

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LUAN BATISTA PERES DE ABREU

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DO CAULE DA
UVA**

MEDIANEIRA

2023

LUAN BATISTA PERES DE ABREU

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DO CAULE DA
UVA**

Study of the extraction of antioxidant compounds from the grape stem

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof^a. Dr^a Aziza Kamal Genena

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Eliane Colla

Medianeira

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

LUAN BATISTA PERES DE ABREU

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DO CAULE DA
UVA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Aziza Kamal Genena

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª Eliane Colla

Data de aprovação: 16/06/2023

Aziza Kamal Genena
Doutorado em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná – Câmpus Medianeira

Eliane Colla
Doutorado em Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná – Câmpus Medianeira

Ilton José Baraldi
Doutorado em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná – Câmpus Medianeira

Marinês Paula Corso
Doutorado em Ciência de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná – Câmpus Medianeira

MEDIANEIRA

2023

RESUMO

A crescente produção de insumos ligada ao aumento do consumo humano implica em uma preocupação cada vez maior com a questão ambiental e econômica, visto que diversos subprodutos agroindustriais são gerados diariamente. Dessa forma, estudos voltados para a utilização e/ou aproveitamento destes materiais vêm crescendo com a finalidade de diminuir o custo econômico e os prejuízos ao meio ambiente. A uva possui em sua composição compostos fenólicos os quais podem atuar como antioxidantes, o que direciona o interesse também para o estudo de seus subprodutos, como o caule da uva. Estudos indicam que este elemento do fruto concentra grandes quantidades de compostos fenólicos, podendo assim dele obter extratos com compostos bioativos antioxidantes, o que não somente resultaria na agregação de valor ao material, como também na obtenção de um extrato antioxidante natural, o qual poderia vir a ser utilizado em substituição aos antioxidantes sintéticos. Esse trabalho teve como objetivo a avaliação do processo de extração de compostos antioxidantes do caule da uva por extração convencional sólido-líquido (maceração) assistida por ultrassom, com uso de solvente orgânico hidroalcoólico (água e etanol), com foco no estudo dos efeitos dos parâmetros operacionais para um melhor aproveitamento na extração de compostos antioxidantes. Foi aplicado um Delineamento Composto Central (DCC2³) para avaliar o efeito dos parâmetros operacionais (temperatura, proporção de etanol no solvente hidroalcoólico e amplitude de potência do ultrassom) sobre a extração de compostos com atividade antioxidante. Sendo assim, como variável resposta do DCC2³, os extratos foram avaliados quanto ao teor de fenólicos totais (método Folin Ciocalteu) e potencial de atividade antioxidante (método ABTS^{•+}). A partir dos resultados obtidos, identificou-se que para o método ABTS, apenas a variável proporção de etanol no solvente demonstrou-se significativa, com indicação de uso no nível superior. Já para o método Folin Ciocalteu, todas as variáveis estudadas foram significativas, gerando melhores resultados quando utilizadas nos níveis superiores. Para ambos os métodos foi possível gerar modelos válidos de obtenção da resposta de acordo com os parâmetros de extração significativos. Concluiu-se que o caule da uva apresentou-se como fonte natural de compostos antioxidantes, valorizando o seu aproveitamento ao invés do descarte e também, com a análise do planejamento foi possível concluir que, quanto aos parâmetros operacionais investigados, a variável temperatura, deve ser trabalhada no nível inferior, já a amplitude de potência do ultrassom e a proporção de etanol no solvente, no nível superior, já que ambas apresentaram efeitos positivos para os dois métodos estudados, visando a extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Palavras-chave: compostos bioativos; uva; subproduto.

ABSTRACT

The growing production of inputs linked to increased human consumption implies an increasing concern with the environmental and economic issue, since several agro-industrial by-products are generated daily. Thus, studies aimed at the use and/or utilization of these materials have been growing with the purpose of reducing the economic cost and the damage to the environment. The grape has in its composition phenolic compounds that may act as antioxidants, which directs the interest also to the study of its by-products, such as the grape stem. Studies indicate that this element of the fruit concentrates large amounts of phenolic compounds, and that extracts with antioxidant bioactive compounds can be obtained from it, which would not only result in adding value to the material, but also in obtaining a natural antioxidant extract, which could be used to replace synthetic antioxidants. This work aimed to evaluate the extraction process of antioxidant compounds from grape stem by conventional solid-liquid extraction (maceration) assisted by ultrasound, using organic hydroalcoholic solvent (water and ethanol), focusing on the study of the effects of operational parameters for a better use in the extraction of antioxidant compounds. A Central Composite Design (DCC23) was applied to evaluate the effect of operational parameters (temperature, proportion of ethanol in hydroalcoholic solvent and ultrasound power amplitude) on the extraction of compounds with antioxidant activity. Thus, as a DCC23 response variable, the extracts were evaluated for total phenolic content (Folin Ciocalteu method) and antioxidant activity potential (ABTS-+ method). From the results obtained, it was identified that for the ABTS method, only the variable proportion of ethanol in the solvent proved to be significant, indicating its use at the higher level. For the Folin Ciocalteu method, all variables studied were significant, generating better results when used at higher levels. For both methods it was possible to generate valid models to obtain the response according to the significant extraction parameters. It was concluded that the grape stem presented itself as a natural source of antioxidant compounds, valuing its use instead of disposal and also, with the analysis of the planning it was possible to conclude that, as for the operational parameters investigated, the variable temperature should be worked at the lower level, while the amplitude of ultrasound power and the proportion of ethanol in the solvent, at the higher level, since both presented positive effects for the two methods studied, aiming at the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity.

Keywords: bioactive compounds; grape; by-product.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Cacho de uvas e morfologia do caule	14
Figura 2 - Composição geral dos caules das uvas	15
Figura 3 – Esquema de extração	20
Figura 4 - Curva padrão de Ácido Gálico para o método Folin-Ciocalteu.	22
Figura 5 - Curva padrão de Trolox para método ABTS•+.	23
Figura 6 - Superfícies de respostas (a) Temperatura versus Proporção de etanol, (b) Temperatura versus Amplitude de potência de ultrassom e (c) Amplitude de potência do ultrassom versus Proporção de etanol, para o ABTS•+ ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	28
Figura 7 - Superfícies de respostas (a) Temperatura versus Proporção de etanol, (b) Temperatura versus Amplitude de potência de ultrassom e (c) Amplitude de potência do ultrassom versus Proporção de etanol, para o Folin-Ciocalteu (mg AG-Eq/g)	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis reais e codificados das variáveis do DCC2 ³	20
Tabela 2 - Matriz do DCC2 ³ (valores reais e codificados) com as respostas dos métodos FOLIN e ABTS	23
Tabela 3 - Efeito dos fatores estudados no DCC2 ³ para os métodos ABTS•+e Folin-Ciocalteu	25
Tabela 4 - Anova dos modelos gerados para as respostas de Folin-Ciocalteu e ABTS•+	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico
AG	Ácido Gálico
ANOVA	Análise de variância
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
Eq	Equivalente
PG	Galato de propila
PIB	Produto Interno Bruto
TBHQ	Butilhidroquinona terciária
TFT	Teor de Fenólicos Totais
DNA	Ácido desoxirribonucleico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivos gerais	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	Geração de subprodutos do processamento de alimentos	13
3.2	Uva e seus subprodutos	13
3.2.1	Caule da uva	15
3.3	Otimização do processo de extração	16
3.4	Extração assistida por ultrassom	17
3.5	Antioxidantes	17
4	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1	Matéria prima	19
4.2	Preparo da amostra	19
4.3	Estratégia experimental para o estudo do processo de extração	19
4.3.1	Condução dos ensaios	20
4.4	Determinação de compostos fenólicos e potencial antioxidante	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
6	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A cadeia de abastecimento de alimentos inicia-se com a produção de alimentos do setor agrícola, onde tanto a agricultura quanto a pecuária produzem resíduos ou subprodutos que podem ser resíduos orgânicos, resíduos de alimentos ou perda de alimentos (GIROTTO *et al.*, 2015). Assim, compostos bioativos relacionados a efeitos benéficos à saúde de subprodutos podem ser explorados pelas indústrias alimentícia, agrícola, cosmética ou farmacêutica (MISLATA, PUXEU e FERRER-GALLEGO, 2020).

