raton, v. 48, p. 649-671, aug., 2008.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature, v.408, p.239–247, 2000.
- FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, p.181-207, 1982.
- FRANCIS, F. J. Food colorants anthocyanins. CRC Critical Review in Food Science and Nutrition, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.
- FREI, B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. The **American Journal of Medicine**, v. 97, suplemento 3, p. 5S – 13S, 1994.
- GALOTTA, A.L.Q.A.; BOAVENTURA, M.A.D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açaí (Euterpe precatória Mart., Arecaceae). Quimica Nova, v.28, n.4, p.610-613, 2005.
- GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids of phenolic to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry, v. 68, p. 471-474, 2000.
- GASQUES, J. G.; BASTOS, E. T. Crescimento da Agricultura. Boletim de Conjuntura, nº 60. março/2003.
- GIÃO, M. S.; GOMES, S.; MADUREIRA, A. R.; FARIA, A.; PESTANA, D.; CALHAU, C.; PINTADO, M. E.; AZEVEDO, I.; MALCATA, F. X. Effect of in vitro digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of Agrimonia eupatoria, Rubus idaeus, Salvia sp. and Satureja montana. Food Chemistry, v.131, p.761-767, 2012.
- GILBERT-LÓPEZ, B.; GARCIA-REYES, J. F.; MOLINA-DIAZ, A. Determination of fungicide residues in baby food by liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 135, p. 780-786, 2012.
- GILLHAM, B.; PAPACHRISTODOULOU, D. K.; THOMAS, J. H. Wills: Biochemical basis of medicine. 3^a Ed.Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, p.196-202, 1997.
- GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; KOWALSKI, C. Pharmacokinetic evaluation of tramadol and its major metabolites after single oral sustained tablet administration in the dog: a pilot study. The Veterinary Journal, London, v. 180, p. 253-255, 2009.
- GOBBO-NETO, L. LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores que influenciam no conteúdo de metabolitos secundários. Quimica Nova, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

- GOMES, S.M. da C. Determinação de antioxidantes por cromatografia liquida de alta pressão com detecção eletroquímica. 2010. 105f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Quimica. Universidade de Coimbra, 2010.
- GÓMEZ-RUIZ, J.A.; LEAKE, D.S.; AMES, J.M. In vitro antioxidante activity of coffee compounds and their metabolites. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.55, n.17, p. 6962–6969, 2007.
- GONCALVES, A.E.S.S. Compostos bioativos do camu-camu (Myrciaria dúbia Mc Vaugh): Caracterização e atividade biológica. 2012. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2012.
- GONÇALVES, A.E.S.S. Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e Vitamina C. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2008.
- GONZÁLEZ, G.L.L.Development of new electroanalytical methods for the determination of hydrogen peroxide and oxygen radicals. 2008. Tese – Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Greifswald, Alemanha, 2008.
- GRANDIS, A.; CONDIEV, S.; NEPOMUCENO, M. F. D.; ALEIXO, A. M.; RUGGIERO, A. C. Estudo da capacidade antioxidante do extrato hidroalcoólico de oliva contra a peroxidação lipídica. In: 6° SLACA - SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2005, Campinas. Anais... Campinas, 2005. CD-ROM.
- GRANATO, D. Associação entre atividade antioxidante in vitro e características químicas, sensoriais, cromáticas e comerciais de vinhos tintos Sul-Americanos. 2011. 140 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2011.
- GRIS, E.F. Perfil fenólico e atividade antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades Vitis vinifera cultivadas em São Joaquim - SC- Brasil. 2010. 179f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.
- GUERRA, C.C.; MANDELLI, F.; TONIETTO, J.; ZANUS, M.C.; CAMARGO, U.A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. Bento Gonçalves : RS, Embrapa Uva e Vinho, 2009. 69 p.
- HADORN, H.; ZURCHER, K. Zur bestimmung der oxydationsstabilitat von olen und fetten. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, v.70, n.2, p.57-65, 1974.
- HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v.35, p. 1147–1150, 2007.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3 ed. Claredon Press, Oxford, New York, 2000. 968p.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Claredon Press, 1990.543p.

HASSIMOTTO, N.M.A. Atividade antioxidante de alimentos vegetais. Estrutura e estudo de biodisponibilidade de antocianinas de amora silvestre (Morus sp). 2005, 159f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005.

HEINONEN, I. M.; LEHTONEN, P. J.; Hopia, A. I. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.46, p. 25–31, 1998.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B.; KOMHOUT, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. **Nutrition and Cancer**, v.20, p. 21-29, 1993.

HILGEMANN, M. Avaliação da capacidade antioxidante in vitro e in vivo contra radicais peroxila e hidroxila em amostras de plantas medicinais. 2010. 144f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2010.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org.). Biodisponibiidade de **Nutrientes**. 2 ed. São Paulo: Manole, v.1, p.697-731, 2007.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IBGE, 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, v.26 n.2 p.1-84 fev.2013.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010: Características da população e dos domicílios – Resultados do universo. Disponível http://www.ibge.gov.br/censo-demografico-2010-caracteristicas-da-populacao-e- em: dos-domicilios-resultados-do-universo.pdf>. Acesso em 15 jan 2012.

IBGE, 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agropecuário 2006. Diponível http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agrope cuario.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2013.

IBRAF. 2007. Instituto Brasileiro de Frutas. Missão brasileira ao Norte da África. derivados. 6.ed. Junho 2007. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/x_files/revista06.pdf. Acesso em: 25 nov. 2012.

IBRAVIN. INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO. Principais regiões produtoras.

- Rio Grande do Sul: Bento Gonçalves, 2010. Disponível em: http://www.ibravin.org.br. Acesso em: 04 de jan. 2013.
- IHME, N.; KIESEWETTER, H.; HOFFMAN, K. H.; BIRK, A.; MULLER, A.; GRUTZNER, K.I. Leg edema protection from a buckwheat herb tea in patients with chronic venous insufficiency: a single-center, randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. European Journal of Clinical Pharmacology, v.50, p. 443–447, 1996.
- ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. Free Radical Biology & Medicine, v.30, p.433-446, 2001.
- ISHIMOTO, Emilia Yasuko. Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters. 2008. 195f. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública). Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2008.
- IPEA, 2009. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Desperdício Custo para todos - alimentos apodrecem enquanto milhões de pessoas passam fome. Disponível em: http://www.desafios.ipea.gov.br>. Acesso em 15 jan. 2012.
- IZZO, A. A.; DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; CAPASSO, F.; AUTORE, G. Antiulcer effects of flavonoids: role of endogenous PAF. Phytotherapy Research, v.8, p. 179-181, 1994.
- JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, J.D. (Eds.) Natural Food Colorants. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, 1996, p. 245-309
- JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A., et al. Anthocyanins as food colorants. A Review. Journal Food Biochemistry. v.11, p.201-247, 1987.
- JARDINI, F.A. Atividade dos compostos fenólicos antioxidantes da romã (Punica granatum, L.) avaliação in vivo e em culturas de células. 2010. 115f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2010.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. Food Chemistry, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.
- JELLUM, E. Chromatography for diagnosis of metabolic diseases. Journal of **Chromatography**, Amsterdan, v. 452, p. 435-441,1988.
- JEONG, J. S.; SIM, H. J.; LEE, Y. M.; YOON, H. R.; LEE, D. H.; HONG, S. P. Determination of phenylalanine in blood by high-performance anion-exchange chromatography-pulsed amperometric detection to diagnose phenylketonuria. Journal of **Chromatography A,** Amsterdan, v. 1216, p. 5709-5714, 2009.

- JIMÉNEZ, C.D.C; FLORES, C.S.; HE, J.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S.J.; GIUSTI, M.M. Characterization and preliminary bioactivity determination of Berberis boliviana Lechler fruit anthocyanins. Food Chemistry, v.128, n.3, p.717-724, 2011.
- JO, S-H; KA, E-H; LEE, H-S, APOSTOLIDIS, E.; JANG, H-D; KWON, Y-I. Comparison of antioxidant potential and rat intestinal α-glucosidases inhibitory activities of quercetin, rutin and isoquercetin. International Journal of Applied Research in **Natural Products**, v. 2, n.4, p. 52-60, 2010.
- JUNQUEIRA, V.B.C.; RAMOS, L.R. Estresse oxidative. In: RAMOS, L.R.; NETO, J.T. Geriatria e Gerontologia. Barueri: Manole Ltda., cap. 24, p.315-324, 2005.
- KAISER, A. M.; McFARLAND, W.; SIEMION, R. S.; RAISBECK, M. F. Secondary pentobarbital poisoning in two dogs: a cautionary tale. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Columbia, v. 22, p. 632-634, 2010.
- KALT, W.; RYAN, D. A. J.; DUY, J. C.; PRIOR, R. L.; EHLENFELDT, M. K.; KLOET, S. P. V. Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (Vaccinium section cyanococcus spp.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, p.4761–4767, 2001.
- KAMMERER, D., CLAUS, A., CARLE, R. SCHIEBER, A. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (Vitis vinifera L.) by HPLC-DAD-MS/MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.52, p.4360–4367, 2004.
- KARTHIKEYAN, K.; SARALA BAI, B.R.; DEVARAJ, S.N. Cardioprotective effect of grape seed procyanidins on isoproernol-induced myocardial injury in rats. Journal of Cardiovascular pharmacology, v.53, p.109–115, 2009.
- KATALINIC', V.; MOZ'INA, S.S.; SKROZA, D.; GENERALIC', I.; ABRAMOVIC', H.; MILOŠ, M.; LJUBENKOV, I.; PISKERNIK, S.; PEZO, I.; TERPINC, P.; BOBAN, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia). Food Chemistry, v. 119, p.715–723, 2010.
- KATO, C.G.; TONHI, C.D.; CLEMENTE, E. Antocianinas de uvas (Vitis vinífera L.) produzidas em sistema convencional. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v.06, n.02, p.809-821, 2012.
- KATSUBE, N.; KEIKO, I.; TSUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (Vaccinium mirtillus) and the anthocyanins. Journal of Agricultural Food Chemistry, v.51, p.68-75, 2003.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. International Journal of Food Science and Technology, v. 36, p. 703-725, 2001.

- KELLER, M. Managing grapevines to optimize fruit development in a challenging environment: A climate change primer for viticulturists. Australian Journal of Grape and Wine Research, v.16, p.56-69, 2010.
- KEMPERMAN, R.A.; BOLCA, S.; ROGER, L.C.; VAUGHAN, E.E. Novel approaches for analysing microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities. Microbiology, v.156, p.3224-3231, 2010.
- KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.O.; DOMMES, J.; PINCEMAIL, J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. Journal of Agricultural Food Chemistry, v.55, p.8596-8603, 2007.
- KIM, K.W.; THOMAS, R.L. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weight. Food Chemistry. 2006.
- KIRK, R. E.; OTHMER, D. F. Othmer encyclopedia of chemical technology. 3rd ed. New York, NY: Wiley- Interscience, 1978-1984. 24v
- KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. Ciência Agrotécnica, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.
- S.; KARA, M.; ULUSOY, E.; TEZCAN, F.; ERIM, ALIYAZICIOGLU, R. Comparative Study of Chemical and Biochemical Properties of Different Melon Cultivars: Standard, Hybrid, and Grafted Melons. Journal of **Agricultural Food Chemistry**, v. 58, p.9764–9769, 2010.
- KUNZ, V.T. Glechon Spathulata Benth: estudo fitoquímico e biológico. 2007, 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.
- KUNTZ, S.; WENZEL, U.; DANIEL, H. Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. European Journal of Nutrition, v.38, p. 133-142, 1999.
- LACHMAN, J.; HEJTMÁNKO'VA, A.; HEJTMÁNKO'VA, K.; HORNICKO'VA, S.; PIVEC, V.; SKALA, O.; DEDINA, M.; PRIBYL, J. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essential elements content as a by-product of winemaking. Industrial Crops and **Products**, v. 49, p.445–453, 2013.
- LACHUMY, S.J.T.; SASIDHARAN, S.; SUMATHYA, V.; ZURAINIA, Z. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of Etlingera elatior (torch ginger) flowers. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v.3, n.10, p.769-774, 2010.
- LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review Progress in Lipid Research, v. 46, p. 244-282, 2007.

- LAHUE, J. H.; JOHNSON, R. S. Peaches, plums and nectarines: growing and handling for fresh market. California: Division of Agriculture and Natural Resources, 1989.
- LAKENBRINK, C.; LAPCZYNSKI, S.; MAIWALD, B.; Engelhardt, U. H. Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.48, p.2848–2852, 2000.
- LAJOLO, F.M. Alimentos funcionais: uma visão geral. In: DE ANGELIS, R.C. A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativas. São Paulo: Atheneu, p.175-181, 2005.
- LAJOLO, F. M. Alimentos funcionais: uma visão geral. In: DE ANGELIS, R.C. Importância de alimentos vegetais na produção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas. São Paulo: Atheneu, 2001.
- LANDRAULT, N.; POUCHERET, P.; RAVEL, P.; GASC, F.; CROS, G.; Teissedre, P.-L. Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.3341–3348, 2001.
- LANGCAKE, P.; PRYCE, R. J. The production of resveratrol by ~tis vinifera and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. Physiological and Molecular Plant Pathology, v.9, p.77-78, 1976.
- LAUSCHNER, R. Agribusiness, cooperativa e produtor rural. São Leopoldo: UNISINOS. 2^a Ed, 1995, 296p.
- LAU, D.W.; KING, A.J. Pre- and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.51, p.1602–1607, 2003.
- LEE, S. T.; COOK, D.; RIET-CORREA, F.; PFISTER, J. A.; ANDERSON, W. R.; LIMA, F. G.; GARDNER, D. R. Detection of monofluoroacetate in Palicourea and Amorimia species. **Toxicon**, Oxford, v. 60, p. 791-796, 2012.
- A.; WYZGOLIK, G.; LEJA, M.; MARECZEK, KLEPACZ-BANIAK, CZEKONSKA, K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. Food **Chemistry**, v.100, p. 237-240, 2007.
- LHULLIER, C.; HORTA, P.A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para Artemia Salina. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, n.2, p.158-163, 2006.
- LI, Y.; MA, R.; XU, Z.; WANG, J.; CHEN, T.; CHENA, F.; WANGA, Z. Identification and quantification of anthocyanins in Kyoho grape juice-making pomace, Cabernet Sauvignon grape winemaking pomace and their fresh skin. Journal of Science of Food and Agriculture, v.93, p. 1404–1411, 2013.
- LIMA, M. A. C. de (Org.). *Uva de mesa*: pós-colheita. 2. ed. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, Embrapa Semi-Árido, 2007. 77 p.

- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; SILVA, G. S. B.; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (Vigna radiata L.). Revista de Nutrição, Campinas, v. 17, n. 1, p. 53-57, 2004.
- LINDAHL, M.; TAGESSON, C. Flavonoids as phospholipase A2 inhibitors: importance of their structure for selective inhibition of group II phospholipase A2. Inflammation, **v.**21, p. 347–356, 1997.
- LLOBERA, A.; CANNELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera), pomace and stem. Food Chemistry, v.101, p.659–666, 2007
- LOBO, V.; PHATAK, A.; CHANDRA, N.Free radicals and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v.4, p.118–126, 2010.
- LÓPEZ O.P.; JIMÉNEZ A.R.; VARGAS F.D. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.40, n.3, p.173-289, 2000
- LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A.; ZBARSKY, V.; DATLA, K. P.; DEXTER, D. T. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. Food Research International, v.38, p.357– 367, 2005.
- LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; Crozier, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.83, p.496–502, 2003.
- MACHADO, M.M. Desenvolvimento de uma bebida nutracêutica a partir de resíduos da produção do suco de uva: avaliação de propriedades antioxidantes e fisio-bioquímicas. 2010. 149f. Tese. (Doutorado em Ciências Biológicas. Área de Concentração: Bioquímica Toxicológica)- Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2010.
- MACHADO, A.F.F. Identificação e determinação da atividade antioxidante de carotenoides e antocianinas de frutas. 2009. 224f. Tese. (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2009.
- MAIA, J.D.G.; PEREIRA, G.E.; MONTEIRO, F.P.; SOUZA, R.T.; LAZZAROTTO, J.J.de.; OLIVEIRA, J.B.de.; RITSCHEL, P.Novas Cultivares Brasileiras de Uvas para Elaboração de Suco no Semiárido Brasileiro: Desempenho Agronômico e Qualidade do Suco. Comunicado Técnico. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva Disponível e Vinho: Bento Gonçalves, RS, 2013. em: http://www.cnpuv.embrapa.br>. Acesso em: 18 jan. 2014.
- MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 125-132, 2007.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.25, n.4, p.659-664, out-dez. 2005.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F.; O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. Química Nova, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 214-222, 2009.

MAPSTORE, 2014. Localização geográfica do município de São João do Piauí, Piauí em relação ao Brasil. Disponível em: http://www.mapstore.eco.br. Acesso em 25 fev.2014.

MARCO. G.J. A rapid method or evaluation of antioxidants. Journal of the American oil chemists society. Champaign, v.45, p.594-598, 1968.

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quimica Nova**, v.31, n.5, p.1218-1223, 2008.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, 1982, p. 163-180.

MARKUS, M.A.; MORRIS, B.J. Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging. Clinical Interventions in Aging, v.3, p. 331–339, 2008.

MARRIOTT, P. J.; HAGLUND, P.; ONG, R. C. Y. A review of environmental toxicant analysis by using multidimensional gas chromatography and comprehensive GC. Clinica **Chimica Acta**, v. 328, p. 1-19, 2003.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1520–1526, 2012.

MARTÍNEZ-CERVERA, S.; SALVADOR, A.; MUGUERZA, B.; MOULAY, L.; FISZMAN, S. M. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **LWT – Food Science and Technology**, v.44, n.3, 729–736, 2011.

MARTÍNEZ-FLORES, S., GONZÁLEZ-GALLEGO, J., CULEBRAS, J. M., TUÑÓN, M. J. Los flavonoides:propriedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria, v..17, n.6, p.271-278, 2002.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos Nutrición, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MARTINS, C.A. Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo do guaraná (Paullinia cupana) em pó. 2010. 130f. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública). Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública)- Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2010.

- MATOS, A.T. Tratamento de residuos agroindustriais: curso sobre tratamento de residuos agroindustriais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2005.
- McLEAN, J. A.; KARADAS, F.; SURAI, P.; McDEVITTI, R.; SPEAKE, B. Lipid soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. Comparative Biochemistry and Physiology, v. 141, n. B, p. 366-372, 2005.
- MELLO, L.M.R.de. Atuação do Brasil no mercado vitivinícola mundial: Panorama 2012. Comunicado Técnico. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, RS, 2013a. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br>. Acesso em: 18 jan. 2014.
- MELLO, L.M.R.de. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2012. Comunicado Técnico. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, RS, 2013b. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br. Acesso em: 18 jan. 2014.
- MELLO, L.M.R. Atuação do Brasil no mercado vitivinícola mundial 2011-Panorama Vitivinícola mundial 2011. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Vinho: Gonçalves, e Bento RS, 2012. Disponível http://www.cnpuv.embrapa.br>. Acesso em: 04 de jan. 2013
- MELLO, L.M.R. Vitivinicultura mundial: principais países e posição do Brasil. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, RS, 2011. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br. Acesso em: 04 jan. 2013.
- MELO, P.S. Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2010.
- MELO, E. A.; MACIEL, M.I.A.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 44, n. 2, abr./jun., 2008.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.
- MERCADANTE, A. Z; BOBBIO, F. O. Anthocyanins in foods: Occurrence and physicochemical properties. In BOBBIO, F. O.; MERCADANTE; A. Z. Food colorants: Chemical and functional properties, Boca Raton: CRC Press, v.1, p.241–276, 2008.
- METODIEWA, D.; KOCHMAN, A.; KAROLCZAK, S. Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N,N-diethylaminoethyl ethers of flavanone oximes: a comparison with natural polyphenolic flavonoid (rutin) action. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v.41, p. 1067–1075, 1997.

- MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; KUBOTA, E. H. Efeito de extratos de caqui (Diospyros kaki L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (Rosmarinus officinalis L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado. Semina: Ciência Agrária., v. 33, n. 3, p. 1085-94, 2012.
- MILDNER-SZKUDLARZ, S.; BAJERSKA, J.; ZAWIRSKA-WOJTASIAKA, R.; G' ORECKAC, D. White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.; 93, p.389–395, 2013.
- MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the** American Oil Chemist's Society, v. 48, p. 91, 1971.
- MIELNIK, M.B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELINE, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. LWT - Food Science and **Technology**, v.39, p.191–198, 2006.
- MIKAMI, I.; YAMAGUCHI, M.; SHINMOTO, H.; TSUSHIDA, T. Development and Validation of a Microplate-based β-carotene Bleaching Assay and Comparison of Antioxidant Activity (AOA) in Several Crops Measured by β-carotene Bleaching, DPPH and ORAC Assays. Food Science and Technology Research., v.15, n.2, p. 171 – 178, 2009.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; A; DAVIES, M. J; GOPINATHANN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, v.84, p.407-412, 1993.
- MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORE, G. M. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. Food **Chemistry**, v.82, p.409–416, 2003.
- MONTEIRO, Marcela Piedade. Bebida à base de subprodutos de uva: efeitos sobre o estresse oxidativo e marcadores de risco de doencas cardiovasculares em mulheres saudáveis. 2011. 101f. Tese. (Doutorado em Saúde Pública). Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública. Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública)- Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2011.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.
- MOREIRA, G.E.G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. 2007. 86f. Dissertação (Mestrado em Química) -Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, 2007.
- MORIN, O. Corn and grapeseed oil. In A. Karleskind (Ed.), Oil and fats manual (pp. 143–146). Hampshire: Andover, 1996.

- MOTOYAMA, K.; KOYAMA, H.; MORIWAKI, M.; EMURA, K.; OKUYAMA, S.; SATO, E.; INOUE, M.; SHIOI, A.; NISHIZAWA, Y. Atheroprotective and plaquestabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice. **Nutrition**, v.25, n.4, p. 421-427, 2009.
- MÜHLEN, C. V.; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B.; MARRIOTT, P. J. Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). Química Nova, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 765-775, 2006.
- MUSA, K.H.; ABDULLAH, A.; KUSWANDI, B.; HIDAYAT, M.A. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 141, p. 4102–4106, 2013.
- NAKASHIMA, K. High-performance liquid chromatographic analysis of drugs of abuse in biologic samples. **Journal of Health Science**, v. 51, n. 3, p. 272-277, 2005.
- NASCIMENTO J.E; MELO A.F.M; LIMA e SILVA T.C; VERAS FILHO J.; SANTOS E.M; ALBUQUERQUE U.P; AMORIM E..LC. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de Artemia salina Leach. de três espécies medicinais do gênero Phyllanthus (Phyllanthaceae). Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada, v.29, n.2, p. 145-150, 2008.
- NATIVIDADE, M.M.P. Desenvolvimento, caracterização e aplicação tecnológica de farinhas elaboradas com resíduos da produção de suco de uva. 2010. 202f. Dissertação (Mestradoem Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- NEGRÉ-SALVAYRE, A.; AFFANY, A.; HARITON, C. R. Additional antilipoperoxidantactivities of alpha-tocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin. **Pharmacology**, v.42, p. 262–272, 1991.
- NEPA Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos. 2. ed. Campinas, SP: NEPAUNICAMP, 2006, 113p.
- NIELSEN, I. L. F.; CHEE, W. S. S.; POULSEN, L.; OFFORD-CAVIN, E.; RASMUSSEN, S.E.; FREDERIKSEN, H.; ENSLEN, M.; BARRON, D.; HORCAJADA, M-N; WILLIAMSON,G. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial. Journal of Nutrition, v.136, p. 404-408, 2006.
- NOGUEIRA, J. M. F. Mikhail S. Tswett: Um legado para a cromatografia moderna. **Química**, Lisboa, v. 100, 2006.
- NORATA, G.D.; MARCHESI, P.; PASSAMONTI, S.; PIRILLO, A.; VIOLI, F.; CATAPAN, A.J. Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of cathechin, caffeic acidand trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. Atherosclerosis, v.191, p.265–271, 2007.
- OLDONI, T.L.C. Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos agroindustriais. 2010. 165f.Tese. Doutorado em Ciências. Área de Concentração:

- Química na agricultura e no meio ambiente. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2010.
- OLDONI, T.L.C. Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie Apis melífera. 2007. 105f. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2007.
- OLLAT, N.; DIAKOU-VERDIN, P.; CARDE, J. P.; BARRIEU, F.; GAUDILLÈRE, J. P.; MOING, A. Grape berry development: a review. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, v.36, p.109-131, 2002.
- OLIVEIRA, A.C. Capacidade antioxidante de farinhas de resíduos de frutas tropicais. 2008. 108 f. Dissertação. Mestrado em Ciências da Saúde. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.
- OLIVEIRA-FILHO, F.A. Produção, area colhida e efetivo de uva no nordeste. Informe rural do escritório técnico de estudos econômicos do nordeste, n.5, 2011.
- OLIVEIRA-FILHO, J. C.; CARMO, P. M. S.; PIEREZAN, F.; TOCHETTO, C.; LUCENA, R. B.; RISSI, D. R.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por organofosforados em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 30, n. 10, p. 803-806, 2010.
- ORDUÑA, R. M. de. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. Food Research International, v.43, p.1844-1845, 2010.
- OZCELIK, B.; LEE, J. H.; Min, D. B. Effects of Light, Oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Journal of Food Science, v.68, p.487–490, 2003.
- PAZOS, M., GALLARDO, J.M., TORRES, J.L.; MEDINA, I. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. Food **Chemistry**, v.92, p.547–557, 2005.
- PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I. de O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. Journal of Technology Management & Innovation, v. 2, n.1, p.118-127, 2007.
- PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; BIANCHI, M.; BRIGHENTI, F. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. Journal of **Nutrition**, v.133, p. 2812-2819, 2003.
- PELÚZIO, M. do C. G.; OLIVEIRA, V. P. Vitaminas antioxidantes. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. de O. B. Alimentos funcionais. Viçosa, 2006. 202p.