A viticultura, no Brasil, ocupa uma área de, aproximadamente, 75 mil hectares, com vinhedos estabelecidos desde o extremo sul do país, até regiões situadas muito próximas ao equador. A produção de uvas é da ordem de 1,7 milhões de toneladas/ano. Deste volume, cerca de 47% são destinados ao processamento, para a elaboração de vinhos, sucos e outros derivados, e 53% comercializado como uvas de mesa (IBGE, 2022).

Estima-se que para cada litro de vinho produzido, um a vários litros de águas residuais são derivados. Por outro lado, a quantidade de resíduo sólido resultante dessa cadeia produtiva, que inclui bagaço e engaço, é igualmente impressionante, chegando a 5 toneladas por ano para cada hectare cultivado (SPIGNO, MARINONI e GARRIDO, 2017)

A uva além de suas características físico-químicas, contém compostos bioativos representados por nutrientes e não nutrientes, entre os quais se destacam os polifenóis (XIA *et al.*, 2010). O caule da uva, que representa uma fração do resíduo total da uva gerado durante os processos, é um tecido que tem recebido relativamente pouca atenção, apesar de relatos recentes sobre sua composição polifenólica que parece incorporar substâncias não encontradas em outros subprodutos (MAKRIS *et al.*, 2008).

Além disso, o destino dado a esses materiais, tal como é feito, causa um déficit econômico na cadeia produtiva, uma vez que muitos deles são ricos em compostos bioativos, alguns capazes de combater danos oxidativos causados por radicais livres, como é o caso dos antioxidantes – substâncias de elevado valor comercial. Produzidos como metabólitos secundários de plantas, os antioxidantes possuem larga aplicação, além de servirem como aditivos naturais em alimentos (BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

A otimização de processos permite explorar vários fatores que podem influenciar o processo de extração ao mesmo tempo, na busca da melhor eficiência na obtenção de um composto alvo (CAVALARO, FABRICIO e VIEIRA, 2020) tais como os compostos bioativos fenólicos e antioxidantes.

Sendo assim, frente às considerações feitas acima, o trabalho teve como objetivo o estudo dos parâmetros operacionais do processo de extração por maceração assistida por ultrassom para obtenção de compostos antioxidantes do caule da uva.

Esse trabalho justificou-se pelo seu caráter voltado à sustentabilidade, no que se refere não somente ao fato de agregar valor ao caule da uva (subproduto do processamento da uva), mas também no que se diz respeito a produção de um extrato antioxidante natural, seguro, que pode vir a ser investigado para uso em substituição aos antioxidantes sintéticos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar os parâmetros operacionais no processo de extração de compostos antioxidantes do caule da uva por extração convencional sólido-líquido (maceração) assistida por ultrassom, com uso de solvente orgânico hidroalcoólico (água e etanol).

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a matéria prima quanto a sua umidade e percentual de geração do resíduo;
- Avaliar o efeito das variáveis temperatura, proporção de etanol/água e amplitude de potência do ultrassom no processo de extração, sobre as respostas de teor de fenólicos totais (TFT) e potencial antioxidante (método ABTS^{•+}), pela aplicação de um Delineamento Composto Central:
- Determinar a partir dos resultados obtidos, as condições operacionais indicadas para extração de compostos antioxidantes do caule da uva;
- Avaliar a possibilidade de gerar modelos válidos para o processo avaliado;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Geração de subprodutos do processamento de alimentos

No ano de 2022, o agronegócio brasileiro (insumos, agricultura, agroindústria e distribuição) foi responsável por 24,8% do produto interno bruto (PIB) nacional, mesmo que os custos com insumos evoluíram a taxas superiores às de faturamento auferido no período, especialmente nas atividades ligadas à agricultura (CEPEA, 2023).

Foi demonstrado por SCHNEIDER *et al.* (2012) que a geração de resíduos em 2009 oriundos das agroindústrias associadas à agricultura, em culturas temporárias e permanentes mais representativas em termos de área cultivada no Brasil, foi de estimadamente 291 milhões de toneladas de resíduos.

Tanto a agricultura como as indústrias de alimentos geram uma grande quantidade de resíduos e subprodutos (SANZ *et al.*, 2021). Esses materiais podem ser gerenciados e utilizados de forma mais eficiente e sustentável, com foco no desenvolvimento de novos produtos funcionais inovadores, naturais e de valor agregado, como a atenção que tem sido dada nos últimos anos aos compostos naturais e suas bioatividades associadas (FAUSTINO *et al.*, 2019).

Essa valorização dos resíduos agroindustriais como suportes nutricionais para a produção de bioprodutos oferece uma alternativa de diversificação de produtos para agricultores e para a agroindústria (SCHALCHLI *et al.*, 2017), além de atender a preocupação com a limitação de recursos fósseis, problemas ambientais e sustentabilidade, juntamente com a preferência do consumidor por produtos naturais, biodegradáveis e ambientalmente amigáveis (DIAZ; BLANDINO; CARO, 2018).

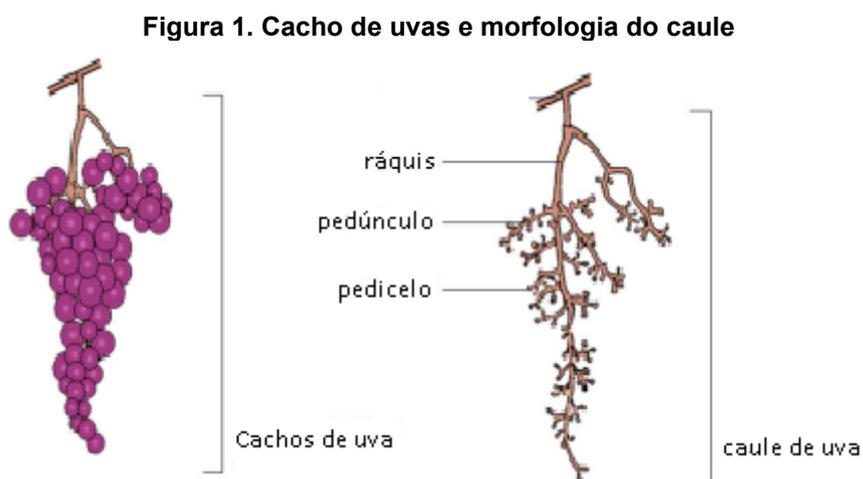
3.2 Uva e seus subprodutos

A uva (*Vitis vinifera L.*) é uma das culturas frutíferas mais importantes e tradicionais do mundo, com produções superiores a 74 milhões de toneladas, a maior parte (80,0%) destinada à produção de vinho (GOUVINHAS *et al.*, 2018). A composição nutricional das amostras de uva é bastante variável, e depende da variedade da uva, da origem da uva e das condições de fertilização (BLACKFORD *et*

al., 2021). Ela tem uma relevância tradicional como alimentos saudáveis e frutas promotoras da saúde com base em seu alto teor de (poli) fenóis bioativos, incluindo flavan-3-ols, ácidos hidroxicinâmicos, flavonóis, estilbenos, antocianinas (BARROS *et al.*, 2014).

Dentre os subprodutos do processamento da uva estão a casca, semente e caule. Estudos recentes têm fornecido informações atualizadas sobre as quantidades relevantes de fenólicos bioativos, presentes nos frutos da uva e seus subprodutos (caules, bagaços e sementes), responsáveis por efeitos benéficos à saúde humana, reduzindo a incidência, prevalência e severidade de uma série de processos fisiopatológicos, conforme demonstrado em diversos estudos *in vitro* (DOMÍNGUEZ-PERLES, MORENO E GARCÍA-VIGUERA, 2018).

Ainda assim, pouca atenção tem sido dada especificamente aos caules das uvas, que constituem a parte lenhosa dos cachos da uva e constituem um desperdício da indústria vinícola (ANASTASIADI *et al.*, 2012). O caule é o esqueleto do cacho ou cacho da uva. A parte mais longa, o ráquis (eixo principal), é ramificado com pedúnculos, e um pedicelo anexa cada baga de uva ao caule (Figura 1) (BLACKFORD *et al.*, 2021).

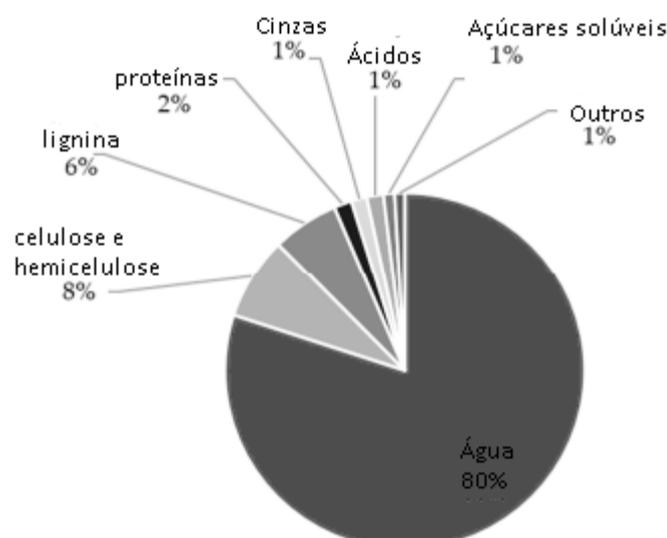


Fonte: adaptada de BLACKFORD *et al.* (2021)

Os caules da uva correspondem a quase 25% do total dos subprodutos resultantes do processo de vinificação e produção da uva, sendo o material menos caracterizado e ainda desvalorizado embora a sua composição química revele enorme potencial como fonte de compostos naturais (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2016).

Uma estimativa quantitativa da composição do caule da uva é apresentada na Figura 2.

Figura 2. Composição geral dos caules das uvas



Fonte: adaptada de BLACKFORD *et al.* (2021)

3.2.1 Caule da uva

Segundo Ruiz moreno *et al.* (2015) os caules das uvas representam uma fonte rica em compostos de alto valor agregado com alta atividade antioxidante e boas propriedades antimicrobianas. Uma diminuição no conteúdo fenólico foi observada durante o armazenamento dos caules; entretanto, esse conteúdo, assim como as atividades antioxidante e antimicrobiana, permanecem elevados após mais de dois meses de armazenamento (MATEO; MAICAS, 2015). Além disso, eles foram explorados como uma fonte rica de fibra dietética de boa qualidade (GONZALES-CENTENO *et al.*, 2010).

Brenes *et al.* (2016) também destacam em seu estudo o uso potencial de hastes de uva como uma fonte rica de antioxidantes naturais, principalmente com base na determinação de seus conteúdos polifenólicos e flavonoides totais. Os caules das uvas são caracterizados por conterem quantidades notáveis de estilbenos, como trans-resveratrol e seus derivados. Esses fitoquímicos são permitidos como ingredientes alimentares e apresentam importantes efeitos antioxidantes *in vitro* (BARROS *et al.*, 2014).

Foi avaliado por Melo *et al.* (2016) que o ráqui da uva, um dos componentes do caule, se mostra eficaz em sistemas à base de lipídios coloidais, vistos como protetores de lipídios insaturados em lipossomas ou contra a oxidação de emulsões óleo / água. E que o alto teor de extratos fenólicos /uma proporção de -tocoferol aumentou os efeitos sinérgicos. Além de demonstrar que o aproveitamento desses resíduos agroindustriais é viável, visto que são abundantes como fonte de baixo custo de antioxidantes naturais.

3.3 Otimização do processo de extração

O caule da uva pode ser utilizado como substrato para a produção de um produto de alto valor agregado em diversas indústrias (cosmética, alimentícia e / ou farmacêutica), dando origem a uma produção agrícola sustentável (GOUVINHAS *et al.*, 2018). No entanto, para usar os antioxidantes extraídos do caule da uva nestas áreas supracitadas, é importante otimizar os processos de extração por meio de solventes atóxicos e métodos escalonáveis (JIMÉNEZ-MORENO *et al.*, 2019).

Foi demonstrado por Nieto *et al.* (2020) que a obtenção de condições ideais de extração por processo ecologicamente correto, resultaram na obtenção de um extrato com alto teor fenólico e notável atividade antioxidante dos caules da uva Merlot, permitido assim a redução do volume de solvente e tempo de extração em comparação com a extração sólido-líquido convencional. Além de demonstrar que esse subproduto é uma fonte interessante e subestimada de procianidinas e, em menor escala, de estilbenos e derivados de flavonóis.

A utilização da ferramenta de planejamento fatorial em estudos que abordam muitas variáveis, como é o caso de otimizações de componentes químicos em produtos naturais, é muito importante, pois torna possível o planejamento e a realização de uma quantidade reduzida de experimentos, o que economiza tempo e recursos financeiros (SILVA *et al.*, 2006).

Ainda, um método de extração otimizado torna possível alcançar melhor eficiência na obtenção de compostos de interesse (BOTH *et al.*, 2014; CAVALARO; FABRICIO; VIEIRA, 2020), como rendimento, pureza e atividade antioxidante.

3.4 Extração assistida por ultrassom

O ultrassom é uma tecnologia que tem como fundamento a aplicação de ondas ultrassônicas, provocando um processo de cavitação, formação e colapso de bolhas na parede celular de matérias, aumentando a taxa de extração de compostos em curtos períodos (FLORES- JIMÉNEZ *et al.*, 2019)

Por se tratar de uma onda mecânica, suas características, como frequência, comprimento de onda e amplitude, podem influenciar a cavitação acústica e, portanto, a extração dos compostos de interesse, acarretando o interesse em otimizar todas essas variáveis de processo para a melhor utilização de energia, tempo, matéria-prima e/ou solvente (CHEMAT *et al.*, 2017).

Romanini *et al.* (2021) demonstraram que o extrato obtido do bagaço de uva por ultrassom apresentou maior capacidade antioxidante quando comparado ao obtido por extração convencional. Portanto, nota-se eficiente a extração de compostos assistida por ultrassom em vegetais.

Tal rendimento está relacionado ao sistema de cavitação que é produzido pelas ondas ultrassônicas, provocando cavidades, onde as superfícies sólidas se chocam com as microbolhas causadas pela cavitação, ocasionando a ruptura das células vegetais, favorecendo a dispersão do solvente para o núcleo da matriz (SCHONS *et al.*, 2017)

3.5 Antioxidantes

Os compostos bioativos (por exemplo, antioxidantes, polifenóis, tocoferóis, carotenóides e vitaminas) naturalmente presentes nos alimentos são importantes para a nutrição humana (GALANAKIS, 2021). Quando esses compostos bioativos são incorporados à dieta alimentar, por meio de bases alimentares ou medicinais, podem trazer benefícios à saúde humana, desenvolvendo efeitos positivos na funcionalidade do organismo (LEICHTWEIS *et al.*, 2021).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação. Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos

das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (CAVALARI e SANCHES, 2018).

Os antioxidantes naturais de materiais vegetais têm o potencial de ser aplicados em sistemas alimentares como substitutos dos antioxidantes sintéticos tradicionalmente usados (YIN *et al.*, 2012). Hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), butilhidroquinona terciária (TBHQ) e galato de propila (PG) têm sido usados pela indústria de alimentos para prevenir os processos oxidativos em alimentos ricos em lipídios, a fim de garantir os atributos sensoriais e de qualidade nutricional de produtos alimentares sensíveis. Porém a utilização destes antioxidantes, está se tornando limitada ou até mesmo proibida em alguns países, devido as preocupações sobre a sua toxicidade (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Matéria prima

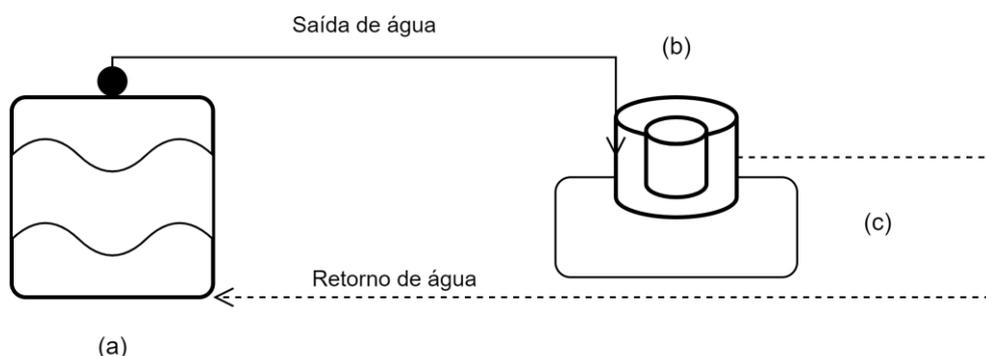
O fruto de estudo (*Vitis Vinífera L.*) foi adquirida em comércio local na cidade de Medianeira-PR, e a variedade Benitaka foi escolhida entre as disponíveis no local de aquisição.