- PENG, X., MA, J., CHENG, K.W., JIANG, Y., CHEN, F.; WANG, M. The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. Food Chemistry, v.119, p.49–53, 2009.
- PEREIRA, A. C. da S. Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará. 2009. 119f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Alimentos)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2009.
- PERES, T. B. Nocões básicas de cromatografia. Biológico, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002
- PÉREZ-GUERRERO, C.; MARTÍN, M. J.; MARHUENDA, E. Prevention by rutin of gastric lesions induced by ethanol in rats: role of prostaglandins. General **Pharmacology**, v.25, p. 575–580, 1994.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. Food Research International, v.39, p.791-800, 2006.
- PIANO, F.; BERTOLONE, E.; PES, D.; ASPROUDI, A.; BORSA, D. Focusing on bioactive compounds in grapes: stilbenes in Uvalino cv. European Food Research **Technology**, v. 237, p.897–904, 2013.
- 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, p.579-590, 2006.
- PINHEIRO, E.S. Avaliação dos aspectos sensoriais, físico-químicos e minerais do suco de uva da variedade benitaka (Vitis vinifera L.). 2008. 106f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2008.
- PINHO, L. X. Aproveitamento do pendúculo do caju (Anacardium Occidentale L.) para alimentação humana. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Alimentos)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2009.
- PIOVACARI, S.M.F. Os fitoquimicos e seus beneficios na saude. Educ Cont Saude, v.7, p.106-109, 2009.
- PORFÍRIO, S.; FALÉ, P.; MADEIRA, P., FLORÊNCIO, M., ASCENSÃO, L., SERRALHEIRO, M. Antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of Plectranthus barbatus tea, after in vitro gastrointestinal metabolism. Food Chemistry, v.122, p.179-185, 2010.
- POTAPOVICH, A. I.; KOSTYUK, V. A. Comparative Study of Antioxidant Properties and Cytoprotective Activity of Flavonoids. **Biochemistry**, v.68, n.5, p. 514-519, 2003.
- POZUELO, M.J.; AGIS-TORRES, A.; HERVERT-HERN'ANDEZ, D.; L'OPEZ-OLIVA, M.E.; MUNOZ-MARTINEZ, E.; ROTGER, R.; GONI, I. Grape Antioxidant Dietary Fiber Stimulates Lactobacillus Growth in Rat Cecum. Journal of Food Science. v. 77, n.2, 2012.

- PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Ciência e 2009.107f. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2009.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.53, p. 4290-4302, 2005.
- PROSKY, L., ASP, N.G., FURDA, I., DEVRIES, J.W., SCHWEIZER, T.F., HARLAND, B.F. Determination of total dietary fiber in foods, food products and total diets: Interlaboratory Study. Journal of the Association Official Analytical Chemists, Arlingtton, v.67. n.6. p. 1044-1052. 1984.
- RAHMAN, K.. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. Journal of Clinical **Inverventions in Aging**, v.2, p.219–236, 2007.
- RAJARATNAM, J. A.; HOOK, L. I. Experimental Agriculture, v.11, n.59, 1975.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Quimica Nova, v. 29, n. 4, 755-760, 2006.
- RAPISARDA, P.; TOMAINO, A.; LO CASCIO, R.; BONINA, F.; DE PASQUALE, A.; SAIJA, A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.47, p.4718–4723, 1999.
- RAVELLI, D. Estabilidade oxidativa de óleo de soja adicionado de extratos de especiarias: correlação entre parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. 2011. 114f. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2011.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- REDA, S. Y.; LEAL, E. S.; BATISTA, E. A. C.; BARANA, A. C.; SCHNITZEL, E.; CARNEIRO, P. I. B., 2005. Caracterização dos Óleos das Sementes de Limão Rosa (Citrus Limonia Osbeck) e Limão Siciliano (Citrus limon), um Resíduo Agroindustrial. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.25, n.4, p.672-676.
- ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruits and vegetables. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.1000, p.657-691, 2003.
- ROCKENBACH, I.I., GONZAGA, L.V., RIZELIO, V.M., GONÇALVES, A.E.S.S., GENOVESE, M.I., FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitis vinifera and Vitis labrusca) pomace from Brazilian winemaking. Food Research International, v.44, p. 897–901, 2011.

- ROCKENBACH, I. I. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (Vitis vinifera L. e Vitis labrusca L.). 2008. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- ROCKENBACH,I.I.;SILVA,G.L.;RODRIGUES, E.;KUSKOSKI, E.M.; R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (Vitis vinifera) variedades Tannat e Ancelota. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.28, p.238-244, 2008.
- ROCKENBACH,I.I.; SILVA,G.L.; RODRIGUES,E.; GONZAGA,L.V.; FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaco de uva das variedades Regente e Pinot Noir (Vitis vinifera). Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 66, n. 2, p. 158-163, 2007.
- RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S. A. FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A. FERNANDES, A. A.H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. Revista de Nutrição, Campinas, v. 16, n. 3, p. 315-320, 2003.
- RODRIGUES, Bruno Sanches. Resíduos da agroindústria como fonte de fibras para elaboração de pães integrais. 2010. 96f. Dissertação de Mestrado. USP: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Oueiroz". Piracicaba, SP, 2010.
- ROGINSKY, V., LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235-234, 2005.
- ROSA, M. F; SOUZA FILHO, M. S. M; FIGUEIREDO, M. C. B; MORAIS, J. P. S; SANTAELLA, S. T; LEITÃO, R. C. Valorização de resíduos da agroindústria. II Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e agroindustriais - II SIGERA. Foz do Iguaçu, PR. 15 a 17 de março de 2011.
- ROTAVA, R.; ZANELLA, I.; SILVA, L.P.da; MANFRON, M.P.; CERON, C.S.; ALVES, S.H.; KARKOW, A.K.; SANTOS, J.P.A. Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.3, p.941-944, maijun, 2009.
- RUBIO, M.; ALVAREZ-ORTÍ, M., FERNÁNDEZ, E.; PARDO, J.E. Characterization of oil obtained from grape seeds collected during berry development. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 2812–2815, 2009.
- RUFINO, M. S. M.; PEREZ-JIMENEZ, J.; ARRANZ, S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; OLIVEIRA, M. S. P. Acai (Euterpe oleraceae) 'BRS Para': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. Food Research **International**, v.44, p.2100–2106, 2011.
- RUIZ, V.S. Avances em viticultura em el mundo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, SP, volume especial, E.131-143, out. 2011.
- SALEM, J.H.; HUMEAU, C.; CHEVALOT, I.; HARSCOAT-SCHIAVO, C. Effect of donor chain length on isoquercitrin acylation and biological activities of corresponding esters. **Process Biochemistry**, v.45, p. 382-389, 2010.

- SAMMAN, S.; SANDSTRO'M, B.; TOFT, M. B.; BUKHAVE, K.; JENSEN, M.; SORENSEN, S. S. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. American **Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.607–612, 2001.
- SA'NCHEZ-MORENO, C.; CAO, G.; OU, B.; PRIOR, R. L. Anthocyanin and proanthocyanidins content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4889–4896, 2003.
- SA'NCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic compounds. Food Research International, v.32, p.407–412, 1999.
- SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; MUÑOZ, C. M.; FUENTES, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SENDRA, E.; SAYAS, E. Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. Meat Science, v.85, n.1, p. 70–76, 2010.
- SANCHO, S.de O. Estudo potencial de resíduos de frutas tropicais para elaboração de suplemento alimentar probiotico. 2011. 203f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2011.
- SANDOVAL, M.; LAZARTE, K.; ARNAO, I. Hepatoproteción antioxidante de la cáscara y semilla de Vitis vinífera L. (uva). Anales de la Facultad de Medicina, v.69, n.4, p.250-259, 2008.
- SALVADOR, M.M. Efeito do polifenol resveratrol na síntese de fatores vasoativos do endotélio em células endoteliais humanas da linhagem ECV304. 2009. 96f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, 2009.
- SANO, T., ODA, E., YAMASHITA, T.. Anti-thrombotic effect of proanthocyanidin, a purified ingredient of grape seed. **Thrombosis Research**, v.115, p.115–121, 2005.
- SANTILLO, A.G. Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutricionais das uvas de mesa benitaka e uvas passas escuras. 2011. 96f. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de concentração: Tecnologia nuclear. Instituto de Pesquisas energéticas e nucleares. São Paulo, SP, 2011.
- SANTOS, M.F.G. Qualidade e potencial funcional da porção comestível e do óleo de frutos de palmeiras nativas oriundas do Amapá. 2012. 170f. Tese. Doutorado em Agronomia. Área de concentração: Agricultura Tropical. Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB, 2012.
- SANTOS, B. L.; SILVA, A. R.; PITANGA, B. P. S.; SOUSA, C. S.; GRANGEIRO, M. S.;FRAGOMENI, B. O.; COELHO, P. L. C.; OLIVEIRA, M. N.; MENEZES-FILHO, N. J.;COSTA, M. F. D.; EL-BACHÁ, R. S.; VELOZO, E. S.; SAMPAIO, G. P.; FREIRE, S. M.; TARDY, M.; COSTA, S. L. Antiproliferative, proapoptotic and morphogenic effects

- of the flavonoid rutin on human glioblastoma cells. **Food Chemistry**, v.127, p. 404-411, 2011.
- SANTOS, L.P. Caracterização química e avaliação da propriedade antioxidante de diferentes variedades de uva. 2009. 65f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR, 2009.
- SANTOS, A.F.; CAVADA, B.S.; ROCHA, B.A.M.; NASCIMENTO, K.S.; SANT'ANA, A.E.G. Toxicity of some glucose/mannose-binding lectins to Biomphalaria glabrata and Artemia salina. **Bioresource Technology**, v.101, n.2, p.794-798, 2010.
- SANTOS, L.P.; MORAIS, D.M.; SOUZA, N.E.; COTTICA, S.M.; BOROSKI, M.; VISENTAINER, J.V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of Vitis labrusca and V. vinifera grapes. **Food Research International**, v.44, p.1414–1418, 2011.
- SAUTTER, C.K.; DENARDIN, S.; ALVES, A.O.; MALLMANN, C.A.; PENNA, N.G.; HECKTHEUER, L.H. Avaliação da presence de resveratrol em sucos de uva. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, v.25, n.3, p.437-442, jul-set, 2005.
- SA'YAGO-AYERDI, S.G., BRENES, A., VIVEROS, A.; GON'A, I. Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. **Meat Science**, v.83, p.528–533, 2009.
- SCHRAMM, D.D.; GERMAN, J.B. Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease - molecular evidence for the role of mumps virus as an etiologic agent. Journal of Nutritional Biochemistry, v.9, p.560-566, 1998.
- SCHULZ, H.; ENGELHARDT, U. H.; WEGENT, A.; DREWS, H.-H.; Lapczynski, S. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to the simultaneous prediction of alkaloids and phenolic substances in green tea leaves. Journal of Agricultural and **Food Chemistry**, v.47, p.5064–5067, 1999.
- SCOLA, G.; KAPPEL, V.D.; MOREIRA, J.C.F.; DAL-PIZZOL, F.; SALVADOR, M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of winery wastes seeds of Vitis labrusca. **Ciência Rural**, v.41, n.7, jul, 2011.
- SELANI, Miriam Mabel. Extratos de bagaco de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento. 2010. 101f. Dissertação. Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2010.
- SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C. Flavonoids and antioxidant capacity of Georgiagrown Vidalia onions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.5338–5342, 2002.
- SENDRA, E.; FAYOS, P.; LARIO, Y.; FERNA'NDEZ-LO' PEZ, J.; SAYAS-BARBERA', E.,; PE'REZ-ALVAREZ, J. A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, v.25, n.1, p. 13–21, 2008.

- SIES, H.Oxidative stress: oxidants and antioxidantes. Experimental Physiology, v.82, p.291-295, 1997.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. European Journal of **Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.
- SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β-carotene, and other carotenoids as antioxidants. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.
- SHEU, J. R.; HSIAO, G.; CHOU, P. H.; SHEN, M. Y.; CHOU, D. S. Mechanisms involved in the antiplatelet activity of rutin, a glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.14, p. 4414-4418, 2004.
- SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J.E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in grape seedsbiochemistry and functionality. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, p.291–299, 2003.
- SILVA, L.M.R. da.; FIGUEIREDO, E.A.T.de.; RICARDO, N.M.P.S.; VIEIRA, I.G.P.; FIGUEIREDO, R.W.de.; BRASIL, I.M.; GOMES, C.L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. Food Chemistry, v. 143, p.398–404, 2014.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- SILVA, B. S.; FERRERES, F.; MALVA, J. O.; DIAS, A. C. P. Phytochemical and antioxidant characterization of Hypericum perforatum alcoholic extracts. Food Chemistry, v.90, p.157-167, 2005.
- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. Química Nova, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folinciocalteu. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1998
- SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.28, n.3, p. 727-732, jul.-set. 2008.
- SOUNDARARAJAN. R.; WISHART. A. D.: RUPASINGHE. H. P.V.: ARCELLANAPANLILIO, M.; NELSON, C. M.; MAYNE, M.; ROBERTSON, G. S. Quercetin 3-glucoside protects neuroblastoma (SH-SY5Y) cells in vitro against oxidative damage by inducing sterol regulatory element-binding protein-2-mediated cholesterol biosynthesis. The Journal of Biological Chemistry, v.283, n.4, p. 2231-2245, 2008.

- SOUSA, M.S.B.; VIEIRA, L.M.; LIMA, A.de. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. Brazilian Journal of Food **Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, jul./set. 2011
- SOUSA, C. M. DE M.; SILVA, H. R. E; LA VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. DA; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. ARAÚJO, S. P. B. DE M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quimica Nova**, v.30, p.351-355, 2007.
- SOUZA, A.V., GOMES, G.P., VIEIRA, M.R.S., VIEITES, R.L., LIMA, G.P.P. Avaliação de antioxidantes em casca de vitis sp. **Revista Alimentus**, n.2, p.1-10, 2012a.
- SOUZA, V.R.de.; PEREIRA, P.A.P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S.V.; CARNEIRO, J. de,D.S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p.381–386, 2012b.
- SOZIM, M. Efeito da aplicação de um analogo de brassinoesteroide sobre a maturação da uva 'Niagara Rosada'. 2011. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR, 2011.
- SUN, J.; CHU, Y.-F.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.7449-7454, 2002.
- TANG, D-Q.; WEI, Y-Q.; GAO, Y-Y.; YIN, X-X.; YANG, D-Z.; MOU, J.; JIANG, X-I.Protective effects of rutin on rat glomerular mesangial cells cultured in high glucoseconditions. **Phytotherapy Research**, v.25, p. 1640–1647, 2011.
- TARARA, J. M.; LEE, J.; SPAYD, S. E.; SCAJEL, C. F. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in merlot grapes. American Journal of Enology and Viticulture, v.59, p.235-247, 2008.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009
- TEIXEIRA, A. H. de C.; TONIETTO, J.; PEREIRA, G.E.; ANGELOTTI, F. Delimitação da aptidão agroclimática para videira sob irrigação no Nordeste Brasileiro. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental, v.16, n.4, p.399-407, 2012.
- TEIXEIRA, A. H. de C. Water productivity assessments from field to large scale: a case study in the Brazilian semi-arid region. Saarbrücken, Germany: LAP Lambert Academic Publishing, 226p. 2009.
- TEIXEIRA, A. H. de C.; BASTIAANSSEN, W. G. M.; BASSOI, L. H. Crop water parameters of irrigated wine and table grapes to support water productivity analysis in Sao Francisco River basin, Brazil. Agricultural Water Management, v.94, p.31-42, 2007.
- TEIXEIRA, A.H.de C; AZEVEDO, P.V. Zoneamento agroclimático para a videira européia no Estado de Pernambuco, Brasil. Revista Brasileira de Agrometeorologia, Santa Maria, v.4, n.1, p.137-141, 1996.

- TIVERON, A.P. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, 2010.
- TOGNON, A.L. Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de micro e macroelementos em frutas, hortaliças e cereais. 2012. 128f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2012.
- TONIETTO, J.; MANDELLI, F. Uvas viníferas para processamento em clima temperado. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.EMBRAPA, Disponível em:http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/.../Uva/.... Acesso em: 04 dejaneiro de 2013.
- TSENG, A.; ZHAO, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. Food **Chemistry**, v. 138, p.356–365, 2013.
- US NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (USA). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001). Washington DC: National Academy Press, 2001. (A report on the antioxidants and related compounds. Subcommittees on Upper Reference Intake Levels of Nutrients and Interpretation of Uses of Dietary Reference Intakes and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board).
- VAN GADOW, A., JOUBERT, E., HANSMANN, C. F. Journal of Agricultural and **Food Chemistry**, v. 45, p. 632, 1997.
- VEDANA, M. I.S. Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba, PR, 2008.
- VIEIRA, L.M.; SOUSA, M.S.B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 33, n. 3, Set. 2011
- VERDIER, M. C.; TRIBUT, O.; TATTEVIN, P.; TULZO, Y. L.; MICHELET, C.; FERRER, D. B. Simultaneous Determination of 12 β-Lactam Antibiotics in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with UV Detection: Application to Therapeutic Drug Monitoring. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, v. 55, n. 10, 2012.
- VILLANO, D.; FERNANDEZ-PACHON, M. S.; MOYA, M. L.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA, M. C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, v.71, p.230–235, 2007.
- VOGEL, H.; GONZALEZ, M.; FAINI, F.; RAZMILIC, I.; RODRIGUEZ, J.; SAN MARTIN, J.; URBINA, F. Antioxidant properties and TLC characterization of four

- Chilean haplopappus-species known as bailahue'n. Journal of Ethnopharmacology, v.22, p.101-115, 2004.
- WACH, A.; PYRZYNSKA, K.; BIESAGA, M. Quercetin content in some food and herbalsamples. **Food Chemistry**, v.100, n.2, p. 699-704, 2007.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.44, p.701-705, 1996.
- WANG, J.; ZHAO, L-L; SUN, G-X; LIANG, Y.; WU, F-A; CHEN, Z.; CUI, S. A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis of rutin. African Journal of **Biotechnology**, v. 10, n.8, p. 1460-1466, 2011.
- WARIS, G.; AHSAN, H. Reactive oxygen species: role in the development of câncer and various chronic conditions. **Journal of Carcinogenesis**, v. 5, p. 14-21, 2006.
- WATERMAN, P. G.; MOLE, S. Analysis of phenolic plant metabolites, 1st ed., Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1994, cap. 3.
- WILLS, R. B. H.; WIMALASIRI, P.; GREENFIELD, H. Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in relation to total vitamin C activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 320, n. 1904, p. 836-838, 1984.
- WILLIAMSON, G.; PLUMB, G. W.; UDA, Y.; PRICE, K. R.; RHODES, M. J. C. Dietary quercetin glycosides: antioxidant activity and induction of the anticarcinogenic phase II marker enzyme quinone reductase in Hepalclc7 cells. Carcinogenesis, v.17, n.11, p. 2385-2387, 1996.
- WOLBANG, C. A.; SINGH, D. P.; SYKES, S. R.; MCINERNEY, J. K., BIRD, A. R.; TREEBY, M. T. Influence of pre- and postharvest factors on β-carotene content, its in vitro bioaccessibility, and antioxidant capacity in melons. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.58, n.3, p.1732–1740, 2010.
- WOLFE, K. L.; KANG, X.; HE, X.; DONG, M.; ZHANG, Q.; LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of common fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.56, p.8418-8426, 2008.
- WROLSTAD, R.E. Colors and Pigment Analysis in Fruit Products. Corvallis: Oregon Agricultural Experimental Station, 1976, 17 p.
- WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E.; PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, p. 4026-4037, 2004.
- WU, X.; PRIOR, R. L. Identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: vegetables, nuts and grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.53, p.3101-3113, 2005.
- XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; FLÓRIO, J. C.; SPINOSA, H. S. Cromatografia em camada delgada para o diagnóstico da intoxicação por 'chumbinho' em cães e gatos.

- Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1231-1235, 2007.
- XIA, E.; DENG, G.; GUO, Y.; LI, H. Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Science**, 11, 622–646, 2010.
- XIAO, D.; ZHU, S.P.; GU, Z.L. Quercetin induced apoptosis in human leukemia HL-60 cell. Acta Pharmacologica Sinica, v.18, p. 280-283, 1998.
- XU, X. M.; YU, S.; LI, R.; FAN, J.; CHEN, S. H.; SHEN, H. T.; HAN, J. L.; HUANG, B. F.; REN, Y. P. Distribution and migration study of pesticides between peel and pulp in grape by online gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry. **Food Chemistry**, Barking, v. 135, p. 161-169, 2012
- XU, C.; ZHANG, Y.; CAO, L.; LU, J. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. Food Chemistry, v. 119, p.1557-1565, 2010.
- YANG, C. S.; LANDAU, J. M.; HUANG, M. T. NEWMARK, H. L. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. Annual Review of Nutrition, v.21, p. 381-406, 2001.
- YOSHIDA, M.; SAKAI, T.; HOSOKAWA, N.; MARUI, N.; MATSUMOTO, K.; FUJIOKA, A.; NISHINO, H.; AOIKE, A. The effect of quercetin of cell cycle progression and growth of human gastric cancer cells. FEBS Letters, v.260, p. 10-13, 1990.
- YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. International Journal of Food Science and Technology, v.48, p.221–237, 2013.
- ZIAEE, A.; ZAMANSOLTANI, F.; NASSIRI-ASL, M.; ABBASI, E. Effects of rutin on lipidprofile in hypercholesterolaemic rats. Basic & Clinical Pharmacology & **Toxicology**, v. 104, n. 3, p. 253-258, 2009.

CAPÍTULO 2

Incorporação e aceitabilidade do bagaço de uva em pó em produtos de panificação

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil ISSN: 1981-3686/ v. xx, n. xx: p. xx-xx, 20xx

Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial

INCORPORAÇÃO E ACEITABILIDADE DO BAGAÇO DE UVA EM PÓ EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

INCORPORATION AND ACCEPTABILITY OF GRAPE POMACE POWDER IN BAKERY PRODUCTS

Eldina Castro Sousa¹; Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz ²; José Osvaldo Beserra Carioca³; Alessandro de Lima⁴; Rosália Maria Torres Lima⁵; Pedro Ângelo Pinheiro de Freitas⁶; Marília Alves Marques de Souza⁷

^{1,2,4,5,6,7} Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI – Teresina – PI – Brasil eldinasousa@hotmail.com

³Universidade Federal do Ceará – UFC - Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC – Fortaleza – CE - Brasil

1,2,3 Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO – Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza – CE - Brasil

Resumo

A geração crescente de resíduos agroindustriais vem aumentando a demanda por estudos que sugiram o aproveitamento tecnológico destes resíduos, que na maioria das vezes, possuem um elevado valor nutritivo e garantem benefícios à saúde. Este trabalho objetivou a incorporação do bagaço de uva em pó em produtos de panificação (pão integral e pizza sabor banana com canela) e a avaliação de sua aceitação por testes sensoriais e intenção de compra. Foram utilizadas três formulações com diferentes percentuais de substituição da farinha de trigo por bagaço de uva em pó, com níveis de substituição de 5%, 10% e 0% (controle). Os resultados demonstraram que a preparação pizza teve uma maior aceitação do que o pão integral. Dentre as formulações de pão integral com adição bagaço de uva em pó, a com 5% de substituição foi a que apresentou escores mais elevados em relação aos atributos sensoriais e intenção de compra. Já em relação à pizza sabor banana com canela, não diferiram as preparações com percentuais de 5% e 10% de substituição. Em relação ao índice de aceitabilidade, as formulações tiveram valores superiores ao mínimo aceitável. A coloração escura da farinha de bagaço de uva pode ter influenciado negativamente em alguns atributos sensoriais. O aproveitamento tecnológico de resíduos agroindustrias é extremamente válido e deve ser incentivado, frente aos benefícios ambientais, econômicos e nutricionais.

Palavras-chave: panificação, bagaço de uva em pó, formulações, aceitação sensorial.

1 Introdução

De acordo com dados da Food and Agriculture Organization (FAO, 2010), o Brasil ocupa a 20^a posição na produção mundial de uva, sendo a Espanha, França, Itália, China e Turquia os maiores produtores mundiais. Em relação à produção interna, as Regiões Sul, Sudeste e Nordeste são as com maior cultivo e produção. Dados de 2012 revelaram que a produção anual de uvas no Brasil, variou de 1,3 a 1,4 milhões de toneladas/ano (IBGE, 2013). Diante dessa intensa produção, a geração de resíduos agroindustriais da uva tende a crescer cada vez mais. De acordo com um estudo do Ministério do Meio Ambiente, a produção de resíduos industriais do processamento da uva no Brasil em 2011, foi de 290.838.411 toneladas/ano, com potencial energético de quase 23.000MW/ano (BRASIL, 2011).

Resíduos podem representar perda de nutrientes, além de aumentar o potencial poluidor associado à disposição inadequada que, além da poluição de solos e de corpos hídricos quando da lixiviação de compostos, acarreta problemas de saúde pública (CARIOCA e ARORA, 2000).

Os resíduos agroindustriais da uva são compostos principalmente por subprodutos sólidos, como o engaço, o bagaço e por material filtrado dos líquidos. O engaço é formado pela armação do cacho da uva que suporta o fruto e representa de 3% a 7% do peso total do cacho. Dentre seus constituintes estão a água, celulose, taninos e minerais. O bagaço da uva é um subproduto agroindustrial constituído pela casca ou película, as sementes e os restos da polpa da uva, sendo o resultado do esmagamento do grão através de um processo de separação do suco ou mosto. Em condições normais, o bagaço equivale a 12% a 15%; podendo chegar a 20% do peso da uva (ISHIMOTO, 2008; ROCKENBACH, 2008).

Estes resíduos são constituídos de água, proteínas, lipídeos, glicídios, vitaminas, minerais e compostos com propriedades biológicas importantes, tais como fibras, vitamina C e compostos fenólicos (taninos, ácidos fenólicos, antocianinas e resveratrol), dependendo do tipo de bagaço, da natureza das castas de que provêm e das condições climáticas e de cultivo (PIOVESANA, BUENO e KLAJAN, 2013; AHMADI e ALI SIAHSAR, 2011; ROCKENBACH, 2008; LLOBERA e CAÑELLAS, 2007; ROCHENBACH *et al.*, 2007).

De acordo com Miranda *et al.* (2013), por possuírem alto teor de nutrientes, a maioria dos resíduos agroindustriais podem ser utilizados para produção de alimentos. Uma alternativa que vem crescendo desde o início da década de 1970 consiste no aproveitamento de resíduos (principalmente cascas) de certas frutas como matéria-prima para a produção de

alguns alimentos perfeitamente passíveis de serem incluídos na alimentação humana (ISHIMOTO, 2008).

Vários estudos utilizando resíduos industriais do processamento de alimentos têm sido realizados visando à redução do impacto ambiental e o desenvolvimento de tecnologias que agreguem valor aos produtos obtidos (BORGES *et al.*, 2013; MIRANDA *et al.*, 2013; ABUD e NARAIN, 2009; PELIZER, PONTIERI e MORAES, 2007; KOBORI e JORGE, 2005; LAUFENBERG, KUNZ e NYSTROEM, 2003).

Uma opção de aplicabilidade seria seu uso como ingrediente para produtos de panificação como pães, bolos, biscoitos e massas em geral. Esses produtos são comumente preparados com farinha de trigo e podem ser enriquecidos com outros ingredientes com alto teor de nutrientes (BORGES *et al.*, 2013), pois apesar de o trigo possuir propriedades tecnológicas ideais para a produção de pão, suas proteínas são consideradas de baixa qualidade nutricional devido à deficiência em aminoácidos essenciais (BORGES *et al.*, 2010).

Várias farinhas podem ser misturadas à farinha de trigo para uso em panificação, denominando-se tal mistura de farinha mista ou composta (BORGES *et al.*, 2013; MOHAMMED, AHMED e SENGE, 2012; GURGEL, MACIEL e FARIAS, 2010; ANGIOLONI e COLLAR, 2009; GANDRA *et al.*, 2008).

Para se mensurar a aceitação e a preferência dos consumidores com relação a um ou mais produtos, a escala hedônica estruturada de nove pontos é, provavelmente, o método afetivo mais utilizado devido à confiabilidade e à validade de seus resultados, bem como sua simplicidade em ser utilizada pelos provadores (BORGES *et al.* 2011).

Este trabalho teve como objetivo propor a incorporação do bagaço de uva em pó em produtos de panificação, bem como verificar a aceitabilidade sensorial e a intenção de compra.

2 Material e Métodos

Material

As amostras de uva (*Vitis vinifera* L.) da variedade Benitaka, foram obtidas junto ao Polo de Viticultura do Assentamento Marrecas, no município de São João do Piauí, Estado do Piauí, nordeste do Brasil, localizado a uma latitude 08°21'29" sul, a uma longitude 42°14'48" oeste e a uma altitude de 244 metros, onde predomina o tipo climático semiárido, com temperaturas anual variando de 25,7 °C a 29,2 °C. As amostras foram resultantes da safra 2011/2012. Após a colheita, as uvas foram transportadas em caixas isotérmicas até o

município de Teresina, para o Laboratório de Alimentos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), Campus Teresina Zona Sul, onde foram armazenadas por 48 horas sob refrigeração à temperatura de 4 °C até o início dos procedimentos.

Métodos

Processamento e obtenção do bagaço de uva em pó

Inicialmente, as uvas pesadas e classificadas, segundo Instrução Normativa nº 01 de 01 de fevereiro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000).

As uvas utilizadas pertenciam ao Grupo I (constituídas de variedade com semente), Subgrupo Colorido, Classe 2 (peso dos cachos maior ou igual a 200g e menor que 500g), Subclasse 20 (bagas com calibre maior ou igual a 20mm e menor que 22mm) e Categoria Extra (coloração típica, engaço verde e ausência de deformação nos cachos).

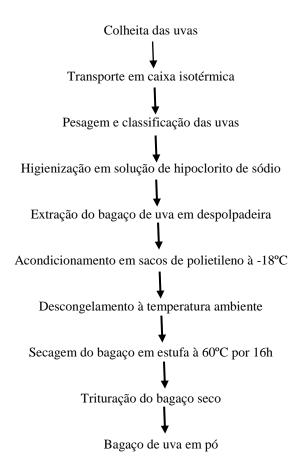
Em seguida, as uvas foram higienizadas e posteriormente prensadas em uma despolpadeira industrial marca Braesi, onde ocorreu a separação do resíduo (casca e semente) e da polpa para a extração de suco de uva. Após a extração dos resíduos, estes foram armazenados em sacos plásticos de polietileno à temperatura de -18°C até o momento do processamento.

Os resíduos foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar, marca Tecnal, modelo TE-394/l, a uma temperatura de 60°C por um período de aproximadamente 16 horas. O resíduo desidratado foi triturado em liquidificador doméstico, marca Walita e obteve-se um pó, que foi submetido à tamisação em um conjunto de sete tamises (10, 30, 40, 60, 80, 100, 200 "mesh"; correspondendo a aberturas de 2, 0.60, 0.42, 0.25, 0.18, 0.15, 0.075 mm, respectivamente).

Em seguida, as quantidades retidas em cada tamis foram pesadas. A farinha foi acondicionada em frascos tampados de polietileno e cor âmbar previamente higienizados até o momento das análises.

O fluxograma de obtenção do bagaço de uva em póestá representado na Figura 1.

Figura1: Fluxograma de obtenção do bagaço de uva em pó.



Formulação das preparações

Foram elaboradas duas preparações, sendo denominado A, a preparação pão integral e B, a preparação pizza sabor banana com canela. Todos os ingredientes foram obtidos no comércio da cidade de Teresina, Piauí. Inicialmente, todos os ingredientes das formulações, foram pesados em uma balança digital (Filizola® Platina, Brasil) com precisão de 0,1g e capacidade máxima de 15kg, no Laboratório de Panificação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI. Para o preparo das formulações, inicialmente, a farinha de trigo e o bagaço de uva em pó foram misturados entre si, formando um *mix*.

Pão integral

A formulação padrão de pão integral utilizada foi composta por farinha de trigo integral, fermento biológico, açúcar refinado, gordura hidrogenada, sal e água. As quantidades dos ingredientes desta preparação e as formulações com diferentes percentuais de substituição da farinha de trigo estão descritos na Tabela 1. Foram denominadas FA₅ (forumulação A com

5% de substituição), FA_{10} (formulação A com 10% de substituição) e FA_0 o controle (sem substituição da farinha de trigo).

Tabela 1: Formulação de pão integral enriquecido com diferentes percentuais de bagaço de uva em pó.

3 1	Quantidade (g/mL) de acordo com o Percentual de substituição (%)			
Ingredientes				
	FA ₅	FA_{10}	$\mathbf{F}\mathbf{A_0}$	
Farinha de trigo integral	95	90	100	
Bagaço de uva em pó	5	10	-	
Fermento biológico	4	4	4	
Açúcar refinado	6	6	6	
Gordura hidrogenada	6	6	6	
Sal	1.5	1.5	1.5	
Água	55	55	55	

Inicialmente, a farinha de trigo e o bagaço de uva em pó foram colocados em masseira (Suprema®) à 40 rpm, misturando-se aos demais ingredientes. Logo após, bateu-se a massa a 120 rpm até o ponto de véu (ponto ideal de desenvolvimento do glúten). A massa foi dividida e cortada manualmente em porções de 80g os quais foram dispostos em câmara de fermentação à 37°C e 90% de umidade relativa (UR), por aproximadamente 90 minutos. O cozimento dos pães foi realizado em forno turbo (Tedesco, Flex FTF 0.8G) à 145°C (temperatura já estabilizada por 15 minutos). Após o resfriamento dos pães em temperatura ambiente, os mesmos foram submetidos às análises.

Pizza sabor banana com canela

Para a formulação padrão da massa da pizza sabor banana com canela utilizou-se para o preparo da massa: farinha de trigo, açúcar refinado, fermento biológico, óleo de soja, ovo, sal e água. Para o preparo do recheio utilizou-se: queijo mussarela, banana prata, leite condensado, azeite e canela. As quantidades dos ingredientes desta preparação e as formulações com diferentes percentuais de substituição da farinha de trigo estão descritos na Tabela 2. Foram denominadas FB₅ (forumulação B com 5% de substituição), FB₁₀ (formulação B com 10% de substituição) e FB₀ o controle (sem substituição da farinha de trigo).

Tabela 2: Formulação de pizza sabor banana com canela enriquecida com diferentes percentuais de bagaço de

uva em pó.

	Quantidade (g/mL) de acordo com o			o com o
Etapa de	Ingredientes	Percentual de substituição (%)		
preparo		FB ₅	FB_{10}	FB_0
	Farinha de trigo	114	108	120
	Bagaço de uva em pó	6	12	-
	Fermento biológico	2.8	2.8	2.8
Massa	Açúcar refinado	6.5	6.5	6.5
	Óleo de soja	12	12	12
	Ovo	6	6	6
	Sal	1.2	1.2	1.2
	Água	100	100	100
	Queijo	250	250	250
	Banana prata	300	300	300
Recheio	Leite condensado	175	175	175
Reclieio	Azeite	25	25	25
	Canela em pó	3	3	3

Inicialmente, misturou-se o fermento com açúcar e adicionou-se a água, o óleo de soja, o sal e aos poucos a farinha mixta até obter uma massa firme. A massa foi sovada, coberta e deixada em repouso por 40 minutos até dobrar o volume. Logo após, a massa foi aberta em forma circular, com auxílio de um rolo, atingindo espessura de aproximadamente 0,7cm e colocada em forma grande de pizza previamente untada com margarina. A massa foi levada ao forno turbo (Tedesco, Flex FTF 0.8G) pré-aquecido à 180°C para pré-assar por 15 minutos e em seguida retirada do forno para ser recheiada e levada novamente ao forno por mais 5 minutos para assar. Para avaliar a aceitação da preparação as pizzas foram subdivididas em porções de tamanho semelhante, para avaliação pelos provadores.

Analise sensorial e Intenção de compra

A análise sensorial foi realizada com um grupo de 50 provadores não treinados, selecionados aleatoriamente, com idades entre 16 e 45 anos ou mais, de ambos os sexos e que receberam orientações especificas sobre os testes antes de serem submetidos a eles. Cada provador recebeu três amostras de cada preparação, dispostos em recipientes descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos. A avaliação dos principais atributos sensoriais foi realizada por meio de teste de aceitação afetiva. A aparência, aroma, sabor,

textura e impressão global, foram avaliados através de uma escala hedônica de 9 pontos, variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo) (PERYAM e PEREGRINO, 1957). A intenção de compra foi avaliada por outra escala de 5 pontos, em que 1 representa a pontuação mínima, "Certamente não compraria" e 5 a maior pontuação: "Certamente compraria" (SILVA, 1997) (Figura 2).

Figura 2: Ficha de avaliação sensorial de pão integral e pizza sabor banana com canela utilizando a escala hedônica para diversos atributos e a escala de intenção de compra.

Análise Sensorial e Intenção de Compra de Pão Inegral / Pizza sabor banana com canela					
Nome: Sexo ()M ()F Idade: () <16 ()16-25 ()25-35 ()35-45 ()>45					
preparadas com fi aparência, o sabor demonstrar o qua amostra e outra. C	arinha de resíduo r, o aroma, a textu nto você ficou sati oloque a nota para	de uma fruta, en ra e também fac sfeito ou insatis cada característic	m diferentes con ça uma avaliação feiro. Deguste u ca de cada amost	nposições (0, 5 e o geral das mesma ma por vez. Beba ra de acordo com a	
OBS: A impressão global corresponde ao quanto você gostou ou desgostou da amostra de um modo geral. 9					
AMOSTRA	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA	IMPRESSÃO GLOBAL
Agora você vai avaliar a sua intenção de compra com base na tabela abaixo para cada amostra. 5					

Fonte: Peryam e Peregrino (1957); Silva (1997).

Índice de aceitabilidade

O índice de aceitabilidade (IA) de cada preparação foi calculado pela expressão: IA (%) = A x 100/B, onde A = nota média obtida para o produto e B=nota máxima dada ao produto (TEIXEIRA, MEINERT e BARBETTA, 1987).

Análise estatística

Todos os resultados foram apresentados como média (n=3) ± desvio padrão (DP) e analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias a 5% significância (p <0,05), utilizando o programa Origin[®] para Windows, versão 7.0, (USA: Origin Lab Corporation, 2002).

3 Resultados e Discussão

Caracterização do bagaço de uva em pó

Após o processo de tamisação do resíduo em peneiras com cinco diferentes aberturas de malhas, padronizou-se o tamanho da partícula da farinha entre 0,42mm e 0,60mm de diâmetro.

Quanto ao rendimento em relação a matéria-prima inicial, constatou-se que 1Kg de bagaço de uva *in natura* rende aproximadamente 321g de pó, com rendimento próximo à 32%, valor este semelhante ao encontrado por Natividade (2010) (30%) e Ishimoto (2008) (37,5%) em bagaco de uva em pó.

Analise sensorial e Intenção de compra

Os resultados da avaliação de cada atributo pela análise sensorial e intenção de compra das formulações de pão integral e pizza sabor banana com canela encontram-se descritos nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3: Valores médios dos atributos sensoriais e intenção de compra das formulações de pão integral

Atributo sensorial/	Pão integral*		
Intenção de compra	$\mathbf{F}\mathbf{A_0}$	FA_5	FA_{10}
Aparência	$7,1\pm0,10^{a}$	$6,4\pm0,03^{b}$	5,8±0,01°
Aroma	$6,3\pm0,02^{a}$	$5,8\pm0,03^{b}$	$5,4\pm0,04^{c}$
Sabor	$6,3\pm0,03^{a}$	$5,9\pm0,01^{b}$	$5,5\pm0,03^{c}$
Textura	$6,6\pm0,03^{a}$	$6,7\pm0,01^{a}$	$6,5\pm0,03^{a}$
Impressão geral	$7,0\pm0,10^{a}$	$6,0\pm0,25^{b}$	$5,5\pm0,03^{c}$
Intenção de compra	$4,2\pm0,20^{a}$	$3,3\pm0,09^{b}$	$3,1\pm0,07^{b}$

^{*}Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo teste de Tukey.

As notas hedônicas médias das formulações para todos os atributos sensoriais situaram-se entre 7,1 e 5,4. O pão sem adição de bagaço de uva em pó foi o que apresentou maior aceitação em relação aos atributos aparência, aroma, sabor e impressão geral, seguido das formulações com concentrações de 5% e 10%, com diferenças estatisticamente significativas. Em relação ao atributo textura, as formulações não diferiram estatisticamente entre si.

O pão com maior média de intenção de compra foi o controle, equivalente ao termo hedônico "provavelmente compraria". Os pães que continham 5% e 10% obtiveram média equivalente ao termo hedônico "tenho dúvidas se compraria".

Em relação à formulação pizza, as notas hedônicas médias das formulações para todos os atributos sensoriais situaram-se entre 7,5 e 6,5. Em relação aos atributos aparência e aroma e sabor, a formulação controle, obteve maiores valores, seguida da formulação com 5% e 10%. No entanto, em relação ao sabor e impressão geral, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre as formulações. Para os atributos aroma e textura, em que as formulações adicionadas de bagaço de uva em pó, não diferiram estatisticamente entre si.

Tabela 4: Valores médios dos atributos sensoriais e intenção de compra das formulações de pizza sabor banana com canela.

Atributo sensorial/	Pizza sabor banana com canela*		
Intenção de compra	FB_0	FB ₅	FB ₁₀
Aparência	$7,1\pm0,10^{a}$	$6,9\pm0,10^{a}$	$6,5\pm0,10^{b}$
Aroma	$7,3\pm0,15^{a}$	$6,6\pm0,30^{b}$	$6,5\pm0,34^{b}$
Sabor	$7,1\pm0,15^{a}$	$6,7\pm0,20^{a}$	$6,9\pm0,32^{a}$
Textura	$7,5\pm0,25^{a}$	$6,7\pm0,20^{b}$	$7,0\pm0,00^{b}$
Impressão geral	$7,1\pm0,10^{a}$	$7,0\pm0,10^{a}$	$7,0\pm0,10^{a}$
Intenção de compra	$3,9\pm0,06^{a}$	$3,8\pm0,10^{a}$	$4,0\pm0,10^{a}$

^{*}Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo teste de Tukey.

Em relação à intenção de compra, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre as formulações, com médias equivalentes ao termo hedônico "provavelmente compraria".

Borges *et al.* (2013), ao avaliarem a aceitação sensorial de pão de forma contendo farinha mista de trigo e quinoa em formulações com 10% e 15% de substituição em relação à farinha de trigo, encontraram valores superiores, próximos à 8, para todos os atributos.

Romero *et al.* (2004) elaboraram biscoitos com adição de bagaço de uva em até 10% e também concluíram que é possível a adição de bagaço de uva como ingrediente para a fabricação de biscoitos tipo *cookies* com alto teor de fibras e atributos sensoriais aceitáveis.

Valores semelhantes aos do presente trabalho foram encontrados por Kopper *et al*. (2009), na análise sensorial empregando farinha de uva na elaboração de biscoitos tipo *cookie*, que encontraram valores de 6,1 a 6,6 de aceitação.

Em estudo realizado por Piovesana, Bueno e Klajn (2013), os biscoitos formulados com farinha de bagaço de uva valores entre 3,6 e 3,9; inferiores aos encontrados no presente estudo.

Pode-se observar, com base nos dados apresentados, uma diminuição nos valores de alguns atributos sensoriais dos produtos que continham adição de farinha de bagaço de uva, tanto no pão integral quanto na pizza sabor banana com canela. Isto pode ter ocorrido devido

ao fato de que a adição do bagaço de uva em pó pode causar alterações na aparência e no sabor dos produtos, que poderão ficar mais amargos e visualmente mais escuros, além disso, geralmente, a aceitação de produtos integrais costuma ser menor que a aceitação de produtos comuns. Isto também foi verificado por Piovesana, Bueno e Klajn (2013) e Romero *et al.* (2004) em formulações com farinha de resíduos de uva. Apesar de esse escurecimento ter contribuído para uma menor aceitação dos produtos, os pigmentos antociânicos responsáveis por essa coloração são considerados antioxidantes e combatem a formação de radicais livres. A preparação pizza teve uma maior aceitação do que a formulação de pão integral, possivelmente por conta do recheio doce desta preparação, que pode ter mascarado o sabor amargo do bagaço de uva em pó.

Indice de aceitabilidade

Para ser considerado aceito pelos consumidores, um produto deve ter um índice de aceitabilidade (IA) mínimo de 70% (TEIXEIRA, MEINERT e BARBETTA, 1987). Em todos os produtos formulados, o índice de aceitabilidade foi superior à 80% (Figura 3). Em relação ao pão integral adicionado de bagaço de uva em pó, o maior IA foi para a formulação com 5% de substituição (84,89%). Já em relação à formulação pizza sabor banana com canela, adicionada de bagaço de uva em pó, o IA foi semelhante (89,76% e 90,4%, para as formulações com 5% e 10% de adição, respectivamente).

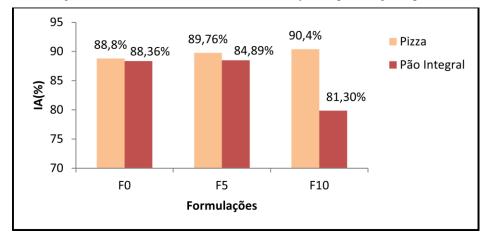


Figura 3: Índice de aceitabilidade das formulaçõesde pão integral e pizza

Conclusão

Os dados mostraram que, de um modo geral, a preparação pizza teve uma maior aceitação do que a formulação de pão integral. A coloração escura do bagaço de uva em pó pode ter influenciado negativamente em alguns atributos sensoriais. Assim, mais estudos envolvendo outras preparações e diferentes formulações devem ser realizados a fim de que se possa obter resultados mais conclusivos. Deve-se considerar que o aproveitamento

tecnológico de resíduos agroindustrias é extremamente válido e deve ser incentivado, frente aos benefícios ambientais, econômicos e nutricionais.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao CNPq/Capes/Fapepi pelo apoio financeiro, à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (CODEVASF) do Estado do Piauí pelo fornecimento das amostras de uva e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), pelo apoio institucional.