4.2 Preparo da amostra

Os frutos foram higienizados em água corrente, secos e pesados. O caule foi separado de forma manual e pesado para determinação da sua quantidade em relação ao produto como todo. O caule foi submetido a secagem em estufa a vácuo $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até peso constante e triturado em moinho de facas (SOLAB, SL31) com peneira de 30 *mesh*. Por fim, a amostra foi acondicionada em embalagem plástica e alocada em freezer comercial à $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até o momento de sua utilização.

4.3 Estratégia experimental para o estudo do processo de extração

Para a extração dos compostos bioativos com potencial atividade antioxidante do caule da uva, foi realizada uma extração sólido-líquido (maceração) assistida por ultrassom. As variáveis independentes no processo de extração são a temperatura (20 a 75°C), a proporção de etanol no solvente hidroalcolico (0 a 100%) e a amplitude de potência do ultrassom (30 a 100%) (Elmasonic P 120H, 80 kHz), as quais foram avaliadas pela aplicação de um Delineamento Composto Central (DCC2³) (11 ensaios). As respostas avaliadas foram o teor de compostos fenólicos totais (TFT) e o potencial antioxidante pelo método ABTS•+. O esquema de extração está apresentado na Figura 3, na qual é demonstrada a interação entre o banho termostaticado (a), o béquer encamisado (b) e o ultrassom(c)

Figura 3. Esquema de extração

Fonte: Autoria própria (2023)

Os níveis reais e codificados das variáveis estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Níveis reais e codificados das variáveis do DCC2³

Variáveis/ Níveis	-1	0	1
x_1^a (°C)	20	47,5	75
x_2^b (v/v)	0	50	100
x_3^b (%)	30	65	100

^a Temperatura (°C); ^b Proporção de etanol (v/v); ^c Amplitude de potência do ultrassom (%)

Fonte: Autoria própria (2023)

4.3.1 Condução dos ensaios

Os ensaios de extração foram conduzidos segundo metodologia adaptada descrita por Melo *et al.* (2015). Alíquotas de 50 mL de solvente em proporções de etanol pré-estabelecidas (Tabela 1) foram adicionadas à 5,0 g de amostra. O processo de extração foi conduzido por 60 min, com controle de temperatura (pré-estabelecidas pelo DCC2³) e assistida por ultrassom a diferentes amplitudes de potência (pré-definidas também no DCC2³), conforme apresentado na Tabela 1. Sequencialmente, os extratos foram centrifugados a 5000 x g por 15 min e o sobrenadante foi filtrado com auxílio de papel filtro quantitativo Jp 42 Faixa Azul Diâmetro: 11cm e analisado quanto ao teor de fenólicos (método Folin-Ciocalteu) e potencial antioxidante (método ABTS^{•+}).

4.4 Determinação de compostos fenólicos e potencial antioxidante

O método Folin-Ciocalteu foi utilizado para determinação do TFT dos extratos de acordo com o procedimento descrito por Ainsworth e Gillespie (2007). Na ausência de luz e a temperatura ambiente, em tubos com 500 µL de extrato diluído (concentração de 0,02 g/mL) foram adicionados 1,0 mL do reagente Folin-Ciocalteu 20% e 4,0 mL de carbonato de sódio 700 mM. Álcool etílico foi utilizado em substituição ao extrato no preparo do branco. Após 2 horas de reação a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a absorbância foi medida à 765 nm em espectrofotômetro (Biospectro Sp-22). A partir de uma curva padrão preparada com ácido gálico (20 a 100 µg/mL) os resultados obtidos foram expressos em termos de equivalente de ácido gálico (AG-Eq), mg AG-Eq/g amostra.

A avaliação do potencial antioxidante dos extratos pelo método ABTS^{•+} (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina) -6-ácido sulfônico) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Re *et al.* (1999). Uma solução aquosa do radical ABTS 7 mM foi preparada a partir de solução estoque de ABTS com persulfato de potássio (2,45 mM). Na ausência de luz e a temperatura ambiente, a solução repousou por 12 a 16 horas. Em seguida, etanol foi adicionado à solução até absorbância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. Em um tubo de ensaio foram adicionados 50 µL do extrato diluído (concentração de 0,02 g/mL) e 5 mL de solução ABTS^{•+} e a absorbância lida à 734 nm em espectrofotômetro (Biospectro Sp-22) após 6 minutos de reação. Para o branco foram utilizados 50 µL de etanol ao invés do extrato. A atividade antioxidante foi determinada a partir de uma curva padrão preparada para o Trolox e os resultados expressos em termos de equivalente de Trolox (Trolox-Eq), µmol Trolox-Eq/g amostra. A porcentagem de inibição foi determinada pela Equação (1).

$$\% \text{ de inibição} = 100 - \left(1 - \frac{Abs(734nm)_{AMOSTRA}}{Abs(734nm)_{BRANCO}} \right) \times 100 \quad (1)$$

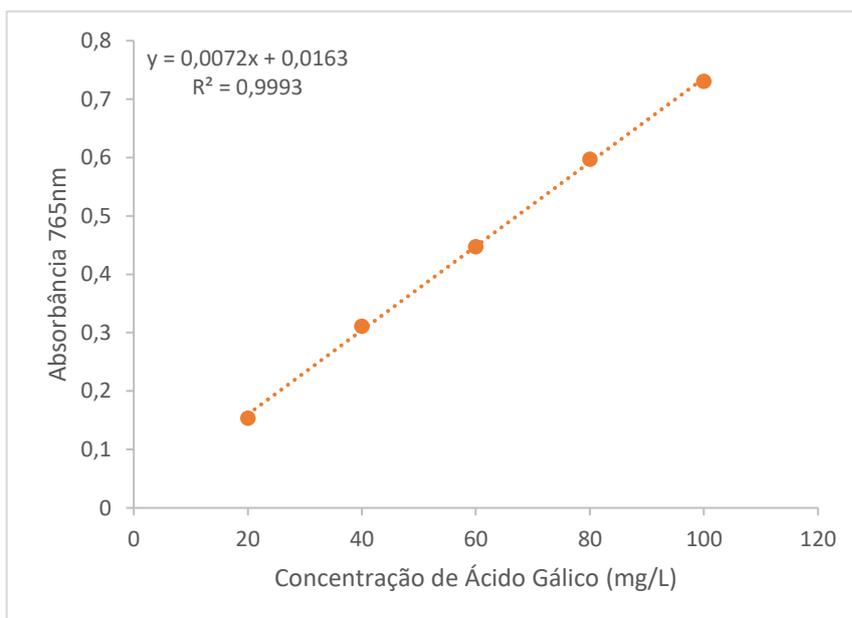
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O caule da uva, apresentou uma representatividade de massa dentro do cacho de apenas 0,92%, isto se dá ao fato que a variedade escolhida apresenta frutos maiores quando comparada a outras variedades. Porém considerando-se a produção anual apenas no Brasil, há uma grande quantia para que se torne interessante o seu reaproveitamento.

O teor de umidade encontrado no caule foi de 9,32%, semelhante ao encontrado por Grillo *et al.* (2020), para a uva crus, o que demonstra que a secagem do caule é viável e econômica, por sua baixa umidade.