Abstract

The generation of agroindustrial waste are increasing the demand for studies that suggest the technological exploitation of these residues, which mostly have a high nutritional value and health benefits. This study aimed to incorporate the grape pomace powder in bakery products (bread and pizza) and evaluation of its acceptance by sensory evaluation and purchase intent. Three formulations were used, with different percentages of replacement of wheat flour at levels of 5 %, 10 % and 0 % (control). The results showed that the preparation of pizza had greater acceptance than bread. Among the formulations of whole wheat bread with added grape waste powder, 5 % substitution had the highest scores in relation to sensory attributes and purchase intent. In relation to pizza no statistically significant differences between the preparations of 5 % to 10 % substitution were observed. In comparison with the acceptability index, the values were greater than the minimum acceptable values. The dark color of the grape pomace powder may have negatively affected some sensory attributes. The technological use of agroindustrial waste is extremely valuable and should be encouraged to address the environmental, economic and nutritional benefits.

Key-words: bakery, grape pomace powder, formulations, sensory acceptance.

Referências

ABUD, A.K.S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**., v. 12, n. 4, p. 257-265, out./dez. 2009.

AHMAD, S.M.; ALI SIAHSAR, B. Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivar. **Ciencia e Investigación Agraria.**, v.38, n.2, p. 291-301, 2011.

ANGIOLONI, A.; COLLAR, C. Gel, dough and fibre enriched fresh breads: Relationships between quality features and staling kinetics. **Journal of Food Engineering**, v.91, n.4, p.526-532, 2009.

BORGES, J.T.S.; PIROZI, M.R.; VIDIGAL, J.G.; DE PAULA, C.D.; SOUSA E SILVA, N.A. Utilização de farinha mista de trigo e quinoa na elaboração de bolos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.7, n. 2, p. 1034-1048, 2013.

BORGES, J.T.S.; PIROZI, M.R.; COSTA, N.M.B; VIDIGAL, J.G. Qualidade proteica de pão de sal contendo farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.1, p. 109-117, 2010.

BORGES, J. T. S.; PIROZI, M. R.; PAULA, C. D.; RAMOS, D. L.; CHAVES, J. B. P. Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. **Boletim CEPPA**, v. 29, n. 1, p. 83-96, 2011.

BRASIL, 2011. Ministerio do meio ambiente. **Plano nacional de residuos solidos**. Versão preliminar para consulta. Brasilia 2011. 109 p.

BRASIL, 2000. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01 de 01 de fevereiro de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para classificação de uva fina de mesa**. Diário Oficial da União. Seção 1, página 2. Brasília, 04 de fevereiro de 2000.

CARIOCA, J.O.B.; ARORA, H.L. **Recycling pocess for human food and animal feed from residues and resources**. Fortaleza: Edições UFC/Banco do Nordeste, 2000.428p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Databases**, 2010. Disponível em: < http://faostat.fao.org/>. Acesso em 12 jan. 2012.

GANDRA, K.M.; DEL BIANCHI, M.; GODOY, V.P.; QUEIROZ, F.P.C.; STEEL, C.J. Aplicação de lipase e monoglicerídeo em pão de forma enriquecido com fibras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.182-192, 2008.

GURGEL, C.S.S.; MACIEL, J.F.; FARIAS, L.R.G. Aumento do teor de cálcio em pães adicionados de soro de leite e carbonato de cálcio. **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.4, p.563-571, 2010.

IBGE, 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Rio de Janeiro, v.26 n.2 p.1-84 fev.2013.

ISHIMOTO, E.Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. São Paulo, 2008. 195f. Tese. Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública. Área de Concentração: Nutrição. Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo.

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

KOPPER, A. C.; SARAVIA, A. P. K.; RIBANI, R. H.; LORENZI, G. M. A. C. Utilização tecnológica da farinha de bocaiúva na elaboração de biscoitos tipo *cookie*. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 463-469, 2009.

LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (a) the upgrading concept; (b) practical implementations. **Bioresource Technology**, Essex, v. 87, p. 167-198, 2003.

LLOBERA, A., CAN ELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera): pomace and stem. **Food Chemistry**, v. 101, p.659-666, 2007.

MIRANDA, A. A.; CAIXETA, A. C. A.; FLÁVIO, E. F.; PINHO, L. Fibras da farinha da casca do maracujá. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 24, n. 2, p. 225-232, abr./jun. 2013.

MOHAMMED, I.; AHMED, R.A.; SENGE, B. Dough rheology and bread quality of wheat-chickpea flour blends. **Industrial Crops and Products**, v.36, n.1, p.196–202, 2012

NATIVIDADE, M.M.P. **Desenvolvimento, caracterização e aplicação tecnológica de farinhas elaboradas com resíduos da produção de suco de uva**. Lavras, 2010, 202f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras.

ORIGIN® para Windows, versão 7.0, USA: **OriginLab Corporation**, 2002.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, Chile, v. 2, n. 1,p.118-127, 2007.

PERYAM, D.R.; PEREGRINO, F.J. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food Tecnology**, v. 11, n. 9, p. 9-14, 1957.

PIOVESANA, A.; BUENO, M.M.; KLAJN, V.M. Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 16, n. 1, p. 68-72, jan./mar. 2013

ROCKENBACH, I.I., SILVA, G.L., RODRIGUES, E., GONZAGA, L.V., FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.2, p.158-163, 2007.

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

ROMERO, R. C.; OSUNA, A. I. L.; SÁNCHEZ, R. M. R.; MORALES, R. C.; LEÓN-MARTINEZ, L.; LEÓN-GÁLVEZ, R. Characterization of cookies made with deseeded grape pomace. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 54, n. 1, p. 93-94, 2004

SILVA, M.A.A.P. **Métodos de avaliação sensorial de alimentos**. Apostila: Escola de extensão da UNICAMP, 1997, 71p.

TEIXEIRA, E; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos.** Florianópolis: Ed. UFSC, 1987. 180p.

CAPÍTULO 3

Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.) Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil

Artigo publicado na Revista Food Science and Technology.

Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.) Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil

Eldina Castro Sousa*^{1,2,3}, Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz^{1,2,3}, José Osvaldo Beserra Carioca^{1,4}, Selene Maia de Morais^{1,2}, Alessandro de Lima³, Clécio Galvão Martins², Cristiane Duarte Alexandrino², Pablito Augusto Travassos Ferreira²; Ana Livya Moreira Rodrigues²; Suliane Praciano Rodrigues², Jurandy do Nascimento Silva³, Larissa Lages Rodrigues³.

* Correspondence to: Eldina Castro Sousa. Adreess: Av. Dom Severino, 2216. São Cristóvão. CEP: 64049-370. Teresina, Piaui, Brazil. Telephone: + 55 (86) 3211-6608. Fax: + 55 (86) 3211-6765. E-mail: eldinasousa@hotmail.com

Abstract

Grape pomace (Vitis vinifera L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil was evaluated in relation to chemical composition, and content of minerals and functional properties. Its microbiological quality and toxic potential, using Artemia salina sp, was also investigated. The results showed that the flour obtained from these residues had below neutral pH (3.82), moisture (3.33g/100g), acidity of (0.64g of citric acid/100g), and ash (4.65 g/100g). The amount of total dietary fiber (46.17g/100g) stood out quantitatively compared to the content of carbohydrate (29.2g/100 g), protein (8.49g/100g), and lipids (8.16g/100g). The total energy was 224Kcal/100g. With regard to the compounds with functional properties, higher values of insoluble fiber 79% (36.4 g/100 g); vitamin C (26.25 mg of acid ascorbic /100g), and anthocyanins (131mg/100g) were found. The minerals iron, potassium, zinc, manganese, and calcium were present in higher concentrations. There were no significant copper values. The results showed that the grape residues are an important source of nutrients and compounds with functional properties suggesting that they can be incorporated as an ingredient in the diet and/or used as a dietary supplement aiming at health benefits. The residues did not show microbiological contamination and were considered nontoxic.

Keywords: Grape pomace. Chemical composition. Minerals. Bioactive compounds. Microbiological quality. *Artemia salina sp*.

1. Introduction

Because of the beneficial effects on human health and its economic importance, grape is a fruit widely grown and eaten around the world. Historically, the production and export of grapes were controlled almost exclusively by traditional European countries; however, in recent years, South America has shown significant rate of growth in production and export of grapes with two crops a year ⁽¹⁾. According to data from the Food and Agriculture

¹ Northeast Biotechnology Network. Doctoral in Biotechnology. Federal University of Ceara. Pici Campus. Av. Contorno, CEP 60440-593, Fortaleza, Ceará, Brazil.

² State University of Ceará. Laboratory of Chemistry of Natural Products. Itaperi Campus. Av. Paranjana, 1700, CEP 60714-903, Fortaleza, Ceará, Brazil.

³ Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí. Teresina South Campus. Laboratory of Food Analysis. Av. Pedro Freitas, 1020, São Pedro, CEP 64.000-040, Teresina, Piauí, Brazil.

⁴ Federal University of Ceará. Technological Development Park. Pici Campus. Av. Contorno, S/N, Bloc 310, CEP 60440-593, Fortaleza, Ceará, Brazil.

Organization ⁽²⁾, Brazil occupies the 20th position in terms of world production of grapes. In 2012, data show that the annual production of grapes in Brazil ranged from 1.3 and 1.4 million tons/year ^(3,4).

Municipalities in the Northeast of Brazil, where the predominant climate is semi-arid and dry sub-humid, are characterized by low rainfall and relative and high air temperature and solar radiation⁽⁵⁾. Phytosanitary problems tend to be smaller and fruit quality tends to be better, which is essential for the expression of the productive potential of the European vine ^(6,7). According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics, in 2012, the planting of grapes in northeastern Brazil was 9.437 hectares, with total production of 287.050 tons and average yield of 31.043 kg/ha. In February 2013, data indicated a 2% increase in production although a 0.4% decrease in the total area planted was observed ⁽⁴⁾. Along with this intensive production, large amounts of agro-industrial residues are generated ⁽⁸⁻¹²⁾. According to a study conducted in 2011 by the Brazilian Ministry of Environment ⁽¹³⁾, the production of grape waste in Brazil was 290.838.411 tons.

The agro-industrial residues of grape are mostly solid by-products such as stalks, pomace and the liquid filtrate. Depending on the conditions of the grapes when they are harvested, the residues may represent from 13.5 to 14.5% of the total volume of grapes, and may reach 20%^(14,15). These residues are composed of water, proteins, lipids, carbohydrates, vitamins, minerals, and compounds with important biological properties such as fiber, vitamin C, and phenolic compounds (tannins, phenolic acids, anthocyanins, and resveratrol), depending on the type of waste, the cultivar and climatic and cultivation conditions (14-18). Due to the functional properties of these residues, which are capable of acting on the metabolism and human physiology producing beneficial health effects, the extraction of these bioactive substances can provide many opportunities for adding value to food products contributing to the improvement of dietary pattern of the population and helping prevent diseases such as cancer, cardiovascular disease, Alzheimer's, and other degenerative diseases, besides decreasing the environmental impact and economic losses (9-12). However, for better understanding the use and benefits of this plant and its waste, it is necessary to know its chemical constituents and evaluate the risk/benefit ratio of their use through chemical, microbiological, and toxic potential analyses (20).

The bioassay method using the micro crustacean *Artemia salina sp* has been used to evaluate the toxicity of plant products; this is simple and low cost method. Although not specific, this method has a good correlation with tumor cells and pesticidal activity ⁽¹⁹⁾. This bioassay allows the evaluation of overall toxicity, and therefore it is considered the preliminary study of compounds with potential biological activity. Studies on the lethality of *Artemia salina sp*. in plant extracts have been widely conducted ⁽²¹⁻²⁴⁾.

This paper aimed to characterize grape pomace in terms of chemical composition, mineral content, and functional properties and determine its microbiological quality and toxic potential to evaluate the feasibility of using it in food industries improving the nutritional value of food products and the quality of life of consumers.

2. Materials and methods

2.1 Grape samples' characterization, processing, and flour preparation

Samples of grape (*Vitis vinifera* L.) of the variety Benitaka were collected by the authors directly from the Vine Complex at Marrecas settlement (2011/2012 harvest season) in the municipality of São João do Piauí, Piauí state, Northeastern Brazil. After harvest, the grapes were transported in cool boxes to the city of Teresina, capital of the state of Piauí, to the Laboratory of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí, Teresina South Zone, where they were stored under refrigeration for 48 hours at 4°C until analysis.

Initially, the grapes were weighed and graded according to Normative Instruction N°. 01 of 1 February 2000, the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply ⁽²⁵⁾. The grapes used were from Group I (consisting of variety with seed), Subgroup Colorful, Class 2 (mass of clusters between 200g and 500g), Division 20 (berries with a caliber greater than or equal to 20mm and less than 22mm) and Extra Class (typical coloring, green stems, and no bunch deformation). Then grapes were then cleaned and pressed using an industrial depulper separating the pomace (skin and seeds) and pulp for the extraction of grape juice.

After extraction, the pomace was stored in polyethylene bags at -18 °C until processing. The pomace was dried in an air circulation oven (Tecnal, model TE-394 /L) at 60 °C for approximately 16 hours. The dried residue was triturated using a domestic blender (Walita) and a flour was obtained and sieved using a set of seven sieves (10, 30, 40, 60, 80, 100, and 200 mesh corresponding to openings: 2, 0.60, 0.42, 0.25, 0.18, 0.15, and 0.075 mm, respectively). The flour was packed in lidded polyethylene bottles until analysis. The flour was then subjected to chemical analysis for determination of vitamin C, anthocyanins, minerals, microbiological quality, and toxic potential. Subsequently, from the flour obtained, extractions using different solvents were performed and the extracts were subjected to toxicological analysis.

2.2 Chemical analysis

2.2.1 Acidity, pH, moisture, and ash

Acidity was determined by titration with 0.1 N NaOH, and the results were expressed in grams of citric acid/100g. The pH was determined by direct reading on the potenciometer, (MS Tecnopon, model mPA210) calibrated in buffer solutions of pH 4.0 and 7.0. Moisture determination was performed by drying the sample in an air circulation oven (Tecnal, model TE-394 /L) at 105°C to constant weight. Moisture was calculated by the difference in the mass of the sample before and after drying; the result was expressed in percentage of moisture. Ash was determined by incineration in a furnace at 550°C until constant weight. These analyses were performed in triplicate according to the method described by the Adolfo Lutz Institute (26).

2.2.2 Lipids, protein, total dietary fiber, and total carbohydrate

Lipids were obtained by Soxhlet extraction using hexane as solvent under reflux for 6 hours, according to the analytical standards of the Adolfo Lutz Institute ⁽²⁶⁾. Protein was determined by the micro-Kjeldahl method using copper sulphate and selenium as catalysts of mineralization and boric acid as the receiver solution in the distillation of ammonia. Next, the sample was titrated with 0.1 N hydrochloric acid. The conversion factor of 6.25 was used to covert nitrogen into protein, as recommended by Association of Official Analytical Chemistry ⁽²⁷⁾. Total dietary fiber (TDF) was obtained by adding the soluble and insoluble fractions, according to the enzymatic-gravimetric method of Prosky *et al.* ⁽²⁸⁾ Total carbohydrate was determined by the difference method: 100 - (weight in grams [moisture + ash +protein + total fat + total dietary fiber in 100 g of food).

2.2.3 Pectin

Pectin was determined following the Pearson method ⁽²⁹⁾ and consisted of the neutralization the overall charge of free uronic acid residues by calcium ions causing gelation and precipitation of pectin. The results were expressed in grams of calcium pectate per 100g of sample.

2.2.4 Fructose, Glucose, and Sucrose

Fructose, glucose, and sucrose were determined according to the method of Feinberg and Burgner ⁽³⁰⁾ based on the extraction of sugars from an aqueous medium and determining the levels of these sugars by high performance liquid chromatography.

2.2.5 Total Energetic Value

The total energy was calculated based on the energy nutrient results obtained using the conversion factors of Atwater, as described by Osborne and Voogt ⁽³¹⁾, considering 4 kcal/g for carbohydrate, 4 kcal/g for protein, and 9 kcal/g for lipids.

2.3 Bioactive Compounds

2.3.1 Soluble and insoluble dietary fiber

The values of soluble fiber (SDF) and insoluble fiber (IDF) were obtained by the enzymatic-gravimetric method, according to Prosky *et al* ⁽³²⁾. The samples were subjected to the action of α -amylase (*Sigma*, A-5426), and subsequently protease (*Sigma* P-3910) and amyloglucosidase (*Sigma* A-9913). Based on this hydrolysate, the insoluble fiber content was determined by washing in water and acetone and the soluble fiber obtained from the filtrate by precipitation with ethanol 98% and filtration with ethanol and acetone.

2.3.2 Vitamin C

Vitamin C was determined according to the method described by Pearson and Cox ⁽³³⁾, which is based on the reduction of 2.6-dichlorophenol indophenol sodium (ITD) by ascorbic acid. The result was expressed in milligrams of ascorbic acid/100g sample.

2.3.3 Anthocyanins

The determination of anthocyanins was performed according to the method of Francis ⁽³⁴⁾. For the extraction, 1g of dehydrated pomace was homogenized with a solution of HCl (1.5 N) and ethanol 85%. After a period of 24 hours under refrigeration and absence of light, the extracts were filtered and read at 535nm using a Coleman 33D spectrophotometer. The results were expressed as mg of anthocyanins totais/100g sample and calculated using the formula: (absorbance x dilution factor) / 98.2.

2.4 Determination of minerals

The analyses of minerals were performed at the Laboratory of Water and Soil of the EMBRAPA (Brazilian Agricultural Research Corporation – Tropical Agroindustry), in Fortaleza, Ceará, Brazil. Initially, nitric perchloric acid digestion of the sample was performed. The minerals calcium (Ca), magnesium (Mg), iron (Fe), zinc (Zn), and manganese (Mn) were determined by atomic absorption spectrophotometry using a Perkin Elmer AAnalyst 300 spectrophotometer. The minerals Sodium (Na) and potassium (K) were determined by flame photometry using a flame photometer (Digimed, DM62). Phosphorus

(P) and sulfur (S) were determined using a spectrophotometer at a wavelength of 660nm for phosphorus and 420nm for sulfur. All determinations of these minerals followed the method described by Silva ⁽³⁵⁾ and were performed in triplicate.

2.5 Microbiological Analysis

The microbiological quality of the samples was determined by counting standard *Coliforms* at 45°C, *Bacillus cereus*, and *Salmonella*, according to the method described by American Public Health Association⁽³⁶⁾ and Silva *et al*.⁽³⁷⁾ The results were compared with the standards of the Resolution No. 12, dated January 2, 2001, the National Agency for Sanitary Surveillance in Brazil, which sets standards for the microbiological quality of the flour group: pasta, bakery products and and similar products; and starch subgroup: flours, and powdered or flocked starch and cornmeal (Brasil, 2001). ⁽³⁸⁾

2.6 Toxic potential using Artemia salina sp.

2.6.1 Preparation of extracts

From the grape pomace flour, extraction was performed using different solvents using the Soxhlet apparatus as described by the Adolfo Lutz Institute ⁽²⁶⁾ according to the analytical standards of the Adolfo Lutz Institute. For the extraction, the following solvents were used, hexane (non-polar), ethanol, acetone, and methanol (polar) to obtain a water-soluble extract without interference. The extraction was controlled for 6h at 60°C. The material extracted was concentrated under vacuum using in a rotary evaporator (Fisatom, model 801) at a temperature of 50°C. After the process, the extracts were subjected to thermostatic bath at a temperature of 60°C until there was no trace of solvent. The extracts were stored with protection from light in glass containers until the analysis.

2.6.2 Toxic potential

The toxic potential of the extracts was determined using the larvae of *Artemia salina* sp. according to the method described by Meyer $et\ al.^{(39)}$ and McLaughlin $et\ al.^{(40)}$. The eggs of *Artemia salina* sp. were hydrated in an aquarium containing synthetic saline water adapted to 12 ppm in ambient temperature around 25°C. After a period of time of approximately 48 hours, the eggs hatched and gave rise to larvae, which were collected for bioassays. The dilutions of ethanol, acetone, and methanol extracts and a blank test were conducted in synthetic saline, 0.5 mL of dimethyl sulfoxide concentration (DMSO), to which ten larvae were added in 50 mL plastic cups. For the negative control, larvae were kept only in synthetic saline. After 24 hours incubation, living and dead larvae were counted to calculate survival percentage, which was used to determine the LC₅₀ (lethal concentration for 50% of larvae).

2.7 Statistical Analysis

Analyses were carried out in triplicate. All results were expressed as means \pm standard deviation (SD) using the software Origin[®] for Windows, version $7.0^{(41)}$.

3. Results and Discussion

3.1 Characterization of grape pomace flour

After the pomace sieving process through a sieve using five different mesh openings, the flour particle size was standardized between 0.42 mm and 0.60 mm in diameter since the retention of larger amounts of flour occurred in the sieves between 30 and 40 "mesh." The yield relative to the initial raw material, it was found that 1 kg of grape marc fresh yields approximately 321g of processed flour, with yields close to 32%.

3.2 Physicochemical characterization

The results of the physicochemical analyses are shown in Table 1. In addition to low moisture $(3.33 \pm 0.04 \text{ g/100g})$, the pH value of the pomace grape flour was below neutral (3.82 ± 0.01) , which led to greater stability hampering the development microorganisms because fungi generally prefer acidic pH (4.5-5.0) and bacteria prefer near neutral pH (6.5-7.0). The pH of grape residue flour are directly correlated with the pH of fresh grape. Investigating grapes of the variety Benitaka, Pinheiro $^{(42)}$ observed pH of 3.65, a value similar to that found in the present study.

The moisture content found in this study are lower than those found by Tangolar et $al.^{(9)}$ in seeds of seven grape varieties (4.95 to 6.54 g/100g). According to Resolution N°. 263, dated 2005, 22 September, the National Agency for Sanitary Vigilance, the maximum value of for flours should be $15\%^{(43)}$. As for acidity, the value found in this study was 0.64 ± 0.004 g of citric acid/100g. Acidity can determine the quality of the flour under study. With respect to wheat flour, the higher the acidity, the lower its quality, and when it is used as a raw material, it directly affects the final product.

Table 1: Physicochemical analysis of grape pomace (Vitis vinifera L.) flour.

Parameters (% dry basis)	Results (Mean ±SD)
Moisture (g/100g)	3.33±0.04
Ash (g/100g)	4.65±0.05
Total Lipids (g/100g)	8.16±0.01
Protein (g/100g)	8.49 ± 0.02
Carbohydrate (g/100g)	29.20
Pectin (g/100g)	3.92 ± 0.02
Frutose (g/100g)	8.91±0.08
Glucose (g/100g)	7.95 ± 0.07
Total dietary fiber (g/100g)	46.17 ± 0.80
Total Calories (Kcal/100g)	224

Comparing the values observed in the present study with that of the pure wheat flour, maximum of 3%⁽⁴⁴⁾, an adequate pomace grape flour acidity is achieved. The higher acidity values correlate with more significant concentrations of tartaric and malic acids in the skins of grapes⁽⁴⁵⁾. The amount of total dietary fiber (46.17g/100g) was higher than that of the other nutrients, leading to the conclusion that it is as a major component of the raw material of this study, in quantitative terms. This value was higher than that found in studies that quantified the dietary fiber content of flour residues in grape, 25.62 and 31.66 g/100g ⁽⁴⁶⁾. However, it

was higher when compared to the fiber content in green banana flour (17.98 g/100g) and wheat flour (2.3 g/100 g) ⁽⁴⁷⁾. Fiber content is related not only to the quantitative but also qualitative aspect since grape pomace fibers are structurally different from those found in other cereals and other fruits since it is associated with polyphenols with antioxidant activity.