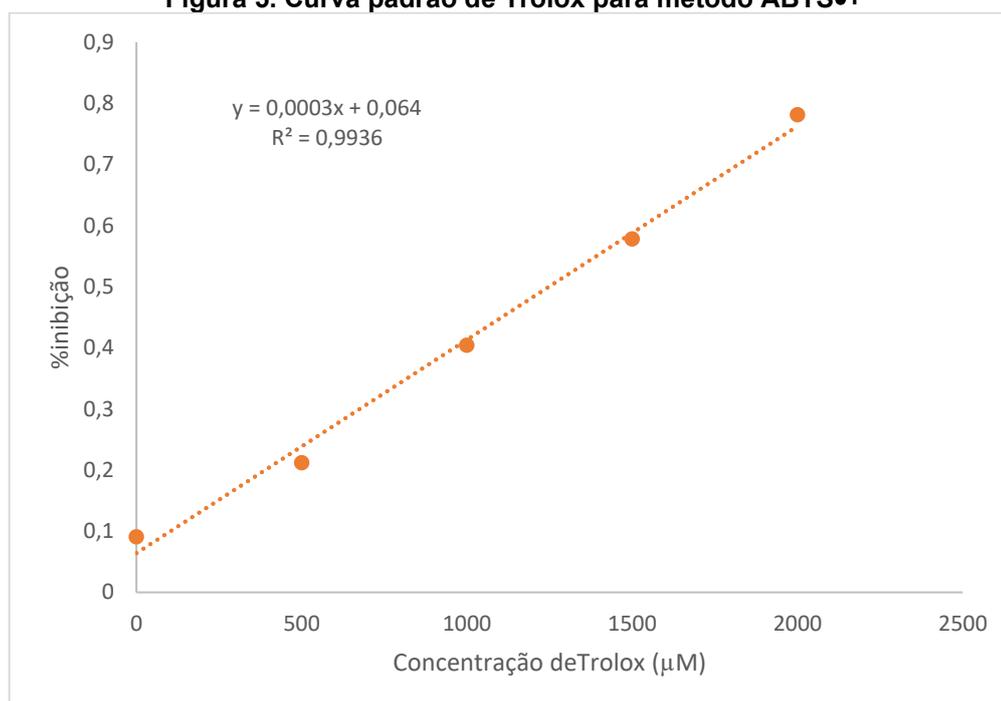
A partir das curvas padrões de ácido gálico e Trolox (Figuras 4 e 5), o TFT dos extratos obtidos em diferentes condições de extração, bem como sua capacidade de sequestro do radical ABTS, foram calculados e os valores de EAG e ET-ABTS estão apresentados na Tabela 2, que representa a matriz dos ensaios realizados no DCC2³ com os valores reais e codificados das variáveis estudadas, bem como os resultados obtidos.

Figura 4. Curva padrão de Ácido Gálico para o método Folin-Ciocalteu.



Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 5. Curva padrão de Trolox para método ABTS•+



Fonte: Autoria própria (2023)

Tabela 2 – Matriz do DCC2³ (valores reais e codificados) com as respostas dos métodos FOLIN e ABTS

ENSAIO	x_1^a	x_2^b	x_3^c	EAG * (mg AG/g)	ET-ABTS * (µmol Trolox/g)
1	-1(20)	-1(0)	-1(30)	19,97 ± 0,94	9,40 ± 0,78
2	1(75)	-1(0)	-1(30)	28,61 ± 1,07	15,40 ± 0,64
3	-1(20)	1(100)	-1(30)	31,3 ± 2,57	78,20 ± 3,39
4	1(75)	1(100)	-1(30)	44,19 ± 0,42	68,20 ± 2,10
5	-1(20)	-1(0)	1(100)	23,88 ± 1,04	27,40 ± 1,23
6	1(75)	-1(0)	1(100)	38,41 ± 2,74	14,80 ± 0,64
7	-1(20)	1(100)	1(100)	46,30 ± 3,41	84,60 ± 2,01
8	1(75)	1(100)	1(100)	48,08 ± 2,39	71,00 ± 1,67
9	0(47,5)	0(50)	0(65)	31,50 ± 0,62	18,00 ± 0,60
10	0(47,5)	0(50)	0(65)	31,72 ± 0,87	18,20 ± 0,31
11	0(47,5)	0(50)	0(65)	31,25 ± 0,72	16,80 ± 0,60

* Média ± erro padrão; ^a Temperatura (°C); ^b Proporção de etanol v/v (%); ^c Amplitude de Potência do ultrassom (%).

Fonte: Autoria própria (2023)

Para o método ABTS•+ (Tabela 2) a concentração de compostos antioxidantes variou entre $84,60 \pm 2,02$ e $9,40 \pm 0,79$ $\mu\text{mol Trolox-Eq/g}$ amostra, nos ensaios 7 e 1 respectivamente.

No ensaio 7 foi obtida a melhor resposta para atividade antioxidante ($84,60 \pm 2,02$ $\mu\text{mol Trolox-Eq/g}$ amostra), e esse valor foi superior ao encontrado por Ruiz moreno *et al.* (2015), para extrato derivado dos engaços da variedade de uva Syrah, cuja atividade antioxidante encontrada foi de $61,01$ $\mu\text{MTrolox/g}$ para condições de extração de temperatura de 75 °C, amplitude de ultrassom em 70% e com proporção de etanol 80 para 20 de água no solvente, o que mostra que a variedade de uva Benitaka apresenta-se como uma fonte promissora e natural de compostos antioxidantes em seu subproduto (caule).

Para o método Folin-Ciocalteu (Tabela 2) houve uma variação da concentração de compostos fenólicos, entre $48,08 \pm 2,39$ (mg AG/g) e $19,97 \pm 0,94$ (mg AG/g) (ensaio 7 e 1, respectivamente).

No ensaio 8 foi obtido o maior valor para TFT ($48,08 \pm 2,39$ mg AG/g), e esse valor foi superior ao encontrado por Drevelegka e Goula (2020) para o bagaço da uva Agiorgitiko, que obteve um TFT de $34,37 \pm 0,87$ mg AG/g em suas condições ideais de extração (temperatura de extração de 56 °C, um nível de amplitude de 34% e etanol aquoso 53%). Valor este que também se mostrou superior ao encontrado por Radojević *et al.* (2022), que obtiveram, para extração por maceração do caule de uva tinta, um valor de $30,00 \pm 0,07$ mg AG/g em seu extrato etanólico, o que reforça que a variedade estudada, demonstra-se promissora quanto ao teor fenólico.

Com base nos resultados da Tabela 2 foi possível determinar e avaliar os efeitos das três variáveis estudadas no processo de extração sobre as respostas de cada um dos métodos investigados, os quais estão apresentados na Tabela 3.

Para o método ABTS, a única variável com efeito significativo foi a proporção de etanol, sendo que este efeito foi positivo, ou seja, as maiores respostas foram observadas quando se utilizou as maiores proporções de etanol dentro da faixa estudada (0-100%), o que pode ser evidenciado pelos ensaios 3,7 e 8. Isto se dá pelo fato de que a polaridade do solvente extrator também tem grande influência sobre a solubilidade de compostos com atividade antioxidante durante a extração, sendo que a utilização de solventes hidroalcológicos são os mais adequados para matrizes alimentícias (GERKE, 2016).

Tabela 3 - Efeito dos fatores estudados no DCC2³ para os métodos ABTS^{•+} e Folin-Ciocalteu

Fatores	ABTS ($\mu\text{mol Trolox-Eq/g}$)				Folin-Ciocalteu (mg AG-Eq/g)			
	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	38,36	6,38	6,00	0,0038*	34,12	1,20	28,25	<0,0000*
x_1^a	-7,55	14,98	-0,50	0,6408	9,44	2,83	3,33	0,0290*
x_2^b	58,75	14,98	3,92	0,0172*	14,76	2,83	5,21	0,0064*
x_3^c	6,65	14,98	0,44	0,6801	8,13	2,83	2,87	0,0453*
x_1x_2	-4,25	14,98	-0,28	0,7907	-2,14	2,83	-0,75	0,4920
x_1x_3	-5,55	14,98	-0,37	0,7298	-1,29	2,83	-0,45	0,6722
x_2x_3	-2,05	14,98	-0,13	0,8977	1,27	2,83	0,45	0,6754

Os efeitos são apresentados em $\mu\text{mol Trolox-Eq/g}$ para o teste com ABTS e mg AG-Eq/g para o Folin-Ciocalteu; * $p \leq 0,05$; ^a x_1 : temperatura ($^{\circ}\text{C}$); ^b x_2 : Proporção etanol v/v (%); ^c x_3 : amplitude de frequência do ultrassom.

Fonte: Autoria própria (2023)

Ainda para o método ABTS (Tabela 3), a variável temperatura não apresentou efeito significativo ($p > 0,05$), porém ainda sim, observou-se um efeito negativo desse parâmetro, o que indica que o uso de maiores temperaturas de extração resulte em menores respostas. Takikawa (2014) demonstrou em seu estudo que o tratamento térmico em altas temperaturas, induz ao decréscimo na atividade sequestradora de radicais, sendo responsável para a degradação da atividade antioxidante.

A amplitude de potência do ultrassom também não apresentou efeito significativo sobre as respostas de atividade antioxidante obtidas pelo método ABTS, embora este tenha sido positivo, o que indica que o uso de qualquer valor dentro da faixa estudada resultou em valores estatisticamente semelhantes para a resposta ($p > 0,05$).

Para a resposta obtida pelo método de Folin Ciocalteu, as três variáveis estudadas apresentaram efeitos positivos e significativos ($p < 0,05$), de modo que o uso das variáveis nos níveis superiores dentro das faixas estudadas, resultou em teores de compostos fenólicos totais mais elevados, o que pode ser evidenciado no ensaio 8.

Foi demonstrado por Gambin (2020), que para a extração de compostos fenólicos totais, a temperatura, concentração de etanol e potência de ultrassom também exerceu diferença significativa ($p < 0,05$) e apresentaram efeitos positivos nas respostas do método Folin-Ciocalteu.

Ressalta-se que de forma geral, para ambos os métodos estudados, os maiores resultados foram encontrados quando utilizado a maior proporção de etanol no solvente, demonstrando que para a extração de compostos fenólicos do caule, é necessária a utilização do solvente orgânico, o que proporciona maior atividade antioxidante comprovada pelo método de ABTS, o que fica evidenciado nos ensaios 3, 4, 7 e 8. Segundo Ghitescu *et al.* (2015), o aumento da concentração de etanol acelera a transferência de massa entre o líquido e o sólido, proporcionando o aumento de solubilidade dos compostos fenólicos.

Os modelos codificados de regressão para o método ABTS e para o método Folin Ciocalteu estão apresentados nas Equações 2 e 3, respectivamente. No modelo para a resposta do método ABTS foram mantidos os coeficientes de regressão das três variáveis estudadas, para melhor ajuste (R^2).

$$Y_1 = 38,36 - 3,77x_1 + 29,38 x_2 + 3,33 x_3 \quad (2)$$

Onde: Y_1 – ABTS; x_2 – Proporção de etanol v/v(%)

$$Y_2 = 34,12 + 4,72 x_1 + 7,38 x_2 + 4,07 x_3 \quad (3)$$

Onde: Y_2 – FOLIN; x_1 – Temperatura ($^{\circ}\text{C}$); x_2 – Proporção de etanol v/v (%); x_3 – Amplitude de Potência do ultrassom (%)

Os resultados da análise de variância (ANOVA) estão apresentados na Tabela 4, de modo que ambos os modelos podem ser considerados válidos para a obtenção das superfícies de resposta apresentadas nas Figuras 6 (método ABTS) e 7 (método Folin Ciocalteu).

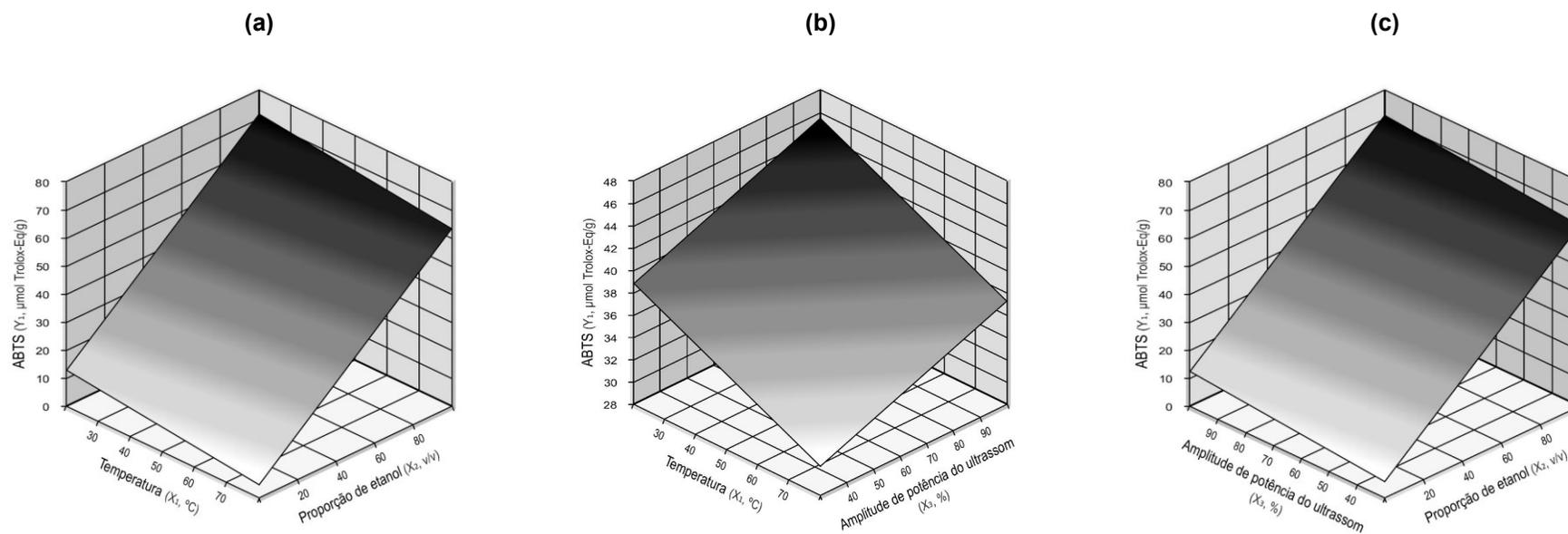
Tabela 4 – Anova dos modelos gerados para as respostas de Folin-Ciocalteu e ABTS•+

Fonte de variação	ABTS•+			FOLIN		
	<i>Regressão</i>	<i>Resíduos</i>	<i>Total</i>	<i>Regressão</i>	<i>Resíduos</i>	<i>Total</i>
Sq ^a	7105,6	1902,4	9008,0	746,8	79,9	826,8
GL ^b	3	7	10,0	3	7	10
QM ^c	2368,5	271,8		248,9	11,4	
Fcalculado	8,7			21,8		
p-valor	0,0092			0,00063		
	$R^2 = 79\%$			$R^2 = 90\%$		

^a soma de quadrados; ^b graus de liberdade; ^c quadrados médios

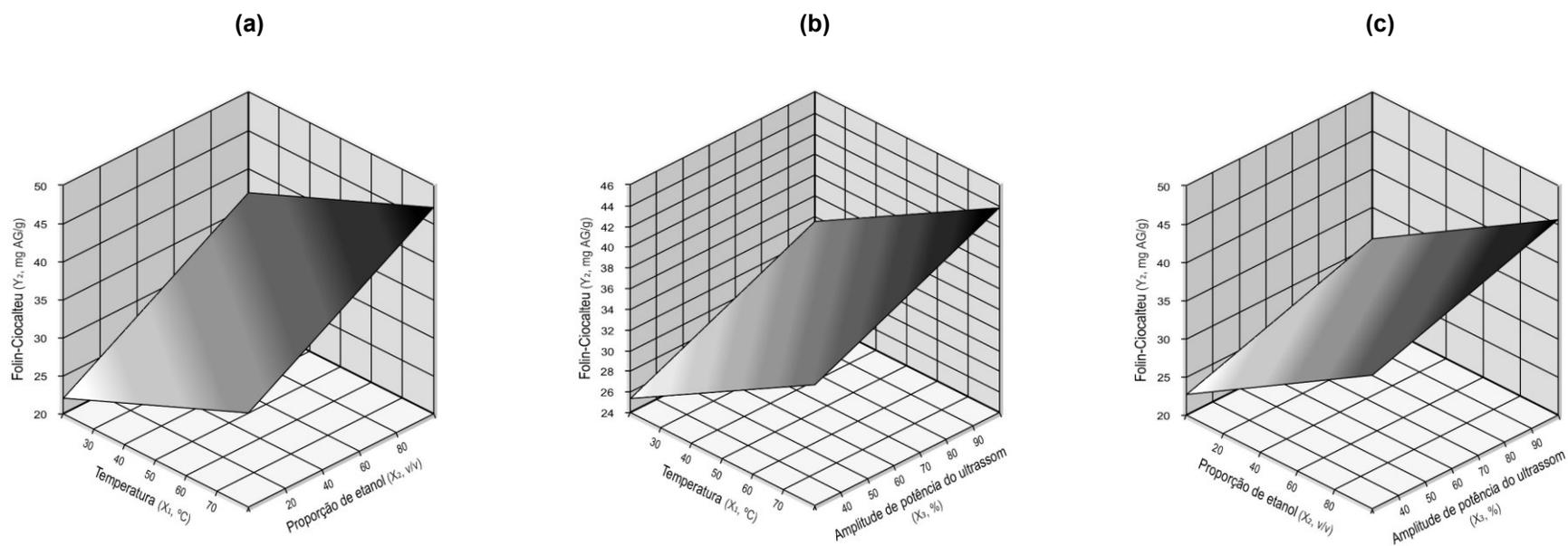
Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 6 - Superfícies de respostas (a) Temperatura versus Proporção de etanol, (b) Temperatura versus Amplitude de potência de ultrassom e (c) Amplitude de potência do ultrassom versus Proporção de etanol, para o ABTS+ (µmol Trolox/g)



Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 7 - Superfícies de respostas (a) Temperatura versus Proporção de etanol, (b) Temperatura versus Amplitude de potência de ultrassom e (c) Amplitude de potência do ultrassom versus Proporção de etanol para o Folin-Ciocalteu (mg AG-Eq/g)



Fonte: Autoria própria (2023)

Por meio da análise da superfície de resposta (Figura 6) nota-se que dentro da faixa investigada das variáveis independentes, as maiores respostas de atividade antioxidante pelo método ABTS ($\mu\text{mol Trolox/g}$) encontram-se dentro de uma região onde a proporção de etanol (v/v) está entre 80 a 100, onde a temperatura não exerce efeito significativo. Este fato comprova a baixa influência das temperaturas de extração nas respostas obtidas pelo método, o que torna possível operar o sistema em condições de maior eficiência energética (temperatura baixa) e obter resultados estatisticamente semelhantes para esta resposta.