With regard to the lipid content, the value found (8.16g/100g) was higher than that reported by Bampi *et al*⁽⁴⁶⁾ in flour grape residues (2.56 g/100g). The lipids of the grapes are mainly concentrated in its seeds and consist of about 90% monounsaturated fatty acids, known for their beneficial properties, particularly to the cardiovascular system⁽⁴⁸⁾.

The amount of protein corresponded to 8.49 g/100g of sample analyzed. Higher values (11g/100g, 12g/100g, and 14g/100g) were found by Valiente *et al.*⁽⁴⁹⁾, Llobera and Canellas⁽⁵⁰⁾ and Bravo and Saura-Calixto⁽⁵¹⁾ in grape residues.

With respect to the carbohydrates, they accounted for 29.20 g/100g sample, and fructose was present in the greatest amount (8.91 g/100 g), followed by glucose (7.95 g/100 g). There were no significant values for sucrose. Bampi *et al.*⁽⁴⁶⁾ reported 52.56 g/100g values for carbohydrates in Japanese grape flour. Carbohydrates and proteins are essential for human health. Carbohydrates are the body's preferred energy source, and they provide fuel for the central nervous system and for the other organs of the human body. Proteins are required for the growth, development, regeneration and reconstruction of the body and are responsible for the production of antibodies, blood cells, hormones, and enzymes⁽¹⁰⁾.

3.3 Bioactive Compounds

Vitamin C levels can be considered an index of nutritional quality of foods because its presence demonstrates that other nutrients were probably preserved since vitamin C is thermolabil. The amount of Vitamin C in grapes is 10.8 mg/100 g edible part, on average ⁽⁴²⁾. The grape pomace flour obtained had 26.25 mg ascorbic acid/100g (Table 2). This result was higher than that found by Souza *et al.*⁽⁵²⁾ in the skin of grape *Vitis vinifera* L. (4.9 to 12.2 mg ascorbic acid/100g) and it is significant since the samples were oven heated.

Regarding the content of anthocyanins, the grape pomace flour obtained had 131mg/100g. This result was higher than that found by Sousa *et al.*⁽⁵³⁾ in fruit waste, with values of 8.4 µg/100g in residues of *acerola*, and 3.2 µg/100g in guava waste. Anthocyanin pigments are present in the grape skin, and their levels may vary from 30 to 750 mg/100g fruit, in agreement with the values found in this study ⁽⁵⁴⁾. Rockenbach *et al.*⁽⁵⁵⁾ found higher values of anthocyanins, ranging from 385.93 to 934.67 mg/100g mg/100g, in red grape bagasse. Pinheiro ⁽⁴²⁾ found values of 3.56 mg/100mL in grape juice at baseline and 1.43 mg/100mL after 210 days of storage. Levels of anthocyanins in grapes is associated not only with the portion of the fruit analyzed, but they can also be influenced by factors such as cultivar, cultivation method, climatic aspects, and physicochemical factors such as pH and temperature ⁽⁵⁶⁾.

Table 2: Bioactive compounds in pomace grape (Vitis vinifera L.) flour

Bioactive compounds	Results (Mean ±SD)
Vitamin C (mg ascorbic acid/100g)	26.25±0.01
Total anthocyanins (mg/100g)	131±0.4
Soluble dietary fiber (g/100g)	9.76±0.03
Insoluble dietary fiber (g/100g)	36.40±0.84

As for the total dietary fiber, the IDF 79% (36.4 g/100g) was higher than the SDF, 21% (9.76 g/100g). The IDF is predominantly composed of cellulose and hemicellulose and lignin (lesser amount). Pectin predominates in the SDF $^{(51)}$.

In this study, we found 3.92 ± 0.02 g/100g of pectin, a value close to a similar study (2.3-4.4 g/100g) ⁽⁵¹⁾. Higher values (6.2 g/100g) were found by Llobera and Canellas ⁽⁵⁰⁾ in grape byproducts. According to Mildner-Szkudlarz ⁽⁵⁷⁾, the proportion of SDF and IDF in the diet should be between 1:4 and 1:3. Soluble fiber reduces the risk of heart diseases and lowers levels of cholesterol triglycerides, and glucose in the blood ^(57,58). The insoluble fraction has a positive influence on the colon ⁽⁵⁹⁾. According to Schneeman ⁽⁶⁰⁾, 30-50% SDF and 50–70% IDF are considered to be well-balanced proportions for maximum health benefits. Thus, the flour obtained from grape pomace, providing 79% IDF and 21% SDF, is a good sources of DF. According to Perez-Jimenez *et al.* ⁽⁶¹⁾, grape DF significantly reduced the lipid profile and blood pressure, these effects were significantly greater than those caused by other DFs such as oat fiber or psyllium, probably owing to the combined effect of DF and antioxidants.

3.4 Minerals

According to the results of the mineral analysis shown in Table 3, iron, potassium, zinc, manganes, and calcium were present in higher concentrations. There were no significant values for copper. Potassium levels higher than those of sodium can lead to a mineral balance that favors hypertension control. A diet rich in potassium lowers blood pressure and consequently the risk of morbidity and mortality due to cardiovascular diseases; in addition, potassium intake can decrease urinary calcium excretion and consequently reduce the risk of developing osteoporosis⁽¹⁰⁾.

Comparing with Dietary Reference Intakes (DRI) ⁽⁶²⁾, the amount of iron found in this study (18.08 mg/100g) supplies the adult daily requirements for iron (8mg/day for men and 8 to 18mg/day for women). For zinc, the recommended daily intake is 11mg for men and 8 mg for women. The amount of zinc found was 0.98 mg/100g. These minerals are considered essential for the human body. Iron, among other functions, is associated with the production of blood cells, and zinc is essential for the immune system. Both nutrients are also considered potent antioxidants. Lachman *et al.* ⁽¹²⁾, in a study on minerals present in grape seed found lower values of calcium (0.27 mg/100 g), iron (4.54 mg/100 g), and phosphorus (0.02 mg/100 g) and higher values of manganese (1.45 mg/100g). However, similar values were reported for magnesium (0.10 mg/100 g), sodium (0.042 mg/100g), and zinc (1.1 mg/100g).

Table 3: Composition of minerals (mg/100g) in grape pomace (Vitis vinifera L.) flour.

Minerals	Results (Mean ±SD)
Calcium	0.44 ± 0.715
Magnesium	0.13 ± 0.255
Sodium	0.044 ± 0.056
Potassium	1.40 ± 0.313
Iron	18.08 ± 0.03
Manganese	0.817 ± 0.550
Phosphorus	0.183 ± 0.255
Sulfur	0.089 ± 0.336
Zinc	0.98 ± 0.702

Rizzon and Miele⁽⁶³⁾, investigating minerals in grape juice, found higher values of sodium (0.067 mg/100 g), potassium (129.5 mg/100g), phosphorus (10.5 mg/100g), and magnesium (8.78 mg/100g), but lower values of iron (0.14 mg/100g).

3.5 Microbiological Quality

The results shown in Table 4 indicate that the grape pomace flour has microbiological characteristics acceptable for human consumption, which is consistent with the standards recommended by the Resolution N^{o.} 12 of January 2, 2001, the National Agency for Sanitary Surveillance ⁽³⁸⁾. Possibly, the satisfactory results of microbiological parameters are due to the fact that the grape flour does not provide favorable conditions for microbial growth, such as low moisture and pH lower than 4.

Table 4: Microbiological Analysis of grape pomace (Vitis vinifera L.) flour.

Microorganism	Result	Tolerance*
Salmonella (in 25g)	Absent	Absent
Fecal Coliforms (MPN/g)**	<3	10^{2}
Bacillus cereus (CFU/g)***	< 100	3×10^{3}

^{*}According to Resolution No. 12 of January 2, 2001, the National Health Surveillance Agency (ANVISA), food group 10, item a.

3.6 Toxic potential using the larvae of Artemia salina sp.

Meyer $et\ al.^{(39)}$ established the relationship between the degree of toxicity and median lethal dose, LC₅₀ of plant extracts against larvae of *Artemia salina sp.*; values above 1000µg/mL are considered nontoxic. All extracts were evaluated against their toxicity to *Artemia salina sp.* and were considered nontoxic since all microcrustaceans remained alive. Nascimento $et\ al.^{(65)}$ studied toxicity in three species of medicinal plants of the genus *Phyllanthus* and reported absence of toxicity only in the species *P.amarus*. Leite $et\ al.^{(19)}$. found that hexane extract from avocado seeds showed toxicity to *Artemia salina* (LC₅₀ of 2.37mg/mL⁻¹).

The absence of toxicity may be an advantage to a possible use of this extract in the development of new herbal medicines and for human use.

4. Conclusions

This study is the first characterization of grape pomace grown in the state of Piaui. The results show that it is an important source of nutrients and compounds with functional properties. The grape pomace flour obtained showed low and pH below neutral, which can help prevent growth of pathogenic microorganisms. The amount of total dietary fiber is quantitatively greater compared to that of carbohydrates, proteins, and lipids, indicating that this residue could be included in the daily diet as a source of fiber and food suplement. Regarding compounds with functional properties, the entration results show that grape pomace may be a potential source of bioactive compounds, especially higher concentration of insoluble fibers in relation to the soluble fraction, and significant amounts of vitamin C and anthocyanins. As for minerals, iron, potassium, zinc, calcium, and manganese are present in higher concentrations. Furthermore, the results of this study suggest that the flour produced from grape pomace, which is environmentally appropriate and easy to obtain, may be a potential food ingredient in the daily diet or as a nutritional supplement. The microbiological

^{**} MPN/g = Most Probable Number per gram

^{***} CFU/g = Colony Forming Unit per gram

and toxicity bioassays show that the grape pomace evaluated was not contaminated and it was therefore considered nontoxic and were considered. It is suggested, however, that further studies should be conducted on this residue, for example, to evaluate the presence of other bioactive compounds, including the evaluation of the antioxidant activity of the phenolic compounds and fatty acid composition in the seeds of this residue.

Acknowledgements

The authors are grateful for the financial support provided by CNPq/CAPES (National Council for Scientific and Technological Development - Brazil), to the CODEVASF (São Francisco and Parnaíba Valley Development Company) that provided samples of grape, and to EMBRAPA (Brazilian Agricultural Research Corporation – Tropical Agroindustry), for the contribution to the mineral analysis.

References

- 1. Ruiz VS. Avances em viticultura em el mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2011; (E):131-143.
- 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Databases**. 2010. [acesso em 2012 jan 12]. Disponível em: < http://faostat.fao.org/>.
- 3. Camargo UA, Tonietto J, Hoffmann A. Progressos na Viticultura Brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**.2011; (E):144-149.
- 4. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal.** 2013. [acesso em 2013 jan 20]. Disponível em: http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>.
- 5. Andrade Júnior AS, Tonietto J, Bastos EA, Conceição MAF. Classificação climática e regionalização do semi-árido do Estado do Piauí sob cenários pluviométricos distintos. **Revista Ciência Agronômica**. 2005; 36(2):143-151.
- 6. Costacurta A, Roselli G. Critères climatiques et edaphiques pour l'établissement des vignobles. **Bulletin de l' O. I. V**.1980; 53(596):783-786.
- 7. Coombe BG. Influence of temperature on composition and quality of grapes. **Acta Horticulturae.** 1987; (206):23-35.
- 8. Bustamante MA, Moral R, Paredes C, Pe´rez-Espinosa A, Moreno-Caselles J, Pe´rez-Murcia MD. Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. **Waste Management**. 2008; (28):372–380.
- 9. Tangolar SG, Ozogul Y, Tangolar S, Torun A. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. 2009; 60(1): 32-39.
- 10. Cetin ES, Altinoz D, Tarc an E, Baydar NG. Chemical composition of grape canes. **Industrial Crops and Products**. 2011; (34): 994-998.
- 11. Deng Q, Penner MH, Zhao Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**. 2011; (44):2712–2720.
- 12. Lachman J, Hejtmánko'va A, Hejtmánko'va K, Hornicko'va S, Pivec V, Skala O, Dedina M, Pribyl J. Towards complex utilisation of winemaking residues:Characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essentialelements content as a by-product of winemaking. **Industrial Crops and Products**. 2013; (49):445–453.
- 13. Brasil. Ministerio do meio ambiente. **Plano nacional de residuos solidos**. Versão preliminar para consulta. Brasilia. 2011; 109 p.

- 14. Ahmad SM, Ali Siahsar B. Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivar. **Cienia e Investigación Agraria**. 2011; 38(2):291-301.
- 15. Rockenbach II, Silva GL, Rodrigues E, Kuskoski EM, Roseane Fett R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2008 dez; 28(Supl.): 238-244.
- 16. Rockenbach II, Silva GL, Rodrigues E, Gonzaga LV, Fett R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 2007; 66(2):158-163.
- 17. Pontes PRB, Santiago SS, Szabo TN, Toledo LP, Gollücke APB. Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2010 abr.-jun.; 30(2): 313-318.
- 18. Burin VM, Falcão LD, Gonzaga LV, Fett R, Rosier JP, Bordignon-Luiz MT. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2010 out.-dez.; 30(4): 1027-1032.
- 19. Leite JJG, Brito EHS, Cordeiro RA, Brilhante RSN, Sidrim JJC, Bertini LM, Morais SM, Rocha MFG.Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2009 mar-abr; 42(2):110-113.
- 20. Devesa-Rey R, Vecino X, Varela-Alende JL, Barral MT, Cruz JM, Moldes AB. Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. **Waste Management**. 2011; (31):2327–2335.
- 21. Araujo MGF, Cunha WR, Veneziani RCS. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de Artemia salina Leach do extrato obtido de frutos de Solannum lycocarpum A. ST.-Hill (Solanacede). **Revista Ciencia Farmacêutica Aplicada Basica**. 2010; 31(2):205-209.
- 22. Lachumy SJT, Sasidharan S, Sumathya V, Zurainia Z. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torch ginger) flowers. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 2010; 3(10):769-774, 2010.
- 23. Bussmann RW, Malca G, Glenna A, Sharon D, Nilsen B, Parris B, Duboce D, Ruiz D, Saleda J, Mertinez M, Carillo L, Walker K, Kuhlman A, Townesmith A. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of Ethnopharmacology**. 2011; 137(1):121-140.
- 24. Jiménez CDC, Flores CS, He J, Tian Q, Schwartz SJ, Giusti MM. Characterization and preliminary bioactivity determination of *Berberis boliviana Lechler* fruit anthocyanins. **Food Chemistry**. 2011; 128(3):717-724.
- 25. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01 de 01 de fevereiro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para classificação de uva fina de mesa. **Diário Oficial da União**. Seção 1, página 2. Brasília, 04 de fevereiro de 2000.
- 26. Brasil. Instituto Adolfo Lutz: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**/coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4ª edição; 2008.
- 27. AOAC (Association of Official Analytical Chemist). **Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists**. 16th Ed. Gaithersburg, USA: AOAC Press; 1995.
- 28. Prosky L, Asp NG, Furda I, DeVries JW, Schweizer TF, Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods, food products and total diets: Interlaboratory Study.

- **Journal of The Association Official Analytical Chemists**. Arlingtton. 1984; 67(6):1044-1052.
- 29. Pearson D. **Chemical Analysis of Foods**. 7th Ed. Livingstone, London: Churchill; 1976. pp. 7–11.
- 30. Feinberg M, Burgner E. Determination of mono and disaccharides in foods by interlaboratory study. Quantification of Bias components for liquid chromatography. **Journal of AOAC International**. 1992; 75(3):443-464.
- 31. Osborne DR, Voogt TP. **The analysis in nutriente of food**. London: Acedmic.1978; (47):156-158.
- 32. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, DeVries JW, Furda I. Determination of insoluble and soluble dietary fibers in foods, and food products. **Journal of The Association Official Analytical Chemists**. Arlingtton. 1992; 75(12)360-367.
- 33. Pearson D, Cox HE. **The chemical analysis of foods**. New York: Chem. Publ. 1976. 393p.
- 34. Francis FJ. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press. 1982.p.181-207.
- 35. Silva FC. **Manual de Análises Químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência e Tecnologia. 1999.
- 36. American Public Health Association. Downes & Ito (Coord.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 1st ed. Washingthon, DC. 2002.
- 37. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos.** 2ª ed. São Paulo: Livraria Varela; 2001.
- 38. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC** n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre Padrões de qualidade microbiológica de alimentos para o grupo de farinhas, massas alimentícias, produtos para panificação e similares; subgrupo amidos, farinhas, féculas e fubá, em pó ou flocados. [acesso em 2012 nov 12]. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/>.
- 39. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam LB, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **J Med Plant Res**. 1982; (45):31-4.
- 40. Mclaughlin J L, Chang CJ, Smith DL. **Studies in natural products chemistry**. Amsterdam: Atta-ur-Rahman, Elsevier Science Publishers B. V. 1991;9:383-409.
- 41. Origin[®] for Windows, version 7.0, USA: **OriginLab Corporation**, 2002.
- 42. Pinheiro ES, Costa JMC, Clemente E, Machado PHS, Maia GA. Estabilidade físico-química e mineral do suco de uva obtido por extração a vapor. **Rev Cienc Agron**. 2009 jul-set; 40(3):373-380.
- 43. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC n° 263, de 22 de setembro de 2005.** Aprova o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. [acesso em 2012 nov 12]. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/>.
- 44. Abud AKS, Narain N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Braz J Food Technol**. 2009; 12(4):257-265.
- 45. Rizzon LA, Miele A. Concentração de ácido tartárico dos vinhos da serra gaúcha. **Ciência Rural**. 2001; 31(5):893-895.
- 46. Bampi M, Bicudo, MOP, Fontoura PSG, Ribani RF. Composição centesimal do fruto, extrato concentrado e da farinha da uva-do-japão. **Ciência Rural**. 2010; 40(11):2361-2367.

- 47. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos TACO**. Versão II. 2.ed. Campinas: UNICAMP. 2006. [acesso em 2012 oct 23]. Disponível em: http://unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>.
- 48. Rockenbach II, Rodrigues E, Gonzaga LV, Fett R. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.). **Braz. J. Food Technol**. 2010 nov; IIISSA.
- 49. Valiente C. Grape pomace as a potencial food fiber. **Journal of Food Science**. 1995; 60(4):818-820.
- 50. Llobera A, Can ellas J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera): pomace and stem. **Food Chemistry**. 2007; (101): 659–666.
- 51. Bravo L, Saura-Calixto F. Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. **American Journal of Enology and Viticulture**. 1998; (49):135–141.
- 52. Souza AV, Gomes GP, Vieira MRS, Vieites RL, Lima GPP. Avaliação de antioxidantes em casca de *vitis* sp. **Revista Alimentus**. 2012; 2(2):10-19.
- 53. Sousa MSB, Vieira LM, Silva MJM, Lima A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciênc Agrotec**. 2011; 35(3):554-559.
- 54. Bridle P, Timberlake CF. Anthocyanins as natural food colours selected aspects. **Food Chemistry**. 1997; 58(12):103-109.
- 55. Rockenbach II, Gonzaga LV, RizelioVM, Gonçalves AESS, Genovese MI, Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitis vinifera and Vitis labrusca) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**. 2011; (44): 897–901.
- 56. Kato CG, Tonhi CD, Clemente E. Antocianinas de uvas (*Vitis vinífera L.*) produzidas em sistema convencional. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. 2012; 6(2):809-821.
- 57. Mildner-Szkudlarz S, Bajerska J, Zawirska-Wojtasiaka R, G'oreckac D. White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. **J Sci Food Agric.** 2013; (93): 389–395
- 58. Marlett JA, McBurney MI and Slavin JL, Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. **J AmDiet Assoc.** 2002; (102):993–1000.
- 59. Stampanoni KChR. Basic flavour descriptive language. *Przem Spo'z*. 1998; (4):36–39.
- 60. Schneeman BO, Soluble vs. insoluble fiber different physiological responses. **Food Technol**. 1987; (47):81–82.
- 61. P'erez-Jim'enez J, Serrano J, Tabernero M, Arranz S, D'iaz-Rubio ME, Garc'ia-Diz L, et al, Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. **Nutrition**. 2008; (24):646–653.
- 62. US National Academy of Sciences (USA). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001). Washington DC: National Academy Press, 2001. (A report on the antioxidants and related compounds. Subcommittees on Upper Reference Intake Levels of Nutrients and Interpretation of Uses of Dietary Reference Intakes and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board).
- 63. Rizzon LA, Miele A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciênc Tecnol Aliment**. 2012 jan-mar; 32(1): 93-97.

- 64. Rotava R, Zanella I, Silva LPda, Manfron MP, Ceron CS, Alves SH, Karkow AK, Santos JPA. Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. Ciência Rural. 2009; 39(3):941-944.
- 65. Nascimento JE, Melo AFM, Lima e Silva TC, Veras Filho, J, Santos EM, Albuquerque UP, Amorim ELC. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Rev Ciênc Farm Apl Básica.** 2008; 29(2):145-50.

CAPÍTULO 4

Phenolic compounds, antioxidant activity and lipide profile of red grape pomace cv. Benitaka (Vitis vinifera L.) grown in Northeast of Brazil.

Artigo submetido à publicação conforme as Normas do periódico: Journal of Agricultural and Food Chemistry

Phenolic compounds, antioxidant activity and lipide profile of red grape pomace cv. Benitaka (*Vitis vinifera* L.) grown in Northeast of Brazil.

Eldina Castro Sousa^{a,b,c}*, Ana Maria Athayde Uchôa-Thomaz^{a,b,c}, José Osvaldo Beserra Carioca^{a,d}, Selene Maia de Morais^{a,b}, Alessandro de Lima^c, Ícaro Gusmão Pinto Vieira^{b,d}, Hilton César Rodrigues Magalhães^e, Cristiane Duarte Alexandrino^b, Luzara de Matos Ribeiro^b, Clécio Galvão Martins^b, Pablito Augusto Travassos Ferreira^b, Ana Livya Moreira Rodrigues^b, Suliane Praciano Rodrigues^b, Halisson Araújo de Sousa^b

ABSTRACT

Phenolic compounds, related to antioxidative properties of extracts from grape pomace grown in Northeast of Brazil were determined. A lipide profile and total antociannins of grape pomace powder were determined. A reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) procedure was developed, and resveratrol, quercetin, isoquercitrin and rutin were identified. Total phenolic, total flavonoids and total tannins contents of the extracts were determined. Antioxidant activities of the extracts were evaluated by using DPPH radical scavenging and Autoxidation system β-carotene/linoleic acid methods. The evaluation of oxidative stability was evaluated by Rancimat method. All extracts exhibited antioxidant activity. Phenolic compounds and antioxidant activities of the extracts were varied depending on the extraction solvent. Extracts from grape pomace efficiently protected the oxidation of emulsified linoleic acid, with an averages IC₅₀ of 0.34 µg/mL to 0.36 µg/mL; being similar to the synthetic antioxidant BHT. The most abundant phenolic compound was isoquercitrin (12.94 mg/100g), followed by rutin (7.54 mg/100g), quercetin (5.4 mg/100g) and resveratrol (2.5 mg/100g). The lipid fraction of grape pomace was composed mainly by linoleic acid. The content of anthocyanins (131mg/100g) was similar to results reported by other authors. This paper describes for the first time a characterisation of the phenolic compounds, antioxidant activity and lipide profile in grape pomace from Northeast of Brazil. These preliminary results provides the basis for further evaluation of the suitability of this red grape pomace extract as natural inhibitor with potential health benefits and shows that residues of grapes grown in this region have comparable results with the international literature, establishing itself as a new area for exploration and research.

KEYWORDS: Grape pomace. Polyphenols. Spectrophotometry and HPLC analysis. Oxidative stability index. Anthocyanins. Resveratrol.

^aNortheast Biotechnology Network. Doctoral in Biotechnology. Federal University of Ceará, Av. do Contorno, P. O. Box 12200, 60440-593, Fortaleza, CE, Brazil.

^b Department of Chemistry, Laboratory of Chemistry of Natural Products, State University of Ceará, Campus Itaperi. Av. Paranjana, 1700, P. O. Box 60714-903, Fortaleza, CE, Brazil.

^c Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí. Laboratory of Food Analysis. Teresina South Campus Area. Av. Pedro Freitas, 1020, P. O. Box 64000-040, Teresina, PI, Brazil.

^dTechnological Development Park, Federal University of Ceará, Campus Pici, P. O. Box 2977, CP 12200, 60451–970, Fortaleza, CE, Brazil.

^e Embrapa Tropical Agribusiness. Laboratory of Food Analysis. Av. Dr^a. Sara Mesquita, 2270, Pici, P. O. Box 60511-110, Fortaleza, CE, Brazil.

INTRODUCTION

Vitis vinifera L. production has expanded worldwide; with production of over 69 million tonnes Brazil occupies the 20th position in world production of grapes. In relation to domestic production, the South, Southeast and Northeast regions are the highest in cultivation and production (FAOSTAT, 2010). The area planted in the Northeast jumped from 3,028 hectares in 1996 to 6,724 hectares in 2006. This represented an increase of 122.1% in the period between censuses. This increase, in percentage terms, was higher than the national rate, which fluctuated only 12.6% in the same period (IBGE, 2006; AGROSTAT, 2011).

The Northeast of Brazil is characterized by semi-arid and sub-humid dry climate, with low rainfall and relative humidity, and high and intense solar radiation (Andrade Jr. *et al.*, 2005). Under these conditions, the phytosanitary problems tend to be smaller and have a better quality of the fruit, which is essential for the expression of the productive potential of the grape. Thus, this region is considered privileged because of grape production throughout the year and thus can be economically competitive compared to other areas of production (Costacurta & Roselli, 1980; Coombe, 1987).

Along with this intense production, there is a huge generation of residues (Tangolar, Ozogul & Tangolar, 2009; Cetin, Altinoz, Tarc an & Baydar, 2011; Deng, Penner & Zhao, 2011; Lachman et al. 2013). According to a study conducted in 2011 by the Ministry of Environment of Brazil, the production of residues grape in Brazil was 290.838.411 tons (BRAZIL, 2011).

Grape residue is a by-product product of grape juice and wine industry such as stalks, pomace (a mixture of grape skin and seeds) and the liquid filtrate. Depending on the conditions of the grapes at harvest, the residues may represent from 13.5 to 14.5% of the total volume of grapes, and may reach 20% (Bail *et al.*, 2008; Sagdic *et al.* 2011; Cheng *et al.* 2012).

Grape pomace constituents have been shown to have health-functional activities for their content of high valuable polyphenols, fatty acid composition and antioxidant potential, and therefore, their capacity to prevent oxidation of biological substrates which are can positively influence risk factors associated with cardiovascular health, cancer, diabetes, inflammation, neurodegenerative disease, and age-related cognitive decline (Bail et al., 2008; Santos et al. 2011; Chouchouli et al. 2013; Lachman et al. 2013; Miao et al. 2014; Lecce et al. 2014; Ramirez-lopez et al. 2014).

Phenolic compounds are plant secondary metabolites and the main antioxidant compounds in grapes and grape by-products, can be divided into phenolic acids and related compounds and flavonoids (Rebello et al. 2013; Ramirez-Lopez et al. 2014). The antioxidant activities of phenolic compounds are attributed to their free radical scavenging, hydrogen donation, singlet oxygen quenching, metal-ion chelation or as substrates for attack by superoxide, as well as their effects on cell signaling pathways and on gene expression (Yilmaz & Toledo, 2006; Rebello et al. 2013; Ramirez-Lopez et al. 2014). Phenolic antioxidants function primarily as terminators of the free radical reactions, depending on their activity with respect to the ability to interfere with the chain propagation reactions by rapid donation of a hydrogen atom to lipid radicals. Alternative mechanisms only become important at very low oxygen pressures, very low rates of chain initiation or very high concentrations of antioxidant (Rebello et al. 2013).

Previous studies demonstrated that the major phenolic compounds in grape wastes are anthocyanins, catechins, glycosides of flavonols, flavanols and phenolic acids (Rebello et al. 2013). The quantitative and qualitative distribution of polyphenols in grape pomace depends on the variety of grape and is influenced by climatic and geographical factors, cultural

practices, and the stage of ripeness (Meng et al. 2012; Katalinic et al. 2010; Rebello et al. 2013; Ramirez-lopez et al. 2014).

There is a large body of scientific literature reporting reports on the phenolic content and antioxidant potential of bioactive compounds extracted from grape residues (Lafka et al., 2007; Makris et al., 2007; Yilmaz& Toledo, 2006; Cheng et al. 2012; Baydar et al 2007; Katalinic et al. 2010; Meng et al. 2012; Ayala-zavala et al. 2011; Rebello et al. 2013; Ramirez-lopez et al. 2014).

The phenolic composition and antioxidant activity of grapes and by-products has been extensively studied by different spectrophotometric methods, as DPPH, ABTS, Autoxidation system β -carotene/linoleic acid and by high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with ultraviolet (UV) or diode array (DAD) detectors. It is recommended that at least two (or even all) of these assays be combined to provide a reliable picture of the total antioxidant capacity of a plant extract (Perestrelo et al. 2012; Baydar et al., 2007; Katalinic et al. 2010; Lafka et al. 2007; Meng et al. 2012; Ayala-zavala et al. 2011; Rebello et al. 2013; Fernandes et al 2013; Ramirez-lopez et al. 2014).

So, grape wastes can be used for extraction of polyphenols for use as food lipid antioxidants in order to prevent the formation of off-flavour and toxic compounds resulting from lipid oxidation. Furthermore, the use of these wastes in feed or food supplements can contribute to lower production costs and to creating new feedmixtures and sources to improve the nutritive value of the animal or human nutrition (Lachman et al. 2013; Miao et al. 2014; Santos et al. 2011; Fernandes et al., 2013; Lecce et al. 2014).

Therefore, different grape varieties should be analyzed to differentiate them in relation to their chemical composition and antioxidant activities. In particular Benitaka cultivar of the this semi-arid region of Brazil, as far as we know, that does not yet have any published literature reporting these properties. The aim of this research was to determine the phenolic composition, fatty acid profile and antioxidant activity of grape pomace from Benitaka cultivar (*Vitis vinifera* L.) from Northeast of Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Equipament, chemicals and reagents

All spectrophotometric readings were realized in spectrophotometer UV–Vis (Thermo Electron Corporation Biomate 5, Korneuburg, Austria). HPLC was performed using a LC-20A system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipped with LC-20DA pump, manual injector with a fixed volume of 20 μL, Hypersil gold dim (250x4,6) mm column oven set at 30°C, running LC Solution software with UV–Vis detector model SPD-20A. CG/MS was performed using a gas chromatograph with a flame ionization detector (CGDIC) (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan, Model GC2010). Oxidative stability was performed using equipment Rancimat (Metrohm 873, Herisan, Switzerland). Methanol, ethanol, acetone and ether were analytical reagent grade and purchased from Vetec fine Chemical Ltda. (Xerém, RJ, Brazil). Folin-Ciocalteau phenol reagent, free radicals 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2'azinobis-(3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{*+}) and Trolox® standard were purchased from Sigma Chemical Co. (Sigma–Aldrich Company Ltd., Great Britain). All other chemicals used were of analytical grade.

Grape collection

Samples of grape (*Vitis vinifera* L.) of the variety Benitaka, were collected by the authors directly from the experimental vineyard (Viticulture Marrecas) situated in the municipality of São João do Piauí, Piauí state, northeastern Brazil (latitude 08 ° 21'29 "S,

longitude 42°14'48" W and altitude of 244 meters, with predominantly semiarid climate type, with annual temperatures ranging from 25.7°C to 29.2°C). The samples were obtained from the first harvest of the 2011/2012 season. After harvesting, the grapes were transported immediately in cool boxes to the laboratory and were stored under refrigeration (*ca.* 2-5°C) until analysis.

Sample preparation and extraction

Pomace preparation

The grapes were weighed, cleaned and then pressed into a depulper industrial where occurred the separation of pomace (skins and seeds) and pulp for the extraction of grape juice. Grape pomace were stored at -20°C until analysis.

To determine the fatty acid composition and total anthocyanins.

The pomace was dried in an oven with air circulation (Tecnal, TE-394 /L) at 60 °C for a approximately 16h (IAL, 2008). The dried residue was triturated in a blender domestic (Walita, Brazil) and obtained a powder. After dehydration, the residue was triturated in a mixer and then sieved to obtain a powder with a particle size ranging from 0.42 mm to 0.60 mm diameter. The powder was stored in polyethylene bottles and refrigerated until the time of analysis.

To determine the total phenolic content (TPC), total flavonoids content (TFOC), total tannins content (TTC), antioxidant activity, oxidative stability index (OSI) and quantification of phenolic compounds.

Preparation of extracts

With the powder grape pomace, extraction was performed using different solvents by the technique of extraction in a Soxhlet apparatus as described by the Adolfo Lutz Institute (BRAZIL, 2008). For the extraction, were used solvents, hexane (non-polar), ethanol, acetone and methanol (polar) in order to obtain a soluble extract in water without interference. The extraction was followed by 6h at 60°C. The extracted material was concentrated under vacuum on a rotary evaporator (Fisatom, 801) at a temperature of 50 °C, 60 rpm. After the process, the extracts were subjected to thermostatic bath at a temperature of 60 °C until no trace of solvent.

Fatty acid composition (GC/MS analysis)

The lipid fraction was initially subjected to esterification of fatty acids, where they were have been converted to fatty acid methyl esters (FAMEs) by the method described by Hartman and Lago (1973). The analysis of FAMEs was performed in a apparatus of gas chromatograph with a flame ionization detector (CGDIC), with capillary column SP2560 of stationary phase biscianopropil polydimethylsiloxane (100 m × 0.25mm, df 0:20 m; Supelco Bellefonte , PA). The injection mode used was of the flow division (1:50) and hydrogen carrier gas with constant flow of 1.5 mL.min⁻¹. The temperatures of the injector and detector were 220°C each. The programming the oven chromatographic was accomplished as follows: initial column temperature 80°C, rising with a heating ramp of 11°C min⁻¹ to 180°C and rising up on a ramp of 5°C min⁻¹ to 220°C, keeping it for 19 minutes. The identification of the peaks in the chromatogram was performed by comparison of their retention indices with those of known compounds of a fatty acid standard solution previously injected following the same methodology. The contribution of each compound in the mixture is given by the relative area (%) of its respective peak in the chromatogram.

Total anthocyanins

The determination of anthocyanins was performed according to the method of Francis (1982). For extraction, 1g of homogenized pomace dehydrated in a solution of HCl (1.5 N) and ethanol 85%. After a period of 24 hours under refrigeration and absence of light, the extracts were filtered (Whatman no 1 filter paper) and then, the absorbance was measured at 535nm. The content of anthocyanins was calculated using Eq.(1) and absorption coefficients of 98.2. The results were expressed as mg of anthocyanins /100g dry basis (d.b).

coefficient for anthocyanins.

Total extract yield

To determine the total yield of each extract, the Eq. (2) was used and the results were expressed in percentage, as described by Pansera et al. (2003).

Total phenolics content (TPC)

Total phenolic content (TPC) was determined by the Folin-Ciocalteau colorimetric method (Singleton and Rossi, 1965). Briefly, the grape extracts were mixed with Folin Ciocalteu reagent, and sodium carbonate solution (15%) was added. The mixture was allowed to react at room temperature in the dark for 120 min, and then, the absorbance was measured at 715 nm. The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of extract (mg GAE/g).

Total flavonoids content (TFOC)

The total flavonoid content (TFOC) was determined by reacting aluminum chloride, using the spectrophotometric method (Ferro and Funari, 2006). The TFOC was calculated from the curve standard of quercetin and all readings of each solution were realized at 425 nm. The results were expressed as milligrams of quercetin equivalents per gram of extract (mg EQ/g).

Total tannins content (TTC)

The total tannins content (TTC) was determined by the Folin-Dennis colorimetric method (Siegler et al., 1986). The TTC was calculated from the curve standard of tanic acid and all readings of each solution were realized at 725 nm. The results were expressed as milligrams of tannic acid equivalents per gram of extract (mg EAT/g).

Antioxidant activity

DPPH' scavenging activity

The test was realized according to the method described by Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995) and modified by Rufino et al. (2007). Initially, 0.1 mL of sample methanolic solution (100 ppm, 1 mg/10 mL) was added to a test tube containing 3.9mL of 6.5×10^{-5} M DPPH methanolic solution. The extracts were tested at concentrations of 10.000, 5.000, 1.000, 500, 100, 50 and 10 ppm. After the interval of 60 minutes, the absorbance was measured at 515 nm. To calculate the inhibitory potential (IP) to inhibit DPPH in percentage terms, we used the Eq. (3).

$$IP (\%) = \left(\frac{A_{DPPH} - A_{Sample}}{A_{DPPH}}\right) \times 100$$
(3)

where A $_{DPPH}$ = absorbance of the DPPH solution and A $_{Sample}$ = absorbance of the solution when the extract was added at a particular concentration.

The test was performed in triplicate, and the results were considered positive if the absorbance decreased with time. The IP (%) was applied in the Origin 7.0 statistic program to calculate the 50% inhibitory concentration (IC₅₀). For comparison the sequestration capacity of DPPH radical of quercetin and the synthetic antioxidant BHT at the same concentration of the extracts was determined.

Autoxidation system β-carotene/linoleic acid

This determination was performed by the method developed by Wettasinghe and Shahidi (1999). Initially, was added 2 mL of a solution of β -carotene (0.2 mg / ml chloroform) in a round bottom flask containing 20 μL of linoleic acid and 200 μL of Tween 40. Then, the mixture was evaporated on rotaevaporator to 40°C for 10 minutes to remove the chloroform. After evaporation, the mixture was added 100 mL of distilled water saturated with oxygen (oxygen for 30 minutes), which was stirred to form the emulsion. Concentrations of 500, 250, 100, 50 and 25 ppm of sample in methanol were prepared in test tubes and 0.2 mL aliquots were added to 5 mL of β -carotene / linoleic acid. A solution of free β -carotene was prepared under the same conditions for each concentration (control). All mixtures were incubated at 50°C for 2 h. Reading was performed at 470 nm. To make the comparison, the synthetic antioxidant BHT was used in the same concentrations and conditions. The absorbance of the sample was measured immediately and antioxidant activity was calculated using the Eq. (4).

$$AA (\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_t}{A_0^{\circ} - A_t^{\circ}}\right)_X 100 \tag{4}$$

where AA is antioxidant activity, A_0 and A_0° are the absorbance values measured at initial time of the incubation for samples and control, respectively, while A_t° and A^t are the absorbance values measured in the samples or standards and control at t=120 min.

The inhibitory potential (%) was applied in the Origin 7.0 statistic program to calculate the 50% inhibitory concentration (IC $_{50}$). BHT at the same concentration of the extracts was used for comparison.

Evaluation of oxidative stability (Rancimat method)

The oxidative stability index (OSI) was performed at Reference Laboratory in Biofuels of the Core Foundation for Industrial Technology of Ceará (LARBIO). A sample of refined soybean oil, without adding antioxidants, has been provided by the company Central Cooperative of the Cotton Growers and Foods Ltda. (COCENTRAL), located in the city of Fortaleza, Ceará, Brazil. The analyses followed the methodology in accordance with European Standard EN 14112 (2003), using the equipment Rancimat.

Initially, three grams of refined soybean oil were mixed with extracts acetone, ethanol and methanol flour obtained from grape pomace in the concentration of 100ppm. Then the mixture was subjected to a temperature of 110°C under constant air flow 10L/h. The curve of conductivity electrical versus time was recorded automatically during the reaction and the test, in which the induction period (IP) was determined in hours. A control prepared with soybean oil samples, without antioxidant, and sample containing synthetic antioxidant BHT in the concentration of 100 ppm were chosen as a comparative standard.

HPLC-UV analysis

For resveratrol quantification, briefly, the mobile phase consisted of water acidified to pH 2.8 using phosphoric acid (H_3PO_4) (Solution A) and acetonitrile (solution B) in a ratio of 70A:30B, isocratic with a flow rate of 1.5 ml/min, with an injection volume of 20 μ L, UV detection at 306 nm, and a total run time of 10 min per sample at 30°C.

For quercetin quantification, the mobile phase consisted of water acidified to pH 2.8 using phosphoric acid (H_3PO_4) (Solution A) and acetonitrile (solution B) in a ratio of 80A:20B, isocratic with a flow rate of 1.25 ml/min, with an injection volume of 20 μ L UV detection at 350 nm, and a total run time of 20 min per sample at 30°C.

For rutin quantification, the mobile phase consisted of water acidified to pH 2.8 using phosphoric acid (H_3PO_4) (Solution A) and acetonitrile (solution B) in a ratio of 80A:20B, isocratic with a flow rate of 1.25 ml/min, with an injection volume of 20 μ L, UV detection at 350 nm, and a total run time of 15 min per sample at 30°C. The quantification of isoquercitrin followed the same parameters for rutin. The methods were described by Silva et al. (2014). The parameters obtained in the validation of the methods are shown on Table 1.

Table 1. Method validation for the chromatographic analysis of rutin, resveratrol, and quercetin in grape pomace (*Vitis vinifera* L.).

Parameter	Rutin	Resveratrol	Quercetin
Limit of detection	1.10 ⁻⁹	1.10^{-8}	1.10^{-7}
(g/mL)			
Limit of quantification			
(g/mL)	1.10^{-8}	1.10^{-7}	1.10^{-6}
Linearity ^a	$y = 2 \times 10^7 x +$	$y = 3 \times 10^7 x +$	$y = 3 \times 10^7 x +$
	90905	517910	133734
Correlation coeficiente	0,9999	0,9999	0,9769
(R ²)			
Retention time (min)	5,7	5,9	16,8

 $[\]overline{a}$ x is the concentration in μ g/mL and y is the peak area at designated UV wavelength.

Statistical analysis

Results were reported as means and standard deviation (n = 3). Analysis of variance and and Tukey's test were conducted to determine the differences among means, using SAS® 'Statistical Analytical Systems' (SAS, 2008) for Windows. Statistical significance was declared at p < 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Fatty acid composition

Table 2 shows the fatty acid contents of grape pomace extracted in the present work. The lipid fraction of grape pomace was composed mainly by linoleic acid (C18:2) (59.05% ± 0.08), followed by oleic acid (C18:1), palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0) and lauric acid (C12:0). In addition to these main fatty acids, others were also identified and quantified, namely: myristic (C14:0), arachidic (C20:0), alfa-linolenic (C18:3), decanoic (C10:0), behenic (C22:0), gondoic (C20:1), octanoic (C8:0), heptadecanoic (C17:0) and palmitoleic (C16:1).

Table 2: Fatty acid profiles of grape pomace (Vitis vinifera L.) flour.

Table 2: Fatty acid profiles of grape pomace (<i>vitis vinifera</i> L.) flour.		
Fatty acid	%	
Linoleic (C18:2) (n-6)	59.05 ± 0.08	
Oleic (C18:1)	21.14 ± 0.06	
Palmitic (C16:0)	8.28 ± 0.02	
Stearic (C18:0)	4.81 ± 0.04	
Lauric (C12:0)	2.68 ± 0.06	
Myristic (C14:0)	1.30 ± 0.02	
Arachidic (C20:0)	0.61 ± 0.02	
Linolenic (C18:3) (n-3)	0.56 ± 0.01	
Decanoic (C10:0)	0.26 ± 0.01	
Behenic (C22:0)	0.24 ± 0.01	
Gondoic (C20:1)	0.17 ± 0.01	
Octanoic (C8:0)	0.17 ± 0.17	
Heptadecanoic (C17:0)	0.11 ± 0.01	
Palmitoleic (C16:1)	0.06 ± 0.01	
Σ SFA	18.46	
Σ MUFA	21.37	
Σ PUFA	59.61	
Σ unsaturated	80.98	
PUFA/SFA	3.23	
Unindentified	0.56 ± 0.058	

The results are expressed as mean \pm standard derivation for analysis in three replicates. PUFA=polyunsaturated fatty acid, MUFA=monounsaturated fatty acid, SFA=saturated fatty acid, n-6=omega 6 fatty acid, n-3=omega 3 fatty acid.

The results were similar to those reported by other authors that referred linoleic acid as themost abundant fatty acid in grape pomace. Fernandes et al. (2013) obtained values for linoleic acid between 63 and 73.1% for seeds of ten varieties of grapes grown in the northeast of Portugal. Lutterodt et al. (2011) obtained values for linoleic acid of 66.0% (Ruby red), 68.6% (Chardonay), 70.2% (Muscadine) and 75.3% (Concord). Santos et al. (2011) found

66.62% for linoleic acid in Benitaka variety grown in São Paulo, Brazil. Ahmadi and Siahsar (2011) between 62.85% (Bonjnordi) and 66.4% (Fakhri). Rockenbach et al. (2010) between 47.63% (Cabernet Sauvignon) and 60.02% (Merlot) and Tangolar et al. (2009) between 62.5% (Alicante Bouschet) and 69.24% (Muscat). Linoleic acid is associated with promotion of cardiovascular health once regulates the low-density lipoprotein (LDL)-C metabolism by down regulating LDL-C production and enhancing its clearance (Lutterodt et al. 2011; Fernandes et al. 2013). In relation to general classification of the fatty acids (Table 2), it was found that the grape pomace had the following sequence: PUFA (89.61%) >MUFA (21.37%) >SFA (18.46%), which is in agreementwith other studies (Tangolar et al. 2009; Rockenbach et al. 2010; Lutterodt et al., 2011; Fernandes et al. 2013). Santos et al. (2011) also reported this sequence (PUFA> MUFA> SFA) in grape seed of Benitaka variety.

The PUFA/SFA ratio in this work (3.23) was considered above the minimum recommended by HMSO (1994), which is equal to 0.45. This value was higher than that found by Santos et al. (2011) in the peel (1.15) of grape variety Benitaka and lower than that found in the seeds (7.26) of the same variety. Fernandes et al. (2013) related PUFA/SFA ratio between 4.26 (Tinta Barroca) and 6.22 (Aragonês).

The average content of unsaturated fatty acids (MUFA+PUFA) was 80.98%. High levels of unsaturation represents an important role in lowering high blood cholesterol and also in the treatment of atherosclerosis. Furthermore, poly-unsaturated fatty acids, such as linoleic and linolenic acids, are essential for the human body because they cannot be synthesized in the body (Tangolar et al. 2009; Rockenbach et al. 2010; Ahmadi and Siahsar, 2011). For Fernandes et al. (2013) the high proportion of unsaturated fatty acids are highly recommended for human consumption, presenting a favorable fatty acid profile as other vegetable oils (saffron, sunflower, soybean, corn and seed cotton).

Total anthocyanins

Regarding the content of anthocyanins, the grape pomace presented 131mg/100g. The results were similar to results reported by other authors. Valduga et al. (2008) found values between 44 to 274 mg/100g in grape pomace of Isabel variety. Vanini et al. (2009) obtained values between 27.5 to 366 mg/100g in grape extracts from Benitaka variety grown in Paraná, Brazil; valor esse semelhante ao relatado por Kato, Tonhi and Clemente (2012) para uva da variedade Bordô 203.7mg/100g). Anthocyanin pigments are contained in the skin and their levels may vary from 30 to 750 mg/100g fruit (Bridle and Timberlake,1997), confirming the values found in this study. Higher values were also reported by other authors. Iacopini et al. (2008) obtained values between 20082 to 2852mg/100g for grape skin (Cabernet Sauvignon). Rockenbach et al. (2008) found value of up to 770 mg/100 g in grape bagasse extracts of Ancelota variety grown in Santa Catarina, Brazil. According to Kato, Tonhi and Clemente (2012), levels of anthocyanins of grapes is conditioned not only analyzed the portion of the fruit but can also be influenced by factors such as cultivar, cultivation method, climatic aspects, physical-chemical factors such as pH and temperature.