Da mesma forma, é visto que a amplitude de potência de ultrassom, também tem as maiores respostas para atividade antioxidante quando trabalhadas em seu nível superior, mesmo que a variável não tenha se apresentado significativa ($p > 0,05$).

Já quando analisada a superfície de resposta das variáveis independentes proporção de etanol (v/v) *versus* temperatura (Figura 7 a), nota-se que dentro da faixa investigada, as maiores respostas de TFT (mgAG/g) foram obtidas em uma região em que a proporção de etanol (v/v) varia entre 80 a 100 e a temperatura entre 65 °C a 75 °C, ou nos níveis mais elevados. Neste caso, as variáveis independentes devem ser trabalhadas dentro destas faixas, pois ambos os parâmetros foram significativos ($p < 0,05$) para o método estudado.

Similarmente, por meio da análise da superfície de resposta da variável independente potência de ultrassom *versus* temperatura (Figura 7 b) observa-se que resultados mais expressivos de compostos fenólicos (mgAG/g) podem ser encontrados em níveis maiores, ou seja, na faixa de potência de ultrassom (%) entre 80 a 100 e na faixa de temperatura de 65 °C a 75 °C. Caso ocorra a diminuição de uma das variáveis independentes, o resultado de resposta será inferior, pois são ambos parâmetros significativos ($p < 0,05$) para o método estudado.

Da mesma forma, através da análise da superfície de resposta, Figura 7 (c), demonstra-se que há uma faixa que gera melhores resultados, para a extração de compostos fenólicos para os ensaios do método Folin-Ciocalteu quando estudados os parâmetros de proporção de etanol (v/v) entre 80 a 100 e de amplitude de potência (%) de 80 a 100. Neste caso, é indicado trabalhar os parâmetros independentes dentro destas faixas, pois são ambos parâmetros significativos ($p < 0,05$) para o método estudado e, caso ocorra a diminuição desses valores recomendados, conseqüentemente a resposta será menor.

A partir das superfícies de resposta e análise dos efeitos das variáveis, verificou-se que para o parâmetro de temperatura, pode-se trabalhar o nível inferior, visando redução de custos, porém, para a potência de ultrassom e proporção de etanol no solvente, deve-se trabalhar nos níveis superiores para a obtenção de maiores respostas de compostos fenólicos e com atividade antioxidante.

6 CONCLUSÃO

O caule da variedade Benitaka, apresentou baixa umidade em sua composição, como esperado, e também uma baixa representatividade dentro do cacho como um todo, devido ao grande tamanho dos frutos nessa variedade de uva. Porém, considerando a grande quantidade de consumo da uva, e assim, portanto, a grande geração de resíduos, torna-se um material cujo reaproveitamento é interessante.

Com base nas informações apresentadas nesse trabalho foi possível avaliar o processo de extração de compostos fenólicos e com atividade antioxidante do caule da uva, de forma a definir como os parâmetros operacionais investigados influenciam na obtenção de tais compostos.

Concluiu-se que os parâmetros para melhor extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante ocorreram com a utilização de maior proporção de etanol (v/v), maior amplitude de potência (%) e maior temperatura (°C) dentro das faixas estudadas.

Já para a atividade antioxidante pelo método ABTS, concluiu-se que a proporção de etanol (v/v) tem significância expressiva de aumento destes bioativos, com uso indicado no nível superior.

Com a análise, foi possível indicar o melhor uso dos parâmetros operacionais investigados, visando a obtenção de um extrato tanto com maior teor de compostos fenólicos como também de compostos antioxidantes, sendo eles: níveis superiores para a proporção de etanol no solvente e amplitude de potência, e nível inferior para a temperatura.

E por fim, para ambos os métodos foi possível gerar modelos válidos de obtenção da resposta de acordo com os parâmetros de extração significativos.

REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, E.; GILLESPIE, K. **Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent**. *Nature Protocols*, v. 2, p. 875-877, 2007.
- ANASTASIADI, M., PRATISINS, H., KLETSAS, D., SKALTSOUNIS, A. L., & HAROUTOUNIAN, S. A. (2012). **Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties**. *LWT- Food Science and Technology*, 48, 316–322. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.006>
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., & SAMMAN, S. (2006). **Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses**. *Food chemistry*, 99(1), 191-203, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>.
- BARROS, A., GIRONÉS-VILAPLANA, A., TEIXEIRA, A., COLLADO-GONZÁLEZ, J., MORENO, D. A., GIL-IZQUIERDO, A., ... & DOMÍNGUEZ-PERLES, R. (2014). **Evaluation of grape (*Vitis vinifera* L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly) phenolic compounds: A comparative study**. *Food Research International*, 65, 375-384, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.021>
- BLACKFORD, M.; COMBY, M.; ZENG, L.; DIENES-NAGY, Á.; BOURDIN, G.; LORENZINI, F.; BACH, B. **A Review on Stems Composition and Their Impact on Wine Quality**. *Molecules* 2021, 26, 1240. <https://doi.org/10.3390/molecules26051240>
- BOTH, S. KOUDOUS, I., JENELTEN, U. STRUBE, J. **Model-based equipment-design for plant-based extraction processes - considering botanic and thermodynamic aspects**. *Comptes Rendus Chimie*, v. 17, p. 187-196, 2014.
- BRENES, A., VIVEROS, A., CHAMORRO, S., & ARIJA, I. (2016). **Use of polyphenol-rich grape byproducts in monogastric nutrition. A review**. *Animal Feed Science and Technology*, 211 (Supplement C), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.016>.
- CAVALARI, T. G., & SANCHES, R. A. (2018). **Os efeitos da Vitamina C**. *Revista saúde em foco*, 749-765.
- CAVALARO, R. I., FABRICIO, L. F. F., VIEIRA, T. M. F. S. **Ultrasound-Assisted Extraction of Antioxidants from *Baccharis dracunculifolia* and Green Propolis. Processes** v. 8, pq 1530, 2020. doi:10.3390/pr8121530
- CEPEA – CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **PIB do agronegócio**. 2023. Disponível em:< [https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/PIB-DO-AGRONEGOCIO-2022.17MAR2023\(1\).pdf](https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/PIB-DO-AGRONEGOCIO-2022.17MAR2023(1).pdf) > Acesso em: 20 de abril 2023.
- CHEMAT, F., ROMBAUT, N., SICAIRE, A. G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A. S., & ABERT-VIAN, M. (2017). **Ultrasound assisted extraction of food**

and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.

DIAZ, A. B.; BLANDINO, A.; CARO, I. **Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues.** *Trends in Food Science and Technology*, v. 71, p. 52–64, 2018.

DOMÍNGUEZ-PERLES, R., GUEDES, A., QUEIROZ, M., SILVA, A. M., & BARROS, A. I.R.N.A.. (2016). **Oxidative stress prevention and anti-apoptosis activity of grape (*Vitis vinifera* L.) stems in human keratinocytes.** *Food Research International*, 87, 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.030>.

DOMÍNGUEZ-PERLES, R., MORENO, D. A., & GARCÍA-VIGUERA, C. (2018). **Waking up from four decades' long dream of valorizing agro-food byproducts: toward practical applications of the gained knowledge.** *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(12), 3069-3073.

DREVELEGKA, I., & GOULA, A. M. (2020). **Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes.** *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 149, 107845.

FAUSTINO M, VEIGA M, SOUSA P, COSTA EM, SILVA S, PINTADO M. **Agro-Food Byproducts as a New Source of Natural Food Additives.** *Molecules*. 2019; 24(6):1056. <https://doi.org/10.3390/molecules24061056>

FLORES-JIMÉNEZ, N. T., ULLOA, J. A., SILVAS, J. E. U., RAMÍREZ, J. C. R., ULLOA, P. R., ROSALES, P. U. B., ... & LEYVA, R. G. (2019). **Effect of high-intensity ultrasound on the compositional, physicochemical, biochemical, functional and structural properties of canola (*Brassica napus* L.) protein isolate.** *Food Research International*, 121, 947-956.

GALANAKIS, C. M. (Ed.). (2021). **Nutraceutical and functional food components: Effects of innovative processing techniques.** Academic Press.

GAMBIN, L. D. B. (2020). **Avaliação do potencial antitumoral de compostos fenólicos extraídos da goiaba-serrana (*acca sellowiana*) em células de melanoma cutâneo sk-mel-28.**

GERKE, I. B. B. **Extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) clarificado: extração em batelada e processamento por membranas. 2016. 40 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.** Disponível em: <http://hdl.handle.net/1884/42888>. Acesso em: 11 de maio de 2023

GHITESCU, R. E., VOLF, I., CARAUSU, C., BÜHLMANN, A. M., GILCA, I. A., & POPA, V. I. (2015). **Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark.** *Ultrasonics sonochemistry*, 22, 535-541.

GIROTTI, F., ALIBARDI, L., & COSSU, R. (2015). **Food waste generation and industrial uses: A review.** *Waste management*, 45, 32-41., ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.06.008>.

GONZALEZ-CENTENO, ´ M. R., ROSSELLO, ´ C., SIMAL, S., GARAU, M. C., LOPEZ, ´ F., & FEMENIA, A. (2010). **Physico-chemical properties of cell wall**

materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: Grape pomaces and stems. LWT - Food Science and Technology, 43(10), 1580–1586. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.024>.

GOUVINHAS, I., SANTOS, R. A., QUEIROZ, M., LEAL, C., SAAVEDRA, M. J., DOMÍNGUEZ-PERLES, R., ... BARROS, A. I. R. N. A. (2018). **Monitoring the antioxidant and antimicrobial power of grape (*Vitis vinifera* L.) stems phenolics over long-term storage.** Industrial Crops and Products, 126, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.006>.

GRILLO, G., BOFFA, L., TALARICO, S., SOLARINO, R., BINELLO, A., CAVAGLIÀ, G., ... & CRAVOTTO, G. (2020). **Batch and flow ultrasound-assisted extraction of grape stalks: Process intensification design up to a multi-kilo scale.** Antioxidants, 9(8), 730.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de Uva no Brasil.** 2022. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/explica/producaoagropecuaria/uva/brl>>. Acesso em 17 de mai. 2023.

JIMÉNEZ-MORENO N, VOLPE F, MOLER JA, ESPARZA I, ANCÍN-AZPILICUETA C. Impact of **Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Grape Stem Extracts.** Antioxidants. 2019; 8(12):597. <https://doi.org/10.3390/antiox8120597>

LEICHTWEIS, M.G.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; FERREIRA, I.C.F.R.; PEREIRA, C.; BARROS, L. **Sustainable Recovery of Preservative and Bioactive Compounds from Food Industry Bioresidues.** Antioxidants 2021, 10, 1827. <https://doi.org/10.3390/antiox10111827>

MAKRIS, D. P., BOSKOU, G., ANDRIKOPOULOS, N. K., & KEFALAS, P. (2008). **Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in grape (*Vitis vinifera* cv. Roditis) stems by liquid chromatography-mass spectrometry.** European food research and technology, 226, 1075-1079. 10.1007/s00217-007-0633-9.

MATEO, J.J., MAICAS, S., 2015. **Valorization of winery and oil mill wastes by microbial technologies.** Food Res. Int. 73, 1325. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.007>

MELO, P. S., ARRIVETTI, L. D. O. R., DE ALENCAR, S. M., & SKIBSTED, L. H. (2016). **Antioxidative and prooxidative effects in food lipids and synergism with α -tocopherol of açai seed extracts and grape rachis extracts.** Food chemistry, 213, 440-449, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.101>.

MELO, P.S., MASSARIOLI, A.P., DENNY, C., SANTOS, L.F., FRANCHIN, M., PEREIRA, G.E., SOUZA, T.M.F., ROSALEN, P.L., ALENCAR, S.M. **Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species.** Food Chemistry, v. 181, p. 160-169, 2015.

MISLATA AM, PUXEU M, FERRER-GALLEGO R. **Aromatic Potential and Bioactivity of Cork Stoppers and Cork By-Products**. *Foods*. 2020; 9(2):133. <https://doi.org/10.3390/foods9020133>

NIETO JA, SANTOYO S, PRODANOV M, REGLERO G, JAIME L. **Valorisation of Grape Stems as a Source of Phenolic Antioxidants by Using a Sustainable Extraction Methodology**. *Foods*. 2020; 9(5):604. <https://doi.org/10.3390/foods9050604>

RADOJEVIĆ, I. D., MLADENOVIĆ, K. G., GRUJOVIĆ, M. Ž., & VASIĆ, S. M. (2022). **Grape stalks as a source of antioxidant and antimicrobial substances and their potential application**. *Botanica Serbica*, 46(2), 179-186.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, M.Y.; RICE-EVANS, C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay**. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

ROMANINI, E. B., RODRIGUES, L. M., FINGER, A., CHIERRITO, T. P. C., DA SILVA SCAPIM, M. R., & MADRONA, G. S. (2021). **Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca²⁺ encapsulation**. *Food Chemistry*, 338, 128101.

RUIZ-MORENO, M. J., RAPOSO, R., CAYUELA, J. M., ZAFRILLA, P., PINEIRO, ~ Z., MORENOROJAS, J. M., et al. (2015). **Valorization of grape stems**. *Industrial Crops and Products*, 63, 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10>.

SANZ, V., LÓPEZ-HORTAS, L., TORRES, M. D., & DOMÍNGUEZ, H. (2021). **Trends in kiwifruit and byproducts valorization**. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 401-414., ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.010>.

SCHALCHLI, H., HORMAZÁBAL, E., RUBILAR, O., BRICEÑO, G., MUTIS, A., ZOCCOLO, G. J., & DIEZ, M. C. (2017). **Production of ligninolytic enzymes and some diffusible antifungal compounds by white-rot fungi using potato solid wastes as the sole nutrient source**. *Journal of applied microbiology*, 123(4), 886-895.

SCHNEIDER, V. E., PERESIN, D., TRENTIN, A. C., BORTOLIN, T. A., & SAMBUICHI, R. H. R. (2012). **Diagnóstico dos resíduos orgânicos do setor agroindustrial e agroindustriais associadas**.

SCHONS, J. I., FIORI, K. P., RIBEIRO, E. B., ANDRIGHETTI, C. R., NOGUEIRA, R., & VALLADÃO, D. D. S. (2017). **Ultrasound-assisted extraction and characterization of oil from Brazil nut (*Bertholletia excelsa* HBK)**. *Interciencia*, 42(9), 586-590.

SHAHIDI, F., & AMBIGAIPALAN, P. (2015). **Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review**. *Journal of functional foods*, Pages 820-897, ISSN 1756-4646, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.

SILVA, J. A., SILVA, F. L. H. D., ALVES, R. R. D. N., & SANTANA, D. P. D. (2006). **Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °Brix na produção dos**

metabólicos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. Química Nova, 29, 695-698.

SPIGNO, G., MARINONI, L., & GARRIDO, G. D. (2017). **State of the art in grape processing by-products.** Handbook of grape processing by-products, 1-27.

TAKIKAWA, A. Y. (2014). **Cinética de degradação térmica de antocianinas e seu impacto na cor e na capacidade antioxidante in vitro em frutas vermelhas** (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

WELLS, M. J., & YU, L. Z. (2000). **Solid-phase extraction of acidic herbicides.** Journal of chromatography A, 885(1-2), 237-250, ISSN 0021-9673, [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00206-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00206-5).

XIA, E.-Q.; DENG, G.-F.; GUO, Y.-J.; LI, H.-B. **Biological Activities of Polyphenols from Grapes.** Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 622-646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>

YIN, J. I. E., BECKER, E. M., ANDERSEN, M. L., & SKIBSTED, L. H. (2012). **Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems.** Food chemistry, 135(4), 2195-2202.