Total extract yield

For the extraction of phenolic compounds, soxhlet extraction is one of the most popular techniques for removing unwanted non-phenolic substances such as waxes, fats, terpenes and phenols chlorophyll and thus isolate non-flavonoid/flavonoid from solid samples. Polar solvents are widely used for this extraction (Ramirez-Lopez et al. 2014).

The extraction yield varied from 6.85% to 45.5% depending on the extraction solvent. Lower yield was found in pomace extracted with acetone compared with ethanol

(15.3%) and methanol (45.5%). These results can be confirmed by Cheng et al. (2012), which reported higher yield of extract Meth/w (53%) of grape pomace for two varieties to New Zealand, however, the extract Ace/w had the highest yield (50.7%) compared to extract Eth/w (37.7%). The presence of water increases the permeability of cell tissue and thus enables better mass transfer by molecular diffusion (Jayaprakasha, Singh and Sakariah, 2001) as well as recovering water soluble bioactive compounds.

Sagdic et al. (2011) reported lower yield for the ethanol extract in grape pomace vitis vinifera L. in 5 different varieties cultivated in Turkey (1.14% to 4.58%).

According to the authors, the affinity of methanol and acetone toward the solubilisation of materials from skin and pomace may be related to the dielectric constant [methanol (33) > ethanol (24.3) > acetone (20.7)] and the dipole moment [acetone (2.88) > methanol (1.70) and ethanol (1.69)] of the solvents. Furthermore, the content of soluble sugars remaining can influence in total extract yield. According to George et al. (2009), the quantity of extracted matter may be influenced by the composition of the substrate and extraction technique.

Total phenolic (TFC), total flavonoids (TFOC) and total tannins (TTC) content

Table 3 shows the TFC, TFOC and TTC in the present work.

Regarding to Cheng et al. (2012), phenolic extracts contain complex mixtures of different classes of phenolics, which are selectively soluble in the extraction solvents. Conventional solvent extractions such as acetone, ethanol and methanol has been suggested that these are the best solvents for the extraction of polyphenols from plant materials and their efficiencies vary according to the solvent used (Iacopini et al. 2008).

Furthermore, phenolic compounds is dependent to the chemical nature (simple and complex phenolics), sample size, extraction method (solvent, supercritical and solid-phase extractions), storage time and conditions, as well as the presence of interfering substances (Babbar et al., 2011; Cheng et al., 2012).

According to Babbar et al. (2011), the bioactivity of phenolics may be related to their ability to chelate metals, inhibit lipoxygenase and scavenge free radicals In our study, were used three solvents and the results should be considered in relation to this important aspect. The TPC was as follows: Ace > Meth > Eth (Table 3) and changed significantly according to the extracts (P<0.05). According to Sagdic et al. (2011), these differences in total phenolic contents might be due to the difference between the extraction methods; in fact, phenolic content of grape pomace extracts are expected to strongly depend on extraction conditions as well as the solvent used.

This results are comparable to the findings of previous studies, which reported that the TPC of some extracts of grape residues ranges from 43.53 to 70.73 mgGAE/g in methanolic extraxt, 52.30 to 71.73 mgGAE/g in ethanolic extract and 53.34 to 78.52 mgGAE/g in acetonic extract (Rockenbach et al. 2007); 13.2 to 69 mgGAE/g and 14.8 to 79.5 mgGAE/g for Tannat and Ancelota varieties, respectively (Rockenbach et al. 2008); 0.64 to 3.52 mgGAE/g for grape seeds and 8.25 to 33.13 mgGAE/g for grape skin (Anastasiadi et al. 2010); 12.11 to 41.21 mgGAE/g in skins of grape grown to China (Xu et al. 2010); 5.93 mgGAE/g (Muscadine) to 89.6 mgGAE/g (Chardonnay) (Lutterodt et al. 2011). Recent studies showed that the range of TPC in wine grape pomace was 67.74 mgGAE/g (Tseng and Zhao, 2013) and 0.04 mgGAE/g, 1.43 mgGAE/g and 89.83 mgGAE/g for pulp, skin and seed in different extracts of grape (Benitaka) from São Paulo, Brazil (Santos et al. 2011).

Lower values were reported by others authors as 1.09 mgGAE/g (Cordec 13) to 4.2 mgGAE/g (Pinot gris) in acetonic extract of grape pomace from Santa Catarina, Brazil (Cataneo et al. 2008); 16.57 to 20.94 mgGAE/g in ethanolic extract of white and red grape

pomace, respectively, from Bento Gonçalves, Brazil (Melo et al. 2011) and 3.5 to 7.7 mgGAE/g for white grape skin (Sercial) (Perestrelo et al. 2012).

TPC is a screening approach to estimate the total content of phenolics, however, as it does not give any detailed information about phenolic fraction, therefore, the phenolic profile was established by HPLC-UV-visible.

Table 3: Total phenolic, total flavonoids and total tannins content of grape pomace (Vitis vinifera L.) extracts.

Extracts	Total phenolic	Total flavonoids	Total tannins
	(mgGAE/g)	(mgEQ/g)	(mgEAT/g)
Methanolic	40.29 ± 1.93^{b}	$0.97 \pm 0.07^{\mathrm{b}}$	34.54±0.01 ^b
Ethanolic	35.35 ± 0.48^{c}	1.11 ± 0.1^{b}	26.26 ± 1.9^{c}
Acetonic	55.21 ± 0.71^{a}	1.75 ± 0.08^{a}	48.04 ± 2.6^{a}

The results are expressed as mean \pm standard derivation for analysis in three replicates. Means followed by different letters in the same column are significantly different by Tukey's test at 5% (p<0.05). GAE = Gallic acid equivalent. EQ = Quercetin equivalent. EAT = Tannic acid equivalent.

Regarding the content of total flavonoids, the acetone extract showed higher value than the others (1.75 mgEQ/g) (p <0.05), followed by the ethanol extract (1.11mgEQ/g) and methanol (0.97 mgEQ/g) (Table 3). This value was lower than that found by Xu et al. (2010) which reported values expressed as mgEQ/g of extract between 6.46 to 31.84 for grape skin and 9.11 to 95.8 for grape seeds.

The greatest total tannins content was detected in acetonic extract (48.04 mgEAT/g) while the ethanolic extract had the lowest value (26.26 mgEAT/g) (Table 3) and this results changed significantly (p<0.05). Pansera et al. (2003) found values between 10 to 59 mgEAT/g for methanolic extracts of aromatic and medicinal plants.

According to Monteiro et al. (2005), the Folin-Denis method is well recognized and widely used, but does not distinguish between phenolic compounds and other reducing materials or antioxidants, such as ascorbic acid, forming precipitates that can interfere with spectrophotometric reading.

Antioxidant activity

The antioxidant activity of a plant extract depends on the type and polarity of the solvent and the purity of active compounds as well as the test system used to evaluate the activity (Cheng et al. 2012).

The antioxidant activity by DPPH and autoxidation system β -carotene/linoleic acid of extracts of grape pomace were represented in Table 4.

Table 4: Antioxidant activity by DPPH, autoxidation system β -carotene/linoleic acid and oxidative stability index in extracts from grape pomace (Vitis vinifera L.) extracts.

Samples	DPPH	β-carotene/linoleic	OSI
	$(IC_{50}, \mu g/mL)$	acid	IP (h)
		$(IC_{50}, \mu g/mL)$	
Ethanolic	0.31 ± 0.08^{b}	0.34 ± 0.02^{a}	6.09 ± 0.09^{a}
Acetonic	0.39 ± 0.06^{b}	0.35 ± 0.01^{a}	5.97 ± 0.11^{b}
Methanolic	1.65 ± 0.64^{a}	0.36 ± 0.02^{a}	5.91 ± 0.11^{b}
Quercetin	0.22±0.11 ^b	-	-
BHT	0.11 ± 0.06^{b}	0.12 ± 0.13^{a}	6.44 ± 0.01^{a}
Control	-	-	5.90 ± 0.02^{b}

The results are expressed as mean \pm standard derivation for analysis in three replicates. Means followed by different letters in the same column are significantly different by Tukey's test at 5% (p<0.05). IC₅₀ = concentration causing 50% inhibition. OSI = oxidative stability index in hours (accelerated oxidation carried out at 110°C with air flow rate of 10 L/h). BHT = synthetic antioxidant butylated hydroxytoluene.

The ethanolic and acetonic extracts of grape pomace interacted with the stable free radical DPPH efficiently, with an averages IC₅₀ of 0.31 μ g/mL and 0.39 μ g/mL; whereas, they did not differ statistically to values for quercetin (0.22 μ g/mL) and BHT (0.11 μ g/mL) (p>0.05). The higher concentration necessary for 50% inhibition of DPPH was obtained in methanolic extract (1.65 μ g/mL) (p<0.05) (Table 4).

The IC₅₀ values of grape residues reported by others authors ranged from 0.14 μ g/mL for Manto Hegro red grape pomace (Llobera & Canellas, 2007); 14 to 39 μ g/mL for ethanolic extract of grape pomace (Ruberto et el. 2007); 0.031 to 0.057 μ g/mL in grape skin and 0.002 to 0.006 μ g/mL in grape seed from differents varieties (Anastasiadi et al. 2010); 0.058 to 0.24 μ g/mL in different Eth/w (80:20) extracts of grape from 14 varieties (Katalinic et al. 2010); 50.92 to 226.15 μ g/mL and 9.26 to 65.88 μ g/mL in grape skin and seed, respectively from Niagara Variety; 51.61 to 234.53 μ g/mL 51.61 to 234.53 μ g/mL and 10.11 to 90.67 μ g/mL in grape skin and seed, respectively from Isabel Variety; 106.85 to 316.41and 32.12 to 120.41 μ g/mL in grape skin and seed, respectively from Brazil Variety (Santos et al. 2011);0.15 to 0.22 μ g/mL for seed extracts and 0.19 to 1.7 μ g/mL for and skin extracts (Cheng et al. 2012) In relation to Benitaka variety, Santos et al. (2011) reported IC₅₀ of 45.11 to 126.91 μ g/mL and 148.59 to >400 μ g/mL in seed and skin in different extracts of this grape grown in São Paulo, Brazil.

Differences for DPPH IC_{50} between the extracts of grape cultivars could be probably due to differences in polyphenolic content of analysed extracts. For Sagdic et al. (2011), the DPPH method, is a useful method to investigate the free radical-scavenging activities of the phenolic compounds. Antioxidants can deactivate or scavenge stable free DPPH radical by two mechanisms: by reduction via electron transfer or by hydrogen atom transfer that may occur also in parallel and steric accessibility is one of the major determinants of the reaction (Katalinic et al. 2010; Sagdic et al. 2011).

Beyound the evaluation of antioxidant activity by DPPH, an aqueous emulsion system of linoleic β -carotene/linoleic acid incubated at elevated temperature was used to evaluate the antioxidant activity of investigated extracts (Table 4). The free radicals (peroxyl radicals) formed when linoleic acid is oxidised attack β -carotene molecules that consequently undergo rapid decolorisation (Katalinic. et al. 2010). In this study extracts from grape pomace efficiently protected the oxidation of emulsified linoleic acid, with an averages IC₅₀ of 0.34 μ g/mL to 0.36 μ g/mL; being similar to the synthetic antioxidant BHT (p>0.05), which can probably be confirmed by the presence of active phenolic compounds in these extracts. Katalinic et al. (2010) related skin extracts of red varieties from Croatia with antioxidant activity coefficient averaging 86%.

Alexandrino et al. (2013), reported IC $_{50}$ of $2.1~\mu g/mL$ from seed extracts of mango In the lipid emulsions, the phenolic usually are balanced in water, emulsifier (Tween 40), micelles and lipid phase, increasing its hydrophilic property, with resulting increase in inhibition of lipid oxidation. It is possible that the phenolic compounds in the extracts analysed had reached this balance. Anthocyanins and flavonols followed by flavanols have been reported very active in the β -carotene bleaching test (Katalinic et al. 2010). In this study extracts from grape pomace efficiently protected the oxidation of emulsified linoleic acid, which was confirmed by the presence of active phenolic compounds in these extracts.

Oxidative stability index (OSI)

The induction periods of soybean oil subjected to oxidation conditions by the Rancimat method, with antioxidant or extract added or whith out antioxidant are shown in Table 4.

Ethanolic extract of grape pomace increased the induction time of soybean oil from 5.9 h to 6.09 h (p<0.05). So, this extract exerted good protection against oxidation and their relatively strong protective effect in oily systems could be attributed to amphiphilic properties of phenolic constituents. It is generally assumed that the hydrogen donor ability and inhibition of oxidation are enhanced by increasing the number of hydroxyl groups in the phenol. Furthermore, synergistic actions between synthetic BHT and ethanolic extract was observed. Lafka et al. (2007) observed that ethanol extracts of grape waste increased the induction time of sunflower oil from 7.45 h to 15.3 h. Higher results were related by Lutterodt et al. (2011) in methanolic extracts from different grape seeds whith values between 19h (Muscadine) to 40h (Ruby red).

Studies to incorporate the extracts from by-products sources as antioxidant ingredients are scarce. Although the extracts of residual origin often exert high antioxidant activity, their quite intense flavor and colour or problems associated with their solubility and interaction with other food components (e.g. proteins) can limit their applications (Lakfa et al. 2007).

By-products of fruits are in high demand for be used for food applications as lipid antioxidants in order to prevent the formation of off-flavour and toxic compounds resulting from lipid peroxidation. Furthermore, the substitution of currently used synthetic food antioxidants by natural ones interests the consumers (Lafka et al. 2007; Babbar et al. 2011; Lutterodt et al. 2011).

Phenolic compounds by HPLC-UV

Extracts of the grape pomace were analysed for their contents of selected phenolic compounds and the results are presented in Table 5. The most abundant phenolic compound was isoquercitrin (12.94 mg/100g), followed by rutin (7.54 mg/100g), quercetin (5.4 mg/100g) and resveratrol (2.5 mg/100g).

Table 5. Phenolic compounds in grape pomace (Vitis vinifera L.) extracts.

Varieties	Concentration (mg/100g)		
Resveratrol	2.5±0.07		
Rutin	7.54 ± 0.12		
Quercetin	5.4 ± 0.03		
Isoquercitrin	12.94±1.2		

The results are expressed as mean \pm standard derivation for analysis in three replicates.

Resveratrol was found at lower level that others compounds. This result is comparable to the results of previous works that related values of 0.02 to 0.6 mg/100g to grape berrie from Minas Gerais, Brazil (Abe et al 2007); 0.6 to 25.5 mg/100g to grape skin (Cabernet Sauvignon, from Italia) (Iacopini et al. 2008); 0.01 to 1.18 mg/100g (Anastasiadi, Pratsinis, Kletsas, Skaltsounis, & Haroutounian, 2010); 1.22 to 1.46 mg/100g (Sagdic et al. 2011); 0.23 mg/100g (seed) to 1.29 mg/100g (skin) to Italia cultivar, 0.22 mg/100g (Skin) to 0.24 mg/100g (seed) to Niagara cultivar, 0.21 mg/100g (seed) to 0.28 mg/100g (skin) to Brazil cultivar and 0.12 mg/100g (skin) to 0.20 mg/100g (seed) to Benitaka cultivar (Santos et al.

2011); 0.19 to 0.32 mg/100g (Perestrelo et al. 2012) and until <0.01 mg/100g (Ramirez-lopez et al. 2014).

Resveratrol is a phytoalexin that belongs to the group of compounds known as stilbenes, present in roots, trunk, leaves, stems and berries. Berries represent the most important source of these compounds, which are accumulated mainly in the skin. Stilbenes are basically formed by two benzene rings joined by an ethane unsaturated chain. Hydroxyl, methoxyl and acetyl groups characterize different stilbenes. Resveratrol is the most simple monomer stilbene, and it is present as cis and trans forms and is known to occur in grapes and consequently in grape by-products (Rockenbach et al. 2011; Piano et al. 2013). This compound has gained significant worldwide attention because of its ability to inhibit or delay a wide variety of diseases such as cardiovascular, cancer, diabetes, inflammation, neurodegenerative disease, and age-related cognitive decline and to be a potent compound antiphytopathogenic, antimutagenic, antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative, as well as an inhibitor of cyclooxygenase and hydroperoxidase (Cetin et al. 2011; Rockenbach et al. 2011; Miao et al. 2014; Silva et al. 2014). However, many factors such as the plant variety, environmental conditions, extraction procedure and solvent used during extraction can influence the quantification of this compound (Silva et al. 2014).

Previous studies show that the values of resveratrol in white and red grapes Vitis vinifera, ranging from 0.054 to 0.14 mg/100g (Katalinic et al. 2010) and 0.28 to 0.32 mg/100g (Perestrelo et al. 2012), being higher in red grapes. In red wines, the values ranging from 0.18 to 4.44 mg/mL (Bravo et al. 2008); 0.34 to 1.48 mg/mL (Anastasiadi et al. 2010). In grape juice produced in Brazil were found values between 0.26 to 2.49 mg/mL (Sautter et al. 2005) and 0.32 to 3.95 mg/mL (Machado et al. 2011). The concentration of resveratrol in wine and juice depends on many factors beyond the initial concentration of the substance in grapes. Relying on the fact that resveratrol is concentrated in the bark, maceration time during the process of fermentation of the must is a determining factor in your extraction. Other processes, such as the addition of clarifying agents and filtration may reduce the content of resveratrol in the final product (Abe et al. 2007).

The substitution of wine for grape juice is a topic that has been extensively explored, but which, until now, did not get a conclusive result. One possible reason for this discussion may be due to the wide variety of factors that go beyond the quantification of phytochemical compounds, and extends to several factors that influence the absorption of these compounds. One such factor is the very presence of alcohol in the wine, which acts as a facilitator of the intestinal absorption of phenolic compounds by preventing their precipitation. However, there is disagreement, since studies involving the ingestion of grapes and red wine or non-alcoholic juice showed that the best in vivo activity on the formation of atherosclerosis were found in the group treated with the juice, without being noticed difference with the group treated with the wines (Vinson, Teufel &Wu, 2001).

Results findings of previous studies reported values to isoquercitrin ranging between 0.5 to 2.78 mg/100g (Anastasiadi et al. 2010); 5.62 to 24.55 mg/100g (Perestrelo et al. 2012) and 12.43 mg/100g (Lecce et al. 2014). In relation to rutin, authors reported differents values; 40.3 to 169 mg/100g (Iacopini et al. 2008); 6.16 to 42.8 mg/100g (Perestrelo et al. 2012) and 0.42 mg/100g (Lecce et al. 2014). For quercetin, the values reported for others authors are comparable with this work, ranging between 0.29 to 1.07 mg/100g (Iacopini et al. 2008) and 0.31 to 6.01 mg/100g (Ramirez-Lopez et al. 2014).

The amounts of phenolics in grape pomace variety as intrinsic factors such as genetics and extrinsic aspects linked location, climate and post-harvest treatment and storage conditions (Lutterodt et al. 2011; Lecce et al. 2014).

The results presented in this study demonstrate that grape pomace Benitaka variety are rich in phenolic compounds and presented a high antioxidant potential, which contributes to its high value as a fruit byproduct, and a fact that encourages the prospect of commercialization as natural antioxidants in food ingredients in order to increase the shelf life of foods by preventing lipid peroxidation and protecting against oxidative damage and contributing to improving the quality and safety of food. Further research is needed to establish bioavailability and real benefits of these extracts obtained from fruit residues *in vivo*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support from the Brazilian governmental agencies the CNPq and CAPES and are grateful to the Valley Development Company of São Francisco and Parnaiba (Codevasf) Piaui State that provided samples of grape, the Embrapa Tropical Agribusiness, for the contribution in the analysis of lipid profile, the Reference Laboratory in Biofuels of the Core Foundation for Industrial Technology of Ceara (LARBIO) for the contribution in the analysis of OSI and the Central Corporation of Cotton Producers that provided samples of refined soybean oil.

REFERENCES

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. (2010). FAO Statistical Databases. Retrieved Nov 20, 20010, from http://faostat. fao.org.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2006). Censo agropecuário 2006. Brasília: IBGE. Retrieved May 20, 2010, from http: www.ibge.gov.br/home/estatisticas/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf. Estatísticas do Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro – AGROSTAT. (2011). Brasília: Agricultura. Retrieved Ministério da Jun 15. 2010, from http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html.

Andrade Júnior, A.S.; Tonietto, J.; Bastos, E.A.; Conceição, M.A.F. Classificação climática e regionalização do semi-árido do Estado do Piauí sob cenários pluviométricos distintos. *Rev. Ciênc. Agronôm.* **2005**, 36(2), 143-151.

Costacurta, A.; Roselli, G. Critères climatiques et edaphiques pour l'établissement des vignobles. *Bulletin de l' O. I. V.* **1980**,3(596), 783-786.

Coombe, B. G. Influence of temperature on composition and quality of grapes. *Acta Hortic*. **2006**, 206, 23-35.

Tangolar, S.G., Ozogul, Y., Tangolar, S. and Torun, A. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. *Int. J. Food Sci.Nutr.* **2009**, 60(1), 32-39.

Cetin, E.S., Altinoz, D., Tarc an, E. and Baydar, N.G. Chemical composition of grape canes. *Ind. Crops and Prod.* **2011**, 34: 994-998.

Deng, Q., Penner, M,H. and Zhao, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Res. Intern.* **2011**, 44:2712–2720. Lachman, J., Hejtmánko'va, A., Hejtmánko'va, K., Hornicko'va, S., Pivec, V., Skala, O., Dedina, M. and Pribyl, J. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essentialelements content as a byproduct of winemaking. *Ind. Crops and Prod.* **2013**, 49:445–453.

Brasil. (2011). Brasília: Ministério do meio ambiente. Plano nacional de resíduos sólidos. Versão preliminar para consulta. 109 p.

- Bail, S.; Stuebiger, G.; Krist, S.; Unterweger, H.; Buchbauer, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chem.* **2008**, 108,1122-1132.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Ozkan, G., Yetim, H., Ekici, L., Yilmaz, M. T. RP-HPLC-DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. *Food Chem.* **2011**, 126(4), 1749-1758.
- Cheng, V.J., Bekhit, A. El-Din. A., McConnell, M., Mros, S. and Zhao, J. Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extracts from wine residue from cool climate. *Food Chem.* **2012**, 134, 474–482.
- Santos, L.P., Morais, D.M., Souza, N.E., Cottica, S.M., Boroski, M. and Visentainer, J.V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of Vitis labrusca and V. vinifera grapes. *Food Res. Inter.* **2011**, 44,1414–1418.
- Chouchouli, V.; Kalogeropoulos, N.; Konteles, S.J.; Karvela, E.; Makris, D.P.; KarathanoS, V.T. Fortification of yoghurts with grape (Vitis vinifera) seed extracts. *LWT Food Sci. Tech.* **2013**, 53, 522-529.
- Miao, M.; Jiang, H.; Jiang, Bo; Zhang, Tao, Cui, S.W.; Jin, Z. Phytonutrients for controlling starch digestion: Evaluation of grape skin extract. *Food Chem.* **2014**, 145, 205–211.
- Lecce, G.D.; Arranz, S.; Jáuregui, O.; Tresserra-Rimba, A.; Quifer-Rada, P.; Lamuela-Raventós, R.M. Phenolic profiling of the skin, pulp and seeds of Albariño grapes usinghybrid quadrupole time-of-flight and triple-quadrupole mass spectrometry. *Food Chem.* **2014**, 145, 874–882.
- Ramirez-Lopez, L.M., McGlynn, W., Goad, C.L. and DeWitt, C.A.M. Simultaneous determination of phenolic compounds in Cynthiana grape (Vitis aestivalis) by high performance liquid chromatography—electrospray ionisation—mass spectrometry. *Food Chem.* **2014**,149,15–24.
- Rebello, L.P.G., Lago-Vanzela, E.S., Barcia, M.T., Ramos, A.R., Stringheta, P.C., Da-Silva, R., Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S. and Hermosín-Gutiérrez, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea × IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Food Res. Int.* **2013**,54,354–366.
- Yilmaz, Y.; Toledo, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. J. *Food Compos. Anal.*, **2006**,19, 41-48.
- Meng, J-F., Fang, Y-L., Qin, M-Y., Zhuang, X-F. and Zhang, Z-W. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (Vitis davidii Foex) in Chongyi County (China). *Food Chem.* **2012**, 134, 2049–2056.
- Lafka, T.-I., Sinanoglou, V., and Lazos, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chem.* **2007**, 104,1206–1214.
- Makris, D. P.; Boskou, G.; Andrikopoulos, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. J. *Food Compos. Anal.* **2007**, 20(2),125-132.
- Baydar, N.G., O'zkan, G., Yasar, S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control.* **2007**, 18, 1131–1136.
- Katalinic', V., Moz'ina, S.S., Skroza, D., Generalic', I., Abramovic', H., Miloš, M., Ljubenkov, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinc, P. and Boban, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.* **2010**, 119, 715–723.
- Ayala-Zavala, J.F., Vega-Veja, V., Rosas-Domínguez , C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J.A., Siddiqui, M.W., Dávila-Aviña, J.E. and González-Aguilar, G.A. Agro-

industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Res. Int.* **2011**, 44,1866–1874.

Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J.A. and Ramalhosa, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Res. Int.* **2013**, 50, 161–166.

Instituto Adolfo Lutz – IAL. (2008). In O. Zenebon, N. S. Pascuet & P. Tiglea (Coords.), *Métodos físico-químicos para análise de alimentos* (4. ed.). São Paulo: IAL.

Hartman, L., Lago, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. *Laboratory Practice*. **1973**, 22, 475-476.

Francis, FJ. Analysis of anthocyanins. In: Markakis, P. *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press. **1982**.p.181-207.

Pansera, M.R.; Santos, A.C.A.; Paese, K.; Wasum, R.; Rossato, M.; Rota, L.D.; Pauletti, G.F.; Serafini, L.A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no nordeste do Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Farmacog.*, **2003**, 13(1),17-22.

Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticul*, **1965**, 16, 144-58.

Funari, C.S.; Ferro, V.O. Análise de própolis. Cienc. Tecnol Aliment. 2006, 26,171-178.

Siegler, D.S.; Seilheimer, S.; Keesy, J.; Huang, H.F. Tannins from four common acácia species of Texas and Northeastern Mexico. *Economic Botany*, **1986**, 40, 220-232.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Tech.*, **1995**, 28(1), 25-30.

Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; Brito, E.S.de.; Morais, S.M.de.; Sampaio, C.de.G.S.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.D. *Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4p, (Comunicado Técnico, 127).

Wettasinghe, M.; Shahidi, F. Antioxidant and free radicalscavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (Borago officinalis L.) seeds. *Food Chem.* **1999**, 67, 399–414.

European Standards EN 14112. Fat and oil derivatives-fatty acid methyl esters (FAME). Determination of Oxidation Stability Accelerated Oxidation Test, CEN European Committee for Standardization, Brussels 2003.

Silva, L.M.R.da.; Figueiredo, E.A.T.de.; Ricardo, N.M.P.S.; Vieira, I.G.P.; Figueiredo,

R.W.de.; Brasil, I.M.; Gomes, C.L. Quantification of bioactive compounds in pulps and byproducts of tropical fruits from Brazil. *Food Chem.* **2014**, 143, 398–404.

SAS (Statistical Analysis System) for Windows. 2008. Version 9.2, USA: Microsoft Corporation.

Rockenbach, I.I.; Rodrigues, E.; Gonzaga, L.V.; Fett, R. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (Vitis vinífera L. e Vitis labrusca L.). *Braz. J. Food Technol.* **2010**, III SSA, 23-26.

Lutterodt, H.; Slavin, M.; Whent, M.; Turner, E.; Yu, L. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chem.* **2011**, 128, 391–399.

Ahmad, S.M; Ali Siahsar, B.. Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivar. *Cienc. Inv. Agr.* **2011**, 38(2), 291-301.

Valduga, E.; Lima, L.; Prado, R.; Padilha, F. F.; Treichel, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva Isabel (Vitis labrusca). *Ciênc. Agrotec.* **2008**, 32(5), 1568-1574.

Vanini, L.S.; Hirata, T.A.; Kwiatkowski, A.; Clemente, E. Extraction and stability of anthocyanins from the Benitaka grape cultivar (Vitis vinifera L.) *Braz. J. Food Tech.* **2009**, 12(3), 213-219.

- Kato, C.G.; Tonhi, C.D.; Clemente, E. Antocianinas de uvas (*Vitis vinífera l.*) produzidas em sistema convencional. *Rev. Bras. Tecn. Agroind.* **2012**, 6(2), 809-821.
- Bridle P, Timberlake CF. Anthocyanins as natural food colours selected aspects. *Food Chem.* **1997**, 58(12), 103-109.
- Iacopini, P.; Baldi, M.; Storchi, P.; Sebastiani, L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *J. Food Comp. Anal.* **2008**, 21, 589-598.
- Rockenbach, I.I.; Silva, G.L; Rodrigues, E.; Kuskoski, E.M; Fett, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. *Cienc. Tecnol Aliment.* **2008**, 28, 238-244.
- Jayaprakasha, G. K.; Singh, R. P.; Sakariah, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chem.* **2001**, 73(3), 285-290.
- Giorgi, M.; Saccomani, G.; Lebkowska-Wieruszewska, B.; Kowalski, C. Pharmacokinetic evaluation of tramadol and its major metabolites after single oral sustained tablet administration in the dog: a pilot study. *The Veterinary J.*, **2009**, 180, 253-255.
- Babbar, N.; Oberoi, H.S.; Uppal, D.S.; Patil, R.T. Total phenolic content andantioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Res. Int.* **2011**, 44, 391–396.
- Rockenbach, I.I.; Silva, G.L.; Rodrigues, E.; Gonzaga, L.V.; Fett, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* **2007**, 66(2), 158-163.
- Anastasiadi, M.; Pratsinis, H.; Kletsas, D.; Skaltsounis, A.-L.; Haroutounian, S.A. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinificationby-products: evaluation of the antioxidant activities of their extracts. *Food Res.Int.* **2010**, 43, 805–813
- Xu, C.; Zhang, Y.; Cao, L.; Lu, J. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chem.*, **2010**, 119,1557–1565.
- Tseng, A.; Zhao, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chem.*, **2013**, 138, 356–365.
- Cataneo, C.B.; Caliari, V.; Gonzaga, L.V.; Kuskoski, E.M.; Fett, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico de resíduo agroindustrial da produção de vinho. *Ciênc. Agr.*, **2008**, 29, 93-120.
- Melo, P.S.; Bergamaschi, K.B.; Tiveron, A.P.; Massarioli, A.P.; Oldoni, T.L.C.; Zanus, M.C.; Pereira, G.E.; Alencar, S.M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. *Ciênc. Rural*, **2011**, 41(6), 1088-1093.
- Monteiro, J.M.; Albuquerque, U.P.; Araujo, E.L., Amorim, E.L.C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím. Nova.*, **2005**, 28, 892-896.
- Llobera, A.; Cannellas, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*), pomace and stem. *Food Chem.* **2007**, 101, 659–666.
- Alexandrino, C.D.; Morais, S.M.; Oliveira, M.S.C.; Machado, L.K.A.; Martins, C.G.; Craveiro, A.A.; Rocha, N.C.; Valle, C.P.; Malveira, J.Q.; Jorge, F.A.S. Influence of hydrogenation and antioxidants on the stability of soybean oil biodiesel. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2013**, 115, 709–715.
- Abe, L.T.; Mota, R.V.; Lajolo, F.M.; Genovese, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis lambrusca* L. e *Vitis vinífera* L. *Cienc. Tecnol Aliment.* **2007**, 27, 394-400.
- Rockenbach, I.I.; Gonzaga, L.V.; Rizelio, V.M.; Gonçalves, A.E.S.S.; Genovese, M.I., Fett, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitis vinifera and Vitis labrusca) pomace from Brazilian winemaking. *Food Res.Int.* **2011**, 44, 897–901.

Piano, F.; Bertolone, E.; Pes, D.; Asproudi, A.; Borsa, D. Focusing on bioactive compounds in grapes: stilbenes in Uvalino cv. *Eur. Food Res. Technol.* **2013**, 237, 897–904.

Sautter, C.K.; Denardin, S.; Alves, A.O.; Mallmann, C.A.; Penna, N.G.; Hecktheuer, L.H. Avaliação da presence de resveratrol em sucos de uva. *Cienc. Tecnol Aliment.* **2005**, 25(3), 437-442.

Machado, M.M.; Montagner, G.F.F.dos S.; Boligon, A.; Athayde, AM.L.; Rocha, I.U.M.da.; Lera, J.P.B.; Belló, C.; Cruz, I.B.M.da. Determination of polyphenol contents and antioxidant capacity of no-alcoholic red grape products (vitis labrusca) from conventional and organic crops. *Quim. Nova*, **2011**,34(5), 798-803.

Vinson, J. A.; Teufel, K.; Wu, N. Red wine, dealcoholised red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in hamster model. *Atherosclerosis*, **2001**; 156,67-72.

CONCLUSÃO GERAL

As informações obtidas por meio desta pesquisa mostraram resultados comparáveis com a literatura científica. Os aspectos mais relevantes serão destacados a seguir:

- O aproveitamento tecnológico de resíduos de frutos é extremamente válido, pois agregam valor nutricional aos produtos incorporados; além de reduzir o impacto ambiental negativo gerado pelo acúmulo destes resíduos na natureza e ainda proporcionam redução de custos e maior rentabilidade econômica e incentivo aos produtores.
- Foi possível a substituição parcial da farinha de trigo por bagaço de uva em pó para elaboração de produtos panificáveis.
- Evidenciou-se, por meio da composição centesimal, que o bagaço de uva em pó pode ser utilizado na dieta humana como fonte importante de nutrientes e compostos com propriedades funcionais, podendo ser considerado um antioxidante natural.
- A fibra dietética esteve presente em maior proporção que os demais nutrientes, com destaque para a fração insolúvel, importante para a regulação do funcionamento intestinal.
- Os minerais ferro, potássio, zinco e cálcio estiveram presentes em maiores concentrações;
 sendo considerados importantes nutrientes para as diversas fases da vida.
- Em relação aos ácidos graxos, o ácido linoléico esteve presente em maior proporção e a relação PUFA foi superior à de SFA.
- o O bagaço de uva não apresentou contaminação microbiológica e foi considerado atóxico.
- O extrato metanólico apresentou maior rendimento que os demais extratos e os extratos acetônico e etanólico apresentaram melhor atividade antioxidante nos ensaios *in vitro* realizados, com valores comparáveis aos antioxidantes BHT e quercetina.
- Os teores de fenólicos totais, flavonóides totais e taninos totais variaram em função dos solventes de extração.
- O extrato etanólico conseguiu prolongar a vida de prateleira do óleo de soja de forma semelhante ao antioxidante sintético BHT.
- Foram identificados os compostos resveratrol, quercetina, isoquercitrina e rutina, com valores comparáveis à outras pesquisas envolvendo uvas da mesma cultivar e de cultivares diferentes e até mesmo quando comparados ao suco de uva e vinho tinto.

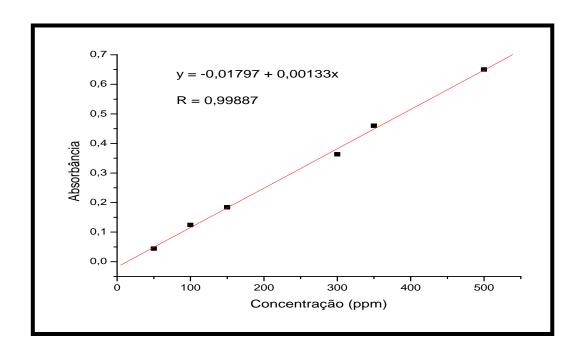


A partir dos resultados apresentados nesta Tese, têm-se as seguintes perspectivas:

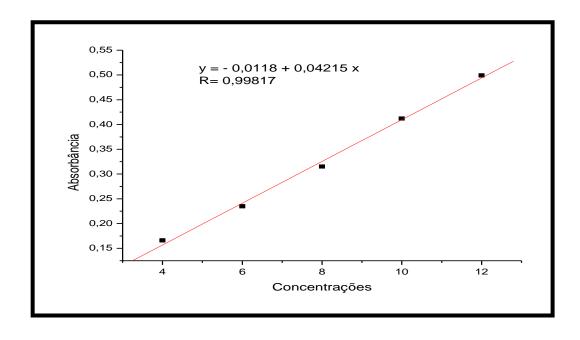
- O Que o bagaço de uva em pó possa ser considerado uma alternativa para recriar novas possibilidades e estratégias de aproveitamento dos resíduos de uva que estão sendo gerados; não só na região de São João do Piauí, mas nas agroindústrias em geral.
- Pomoção de discussões que favoreçam a criação e redirecionamento de Políticas Públicas visando o incentivo ao desenvolvimento de alternativas alimentares a partir dos subprodutos de frutos, principalmente quando se considera o Brasil, um País que desperdiça milhões de toneladas de alimentos diariamente e que paralelamente, milhares de pessoas estão abaixo da linha de pobreza, sem ter o mínimo dos requerimentos nutricionais necessários para sua subsistência.
- o Incorporação do bagaço de uva em pó na alimentação diária da população sadia e/ou enferma, seja diretamente na refeição ou utilizado no preparo de vitaminas, mimgaus, cereais, pães, bolos e massas em geral, visto que pode ser considerado um ingrediente funcional, capaz de prevenir e/ou retardar o surgimento de doenças crônico-degenerativas, tais como câncer, as cardiovasculares, neurológicas, diabetes e imunológicas.
- o Utilização do bagaço de uva em pó na alimentação escolar, pois sua composição nutricional é rica em nutrientes considerados de extrema importância à saúde de crianças e adolescentes, tais como ferro (crianças e adolescentes do sexo feminino são considerados grupo de risco para anemias), zinco (atua na capacidade de concentração e memorização) e cálcio (importante para o crescimento e desenvolvimento ósseo adequado).
- o Incorporação do bagaço de uva em pó na alimentação diária de idosos, pois sua composição nutricional é rica em nutrientes considerados de extrema importância à qualidade de vida dos idosos, tais como ferro (idosos são considerados grupo de risco para anemias), zinco (atua na capacidade de concentração e memorização), cálcio (importante no controle da osteopenia e prevenção da osteoporose, quedas, fraturas e consequente redução das atividades de vida diária) e fibra dietética (importante para o bom funcionamento do sistema gastrointestinal).
- o Extrapolação dos resultados in vitro para a situação in vivo. Assim, o passo seguinte envolveria o estudo da absorção dos compostos bioativos pela flora intestinal e metabolização pelas células intestinais e/ou enzimas humanas.

APÊNDICE

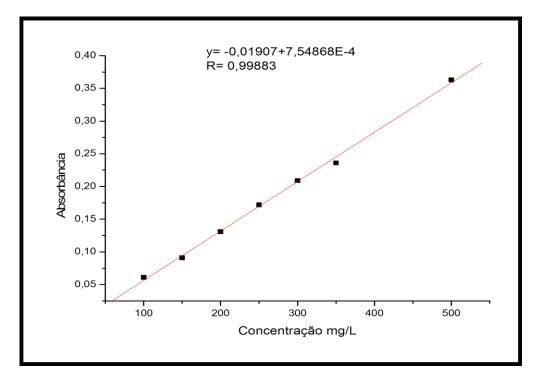
APÊNDICE A – CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS PELO ENSAIO COM O REAGENTE FOLIN - CIOCALTEAU.



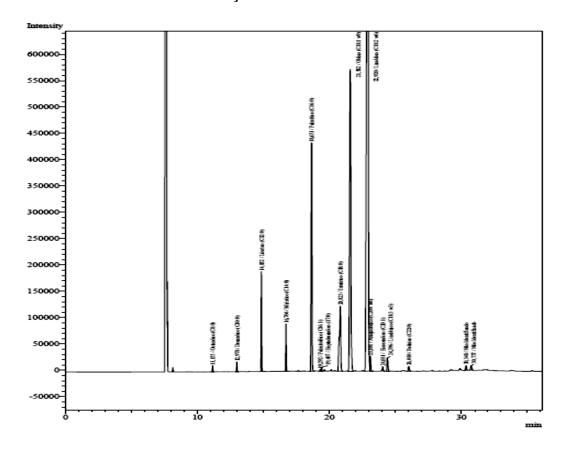
APÊNDICE B - CURVA PADRÃO DE QUERCETINA PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS.



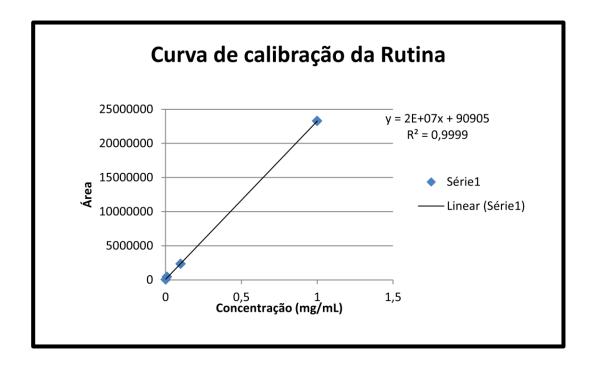
APÊNDICE C - CURVA PADRÃO DE ÁCIDO TÂNICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS TOTAIS.



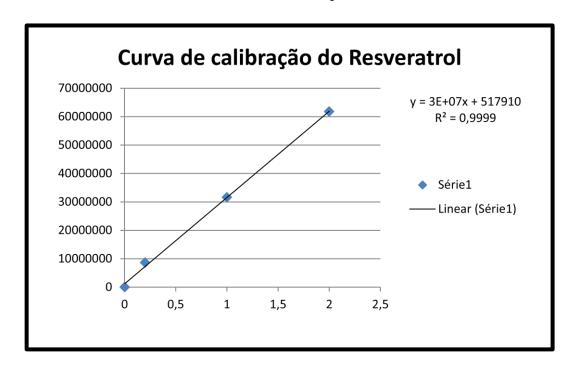
APÊNDICE D – CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES NO BAGAÇO DE UVA EM PÓ.



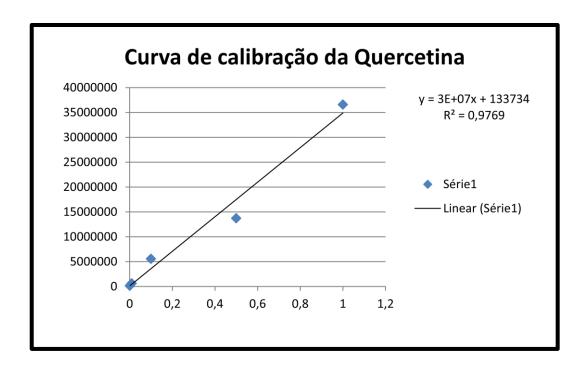
APÊNDICE E – CURVA DE CALIBRAÇÃO DA RUTINA.



APÊNDICE F – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO RESVERATROL.



APÊNDICE G – CURVA DE CALIBRAÇÃO DA QUERCETINA.



ANEXOS

ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA FOOD SCIENCE AND **TECHNOLOGY**

Food Science and Technology ISSN 0101-2061

Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (Vitis vinifera L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil

Eldina Castro SOUSA 1". Ana Maria Athavde UCHÔA-THOMAZ 1, José Osvaldo Beserra CARIOCA 2. Selene Maia de MORAIS³, Alessandro de LIMA¹, Clécio Galvão MARTINS³, Cristiane Duarte ALEXANDRINO³. Pablito Augusto Travassos FERREIRA³, Ana Livva Moreira RODRIGUES³, Suliane Praciano RODRIGUES³. Jurandy do Nascimento SILVA1, Larissa Lages RODRIGUES1

Grape pomace (Vitis vinifera L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil was evaluated in relation to chemical composition, and content of minerals and functional properties. Its microbiological quality and toxic potential, using Artemia salina sp. were also investigated. The results showed that the flour obtained from these residues had below neutral pH (3.82), moisture (3.33g/100g), acidity of (0.64g of citric acid/100g), and ash (4.65 g/100g). The amount of total dietary fiber (46.17g/100g) stood out quantitatively compared to the content of carbohydrate (29.2g/100 g), protein (8.49g/100g), and lipids (8.16g/100g). The total energy was 224Kcal/100g, With regard to the compounds with functional properties, higher values of insoluble fiber 79% (36.4 g/100 g); vitamin C (26.25 mg of acid ascorbic/100g), and anthocyanins (131mg/100g) were found. The minerals iron, potassium, zinc, manganese, and calcium were present in higher concentrations. There were no significant copper values. The results showed that the grape residues are an important source of nutrients and compounds with functional properties suggesting that they can be incorporated as an ingredient in the diet and/or used as a dietary supplement aiming at health benefits. The residues did not show microbiological contamination and were considered nontoxic.

Keywords: grape pomace; chemical composition; minerals; bioactive compounds; microbiological quality; Artemia salina sp.

1 Introduction

Because of the beneficial effects on human health and its economic importance, grape is a fruit widely grown and eaten around the world. Historically, the production and export of grapes were controlled almost exclusively by traditional European countries; however, in recent years, South America has shown significant rate of growth in production and export of grapes with two crops a year (Ruiz, 2011). According to data from the Food and Agriculture Organization (2010), Brazil occupies the 20th position in terms of world production of grapes. In 2012, data show that the annual production of grapes in Brazil ranged from 1.3 and 1.4 million tons/year (Camargo et al., 2011; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2013).

Municipalities in the Northeast of Brazil, where the predominant climate is semi-arid and dry sub-humid, are characterized by low rainfall and relative and high air temperature and solar radiation (Andrade Júnior et al., 2005). Phytosanitary problems tend to be smaller and fruit quality tends to be better, which is essential for the expression of the productive potential of the European vine (Costacurta & Roselli, 1980; Coombe, 1987). According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics, in 2012, the planting of grapes in northeastern Brazil was 9.437 hectares, with total production of 287.050 tons and average yield of 31.043 kg/ha. In February 2013, data indicated a 2% increase in production although a 0.4% decrease in the total area planted was observed (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2013). Along with this intensive production, large amounts of agro-industrial residues are generated (Bustamante et al., 2008; Tangolar et al., 2009; Cetin et al., 2011; Deng et al., 2011; Lachman et al., 2013). According to a study conducted in 2011 by the Brazilian Ministry of Environment (Brasil, 2011), the production of grape waste in Brazil was 290.838.411 tons.

The agro-industrial residues of grape are mostly solid byproducts such as stalks, pomace and the liquid filtrate. Depending on the conditions of the grapes when they are harvested, the residues may represent from 13.5 to 14.5% of the total volume of grapes, and may reach 20% (Ahmad & Ali Siahsar, 2011; Rockenbach et al., 2008). These residues are composed of water, proteins, lipids, carbohydrates, vitamins, minerals, and compounds with important biological properties such as fiber, vitamin C, and phenolic compounds (tannins, phenolic acids, anthocyanins, and resveratrol), depending on the type of waste, the cultivar and climatic and cultivation conditions (Ahmad & Ali Siahsar, 2011; Rockenbach et al., 2007, 2008; Pontes et al., 2010; Burin et al., 2010). Due to the functional properties of these residues, which are capable of acting on the metabolism and human physiology producing beneficial health effects, the extraction of these bioactive substances can provide many

Received 04 Dec., 2013

Accepted 04 Jan., 2014 (006236)

Federal Institute of Education, Science and Technology of Frant – IFP, Terestra, FI, Instit, e-mail: eldinas
 Technological Development Park – PADETEC, Federal University of Geard – UFC, Fortaless, CE, Brazil

³ Laboratory of Chemistry of Natural Products, State University of Courá – UECE, Fortalesa, CE, Bruxil *Corresponding author

Food Sci. Technol, Campinus

ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO NA REVISTA BRASILEIRA DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL

