



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE**  
**ALIMENTOS**



**ROBERTA BARRETO DE ANDRADE**

**COMPOSTOS BIOATIVOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E**  
**ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CASCAS DE UVA DA VARIEDADE**  
***Syrah*: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS DE EXTRAÇÃO**

**SALVADOR – BA**  
**2019**

**ROBERTA BARRETO DE ANDRADE**

**COMPOSTOS BIOATIVOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CASCAS DE UVA DA VARIEDADE  
*Syrah*: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS DE EXTRAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade  
Federal da Bahia, como requisito parcial à obtenção do título de  
Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Andrés Umsza Guez

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bruna Aparecida Souza Machado

**SALVADOR – BA  
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Barreto de Andrade, Roberta  
COMPOSTOS BIOATIVOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CASCAS DE UVA DA  
VARIEDADE Syrah: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS  
DE EXTRAÇÃO / Roberta Barreto de Andrade. --  
Salvador, 2019.  
65 f. : il

Orientador: Marcelo Andrés Umsza Guez.  
Coorientador: Bruna Aparecida Souza Machado.  
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em  
Ciência de Alimentos) -- Universidade Federal da  
Bahia, Faculdade de Farmácia, 2019.

1. Syrah. 2. Fenólicos. 3. Flavonoides. 4.  
Sonificação. I. Andrés Umsza Guez, Marcelo. II. Souza  
Machado, Bruna Aparecida. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

## TERMO DE APROVAÇÃO

ROBERTA BARRETO DE ANDRADE

COMPOSTOS BIOATIVOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CASCAS DE UVA DA  
VARIEDADE *Syrah*: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS DE  
EXTRAÇÃO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 29 de julho de 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Marcelo Andrés Umsza Guez  
Universidade Federal da Bahia  
Orientador

---

Dr. Ederlan de Souza Ferreira  
Universidade Federal da Bahia

---

Dr.ª Samantha Serra Costa  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me abençoar, todos os dias, com a força necessária para buscar os meus sonhos.

Aos meus familiares e amigos, por todo apoio, amor e carinho. Em especial, ao meu afilhado Miguel, por ter sido tantas vezes o refúgio em que meu coração repousava em paz, e à minha mãe, Desirée, que sempre me encorajou e jamais duvidou do meu potencial.

Ao meu noivo, Neto, por compreender a minha ausência nos momentos em que me dediquei integralmente neste projeto. Obrigada por contribuir no meu amadurecimento e na minha vida.

Ao professor e orientador, Marcelo Umsza-Guez, que me conduziu durante todos estes meses. Obrigada pelos ensinamentos, pela paciência e por me ajudar a traçar novos rumos na minha carreira profissional.

À professora e coorientadora, Bruna Machado, por toda ajuda e disponibilidade. Trabalhar ao lado de quem se admira é inspirador.

À Universidade Federal da Bahia e à Faculdade de Farmácia, nunca haverão palavras suficientes para agradecer pela experiência. Mais do que um título acadêmico, a pós-graduação me tornou um ser humano melhor.

Aos grandes presentes que o mestrado me trouxe e levarei para sempre comigo: Andressa, Thâmilla, Pedro, Elba e Jéssica. Sem vocês, não teria sido a mesma coisa.

Ao SENAI/CIMATEC pela oportunidade de realizar a pesquisa em suas instalações e aos amigos do laboratório de alimentos e formulações, por todos os momentos alegria e troca de conhecimento. Principalmente, à Gabriele, o meu braço de direito durante todo o processo, serei eternamente grata pela sua generosidade.

À EMBRAPA Petrolina, em especial à Aline e Claudio, e aos colegas Laerte e Kathleen pela colaboração nas análises antimicrobianas.

À Organização Leão do Norte, por flexibilizar os meus compromissos de trabalho em prol dos estudos.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, me acompanharam e torceram por mim até este momento.

## LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de variância
C:25	Extrato controle elaborado à 25 °C
C:40	Extrato controle elaborado à 40 °C
C:50	Extrato controle elaborado à 50 °C
C:60	Extrato controle elaborado à 60 °C
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DPPH	2,2-difenil 1-picrilhidrazila
E:25-20	Extrato elaborado à 25 °C e 20 minutos de aplicação ao ultrassom
E:40-10	Extrato elaborado à 40 °C e 10 minutos de aplicação ao ultrassom
E:40-20	Extrato elaborado à 40 °C e 20 minutos de aplicação ao ultrassom
E:40-30	Extrato elaborado à 40 °C e 30 minutos de aplicação ao ultrassom
E:50-10	Extrato elaborado à 50 °C e 10 minutos de aplicação ao ultrassom
E:50-20	Extrato elaborado à 50 °C e 20 minutos de aplicação ao ultrassom
E:50-30	Extrato elaborado à 50 °C e 30 minutos de aplicação ao ultrassom
E:60-10	Extrato elaborado à 60 °C e 10 minutos de aplicação ao ultrassom
E:60-20	Extrato elaborado à 60°C e 20 minutos de aplicação ao ultrassom
E:60-30	Extrato elaborado à 60°C e 30 minutos de aplicação ao ultrassom
EAG	Equivalente em ácido gálico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EQ	Equivalente em quercetina
EU	Extração por ultrassom
FAO	Food and Agriculture Organization
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAVIN	Instituto Brasileiro de Vinho
OIV	Organização Internacional da Vinha e do Vinho
SENAI	Serviço Nacional de Aprendizagem Indústria
UVIBRA	União Brasileira de Vitivinicultura
VSF	Vale do São Francisco

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1</b> - Produção de uvas no Brasil, em toneladas, entre 2014 a 2017.....	17
<b>Tabela 2</b> - Produção de vinhos, sucos e derivados do Rio Grande do Sul, em litro...	18
<b>Tabela 3</b> - Dados de exportação de produtos de uvas brasileiros em 2017.....	19

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 4</b> - Extratos obtidos em diferentes condições de extração com ou sem aplicação de ultrassom.....	40
<b>Tabela 5</b> - Efeito das condições de processo para o teor de flavonoides e atividade antioxidante do extrato.....	46
<b>Tabela 6</b> - Valores médios e desvio padrão das concentrações dos compostos fenólicos quantificados nas amostras de extratos de cascas de uvas da variedade <i>Syrah</i> elaborados em diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao ultrassom.....	49

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1</b> - Infográfico dos países produtores de uva (var. <i>Syrah</i> ).....	20
<b>Figura 2</b> - Bagaço de uva.....	21
<b>Figura 3</b> - Cascas de uva (var. <i>Syrah</i> ).....	22
<b>Figura 4</b> - Solução DPPH em meio a extrato com ação antioxidante e etanol 80% (esq.); solução DPPH em meio a etanol 80% (dir.).....	24
<b>Figura 5</b> - Estrutura básica do flavonoide.....	25
<b>Figura 6</b> - Estrutura da antocianina.....	26

### CAPÍTULO II

<b>Figura 7</b> - Efeito do tempo e temperatura de aplicação de ultrassom nas concentrações dos fenólicos totais presentes nos extratos de casca de uva.....	44
<b>Figura 8</b> - Teor de compostos fenólicos, por grupo, presente nos extratos de casca de uva.....	54
<b>Figura 9</b> - Atividade antimicrobiana do extrato de casca de uva.....	56



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. OBJETIVO GERAL.....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14

### CAPÍTULO I

#### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. UVA.....	16
3.1. Produção da uva.....	16
3.2. Produção de vinhos, sucos e derivados.....	17
4. VARIEDADES DE UVAS.....	19
4.1. Variedade Syrah.....	19
5. BAGAÇO DE UVAS.....	20
5.1. Cascas.....	21
5.2. Compostos fenólicos presentes nas cascas de uvas.....	22
5.3. Atividade antioxidante.....	23
5.4. Atividade antimicrobiana.....	24
5.5. Flavonoides.....	25
5.6. Antocianinas.....	26
6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	27
6.1. Extração por ultrassom.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

### CAPITULO II

#### INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM ULTRASSOM NAS CARACTERÍSTICAS BIOATIVAS DE EXTRATO DE CASCAS DE UVAS

8. INTRODUÇÃO.....	37
--------------------	----

<b>9. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	39
9.1. Amostra.....	39
9.2. Extração alcóolica.....	39
9.3. Métodos analíticos.....	40
9.3.1. Compostos fenólicos.....	40
9.3.2. Teor de flavonoides.....	41
9.3.3. Atividade antioxidante.....	41
9.4. Determinação do perfil fenólico.....	41
9.5. Atividade antibacteriana e antifúngica.....	42
9.5.1. Bactéria e meio de cultura.....	42
9.5.2. Avaliação de atividade antibacteriana.....	42
9.5.3. Atividade antifúngica.....	43
9.6. Análise estatística.....	43
<b>10. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	43
10.1. Determinação da concentração de fenólicos e atividade antioxidante.....	43
10.2. Perfil fenólico dos extratos.....	48
10.3. Atividade antimicrobiana.....	55
<b>11. CONCLUSÃO</b> .....	57
<b>12. AGRADECIMENTOS</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	57

## RESUMO

O resíduo de uvas (bagaço), constituído por cascas, sementes e engaço, é um subproduto oriundo da fabricação de sucos e vinhos, ricos em compostos bioativos remanescentes da etapa de maceração e fermentação. Contudo, o bagaço de uva é, muitas vezes, descartado ou utilizado em atividades de baixo valor agregado, como ração animal e compostagem. Na literatura, diversos estudos são desenvolvidos com o intuito de recuperar estes compostos de grande relevância que permanecem no bagaço de uva. Este trabalho, portanto, teve como finalidade a avaliação do potencial antioxidante e o perfil fenólico de extratos obtidos a partir de cascas de uva da variedade *Syrah* pelo método de extração por ultrassom em diferentes condições. As cascas de uva usada foram disponibilizadas por vinícolas da região do Vale do Submédio do São Francisco (PE/BA, Brasil). A extração com pré-tratamento por ultrassom foi aplicada nos tempos de 0, 10, 20 e 30 minutos, com temperaturas de 25, 40, 50 e 60 °C para a elaboração dos extratos de casca de uva com etanol 80%. Todos os extratos foram submetidos às análises de compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante. Em seguida, os extratos que apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante para cada temperatura aplicada, foram utilizados para a avaliação de atividade antimicrobiana e antifúngica, além de análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a determinação do perfil fenólico das amostras. Os resultados obtidos indicaram que, os extratos expostos a 20 minutos no ultrassom foram os que alcançaram maior atividade antioxidante, com intervalo de 0,21 e 0,24 mg.mL<sup>-1</sup> para CE<sub>50</sub>, em todas as temperaturas testadas. Dentre as amostras, o extrato obtido a 60 °C com 20 minutos de exposição ao ultrassom mostrou potencial antioxidante mais significativo, assim como a maior quantidade de flavonoides (0,40±0,04 mgEAG.g<sup>-1</sup>). Para o teor de compostos fenólicos, o extrato elaborado a 60°C sem o uso de ultrassom foi o que atingiu melhores resultados, com o valor de 7,59 mg EAG.g<sup>-1</sup> para fenólicos totais e quercetin-3-β-D-glucoside e malvidin-3-O-glucoside como o composto majoritário entre as antocianinas. Para o teste de atividade antimicrobiana, o extrato exposto a 20 minutos de ultrassom a 40 °C foi o único que inibiu o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas várias concentrações testadas. Portanto, o estudo evidencia que a exposição à temperatura de 60 °C foi a mais favorável para a extração de compostos bioativos e, quando combinado à aplicação de 20 minutos de ultrassom, favorece a capacidade antioxidante. Outros estudos tornam-se interessantes para a finalidade de aplicação destes resultados para a reutilização de maior eficiência para a casca da uva.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera*, bioativos, fenólicos, ultrassom.

## ABSTRACT

The grape pomace, made of peel, seeds and stink, is a by-product derived from juices and wine manufacture, rich in bioactive compounds remaining from the maceration and fermentation stage. Grape pomace is often wasted or used in low-impact activities such as animal feed and composting. In the literature, several studies are developed with the purpose of recovering these compounds with great relevance that remain in grape pomace. The main of this study was to evaluate the antioxidant activity and phenolic profile of extracts obtained from *Syrah* grape peels by the method of extraction using ultrasound in different conditions. The grape pomace used as sample was offering by the wineries from Submédio do São Francisco Valley (PE/BA, Brazil). Ultrasound pre-treatment extraction was applied for 10, 20 and 30 minutes on the temperature of 40, 50 and 60°C for the preparation of the grape peel extracts with ethanol 80%. All the extracts were submitted to the analysis of total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity. Then, the extracts that presented the highest values for antioxidant activity results, were used for antimicrobial and antifungal evaluate, as well as high performance liquid chromatography (HPLC) analysis to evaluate the phenolic profile. The results showed that the extracts exposed for 20 minutes to the ultrasound were those that reached higher antioxidant activity, with a range of 0.21 and 0.24 mg.mL<sup>-1</sup> for EC<sub>50</sub>, at all temperatures tested. Among the samples, the extract obtained at 60 °C with 20 minutes of exposure to the ultrasound showed the antioxidant potential more significant, as well as the greater amounts of flavonoids (0.40±0.04 mgEAG.g<sup>-1</sup>). For the phenolic content, the extract prepared at 60 °C without using ultrasound reached the most promising results, with a value of 7.59 mg EAG.g<sup>-1</sup> for total phenolics and quercetin-3-β-D-glucoside and malvidin-3-O-glucoside as the most abundant compounds in anthocyanins group. The antimicrobial activity test had the extract exposed to 20 minutes of ultrasound at 40 °C as the only one that inhibited the growth of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the various concentrations tested. Therefore, the study shows that the exposure to the temperature of 60 °C was the most favorable for the extraction of bioactive compounds and, when combined with the application of 20 minutes of ultrasound, increase the antioxidant capacity. Other studies become interesting for the purpose of applying these results to the re-use of higher efficiency for the grape skin.

**Key-words:** *Vitis vinifera*, bioactive, phenolics, ultrasound.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As uvas (*vitis sp*) são frutas utilizadas para a produção de vinhos e sucos, ricas em não-flavonoides (ácido 4-hidroxibenzoico e seus derivados) e flavonoides (antocianinas, flavan-3-óis, flavonóis, di-hidroflavonol) (BOULTON, 2001). No Nordeste brasileiro, situa-se a região do Vale Submédio do São Francisco (VSF), onde estão localizadas empresas produtoras de uvas de mesa, fabricação de vinhos e, recentemente, sucos (MELLO, 2018). Dentre as variedades de uva tintas (*Vitis vinífera*) encontradas no país, a *Syrah* apresenta boa performance para o cultivo nas condições semi-áridas que acometem o VSF (GUERRA, 2005).

Após o processamento das uvas, são formados, em grandes quantidades, resíduos de baixo valor econômico, geralmente, subutilizados para compostagem ou empregados em ração animal (KUREK *et al.*, 2019; TEIXEIRA *et al.*, 2014). Este resíduo, chamado de bagaço de uva, constituído de cascas, sementes e engaços, representa prejuízos ambientais e problemas de descarte para as vinícolas (FERRI *et al.*, 2016). Contudo, o bagaço de uva apresenta-se como excelente fonte de compostos fenólicos com relevante atividade antioxidante (BUCIC-KOJIC *et al.*, 2013), capaz de proporcionar efeitos benéficos à saúde humana (ZHU *et al.*, 2015).

Devido à sua atividade biológica, diversos estudos têm sido desenvolvidos nos últimos anos com o intuito de avaliar diferentes métodos de extração dos compostos bioativos encontrados nas cascas e sementes de uvas (CALDAS *et al.*, 2018). Os compostos bioativos presentes em plantas, comumente, são obtidos por extração de líquido-sólido, aquecimento, infusão ou moagem (KUREK *et al.*, 2019). No entanto, estas técnicas convencionais de extração possuem grandes desvantagens para a sua eficiência, uma vez que afetam a estabilidade dos polifenóis e usam grandes quantidades de solventes que colaboram para a poluição ambiental (DROSOU *et al.*, 2015; TSALI GOULA, 2019).

Novos métodos de extração, como a aplicação de ultrassom (extração ultrassônica - EU), vêm sendo investigados, visando maior rendimento e melhores condições para o processo (HELENO *et al.*, 2015). A EU é uma técnica promissora que favorece a penetração do solvente nos materiais celulares, aumentando a transferência de massa, além de romper as paredes celulares e facilitar a liberação dos compostos fenólicos (GIACOMETTI *et al.*, 2018; WANG e WELLER, 2006). Outra vantagem associada a EU é o menor tempo requisitado para a obtenção do extrato em relação aos métodos

convencionais, por conta da redução do tamanho das partículas, elevando a superfície de contato entre as fases sólidas e líquidas (CASAZZA *et al.*, 2010). A literatura afirma que maiores temperaturas podem proporcionar melhor extração dos compostos fenólicos, assim como a degradação dos mesmos por meio da oxidação (CARRERA *et al.*, 2012), portanto torna-se necessária tecnologias adequadas para isolar os compostos bioativos sem que haja modificações adversas em suas estruturas e propriedades fisiológicas (JU e HOWARD, 2005).

## REFERÊNCIAS

BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 197, p. 39–46, 2001.

BUCIC-KOJIC, A., SOVOVÁ, H., PLANINIC, M., TOMAS, S. Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: Experiment and model. **Food Chemistry**, v. 136, p. 1136-1140, 2013.

CALDAS, T. W., MAZZA, K. E. L., TELES, A. S. C., MATTOS, G. N., BRÍGIDA, A. I. S., CONTE-JUNIOR, C. A., BORGUINI, R. G., GODOY, R. L. O., CABRAL, L. M. C., TONON, R. V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non- conventional extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 86-91, 2018.

CARRERA, C., RUIZ-RODRÍGUEZ, A., PALMA, M. BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100-104, 2012.

CASAZZA, A. A., ALIAKBARIAN, B., MANTEGNA, S., CRAVOTTO, G., PEREGO, P. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 50-55, 2010.

DROSOU, C., KYRIAKOPOULOU, K., BIMPILAS, A., TSIMOGIANNIS, D., e KROKIDA, M. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 141-149, 2015.

FERRI, M., BIN, S., VALLINI, V., FAVA, F., MICHELINI, E., RODA, A., MINNUCCI, G., BUCCHI, G., TASSONI, A. Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. **New Biotechnology**, v. 33, p. 338-344, 2016.

GIACOMETTI, J., ŽAUHAR, G., ŽUVIC, M. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Major Phenolic Compounds from Olive Leaves (*Olea europaea L.*) Using Response Surface **Methodology. Foods**, v. 7, p. 2-14, 2018.

GUERRA, C.C., MANDELLI, F., TONIETTO, J., ZANUS, M. C., CAMARGO, U. A. **Conhecendo e essencial sobre uvas e vinhos**. Embrapa. Documento n 48. Bento Gonçalves; RS, 2005.

HELENO, S. A., DIZ, P., PRIETO, M. A., BARROS, L., RODRIGUES, A., BARREIRO, M. F., FERREIRA, I. C. F. R. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus L.* by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1054-1063, 2016.

JU, Z.Y., HOWARD, L.R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 270-276, 2005.

KUREK, M., HLUPIĆ, L., GAROFULIĆ, I. L., DESCOURS, E., ŠČETARA, M., GALIĆ, K. Comparison of protective supports and antioxidative capacity of two bio-based films with revalorised fruit pomaces extracted from blueberry and red grape skin. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, 100315, 2019.

MELLO, L. M. R. (2018). **Vitivinicultura brasileira: panorama 2017**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/187913/1/Comunicado-Tecnico-207.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2019

TEIXEIRA, A., BAENAS, N., DOMINGUEZ-PERLES, R., BARROS, A., ROSA, E., MORENO, D. A., GARCIA-VIGUERA, C. Natural Bioactive Compounds from Winery By-Products as Health Promoters: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638-15678, 2014.

TSALI, A., GOULA, A. M. Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. **Powder Technology**, v. 340, p. 194-207, 2018.

WANG, L., WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006.

ZHU, F., DU, B., ZHENG, L., LI, J. Advance on the bioactivity and potential applications of dietary fibre from grape pomace. **Food Chemistry**, v. 186, p. 207-212, 2015.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos das variáveis de extração (temperatura e tempo de aplicação do ultrassom) nas características bioativas dos extratos obtidos da casca de uva (var. *Syrah*).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Produzir extratos utilizando diferentes tempos e temperaturas para a aplicação do ultrassom.

Avaliar o teor de compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante dos extratos obtidos.

Determinar a atividade antimicrobiana dos extratos considerados promissores a partir da capacidade antioxidante e concentração fenólica.

Determinar o perfil fenólico dos extratos que apresentaram as melhores características bioativas.



## **CAPÍTULO I**

---

### 3 UVA

A videira (*Vitis sp.*), planta responsável pela formação da uva, apareceu no período terciário, há milhões de anos antes do surgimento do homem, tornando-se uma das plantas de cultivo mais antigo já relatado (ALVARENGA, 1998). Dados históricos revelam que a videira teve o seu cultivo introduzido no Brasil por colonizadores portugueses, por volta do ano de 1532, na Capitania São Vicente, atual estado de São Paulo (BOTELHO, 2018).

Oriundas da família *Vitaceae*, as uvas são frutos não climatéricos, ricos em inúmeros compostos secundários com propriedades bioativas (polifenóis) que possuem ações antioxidante, anti-inflamatória, anti-tumoral e antimicrobiana (AMRI e HOSSAIN, 2018; PEIXOTO *et al.*, 2018).

#### 3.1 Produção de uvas

Segundo informações fornecidas pela CONAB (2017), 39% das uvas produzidas no mundo são provenientes do continente europeu, 34% da Ásia, 18% da América e, 9% da Oceania e África. As uvas estão entre as frutas com maior colheita anual no mundo, apresentando uma quantidade superior a 67 milhões de toneladas de baga, sendo 80% deste número destinados à viticultura (ANTONIOLLI *et al.*, 2015).

A viticultura representa uma atividade de grande importância para a economia brasileira, contribuindo para a sustentabilidade da agricultura familiar e industrial, e geração de empregos (DANNER *et al.*, 2009, MELLO, 2011; PROTAS *et al.*, 2002). Em 2017, o Brasil produziu 1.680.020 toneladas de uvas, destacando os estados do Rio Grande do Sul e Pernambuco, que apresentaram valores de produção recorde (956.913 e 390.300 toneladas, respectivamente). Já a área destinada a atividade da vitivinicultura em 2017 sofreu uma redução, quando comparado a 2016, passando de 78.553 para 78.028 hectares (MELLO, 2018).

As uvas são cultivadas em diferentes estados do país, no entanto, as maiores produções concentram-se nas regiões sul, sudeste e nordeste. Em meio as áreas produtoras de uvas no país, encontra-se o Vale Submédio do São Francisco (VSF), onde ocorreram os primeiros investimentos para a vitivinicultura local entre as décadas de 1970 e 1980. Situado no nordeste brasileiro, o VSF está suscetível ao predominante clima semi-árido, caracterizado pela baixa pluviosidade, elevadas temperaturas e grande incidência solar.

Este perfil favorece a menor ocorrência de problemas fitossanitários o que, por vez, provoca melhorias à qualidade dos frutos. Através do manejo apropriado da irrigação e poda das videiras, o ciclo de produção das uvas no VSF oscila em torno de 120 dias, possibilitando até duas safras anuais (LEÃO, 2003; SOUSA *et al.*, 2014).

### 3.2 Produção de vinhos, sucos e derivados

As uvas podem ser consumidas frescas ou através de seus produtos de beneficiamento processados. Existem diversos produtos originados a partir da uva, como por exemplo: sucos, vinhos, geleias, uvas passas, vinagres, entre outros; e esta ampla variedade pode ser justificada devido à alta perecibilidade da fruta (FAO, 2016).

A Tabela 1 apresenta a quantidade de uvas no Brasil utilizadas para serem consumidas processadas ou *in natura*, durante os anos de 2014 a 2017. Estes dados mostram que, entre os anos de 2014 e 2016, houve uma queda para a produção de uvas destinadas para o consumo *in natura*. Em contrapartida, as uvas usadas para o processamento tiveram um aumento entre os anos de 2014 e 2015 de 14%, seguido de uma diminuição de mais da metade da produção para o ano de 2016. Contudo, durante o ano de 2017, verificou-se um aumento de 58% para as uvas submetidas ao processamento e 41% para o total de uvas produzidas.

**Tabela 1** - Produção de uvas no Brasil, em toneladas, entre 2014 a 2017.

<b>Discriminação</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>
Processamento <sup>1</sup>	673.422	781.412	345.623	818.783
Consumo <i>in natura</i>	762.652	748.023	641.436	861.237
<b>Total <sup>2</sup></b>	<b>1.436.074</b>	<b>1.499.353</b>	<b>987.059</b>	<b>1.680.020</b>

*Fonte: Adaptada - <sup>1</sup>Dados estimados pelo autor, com base nos dados de uvas processadas do Rio Grande do Sul e produção de sucos e vinhos de outros estados baseada em entrevistas a produtores e associações; <sup>2</sup>IBGE, 2018.*

A região sul representa a maior produção nacional da uva, em torno de 75%, com ênfase para o Rio Grande do Sul, estado que, no ano de 2017, deu origem a 605,96 milhões de litros de vinhos, sucos e derivados. Na Tabela 2, encontra-se detalhado a quantidade de produtos fabricados no Rio Grande do Sul entre os anos de 2015 e 2017. Verifica-se um aumento de 147% entre os valores totais dos anos de 2016 e 2017, porém

é importante salientar que, durante o ano de 2016, problemas climáticos acometeram a região, reduzindo em 53% a sua produção de uvas (MELLO, 2018). Está evidenciado também que o vinho de mesa é o principal produto de beneficiamento da uva no Rio Grande do Sul, apresentando em 2017 um volume produzido que corresponde a 42% da quantidade total de produtos fabricados.

**Tabela 2** - Produção de vinhos, sucos e derivados do Rio Grande do Sul, em litros.

<b>Produtos</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>
Vinho de mesa	210.308.560	86.319.015	255.015.187
Vinho fino	37.148.982	18.070.626	44.537.870
Suco de uva integral	52.233.155	31.117.869	46.865.625
Suco concentrado	178.306.565	55.462.600	150.296.355
Mosto simples	100.911.592	49.770.993	101.010.115
Outros derivados	4.106.899	4.179.323	8.232.898
<b>Total</b>	<b>583.015.753</b>	<b>244.920.424</b>	<b>605.958.050</b>

Fonte: Adaptada - Ibravin e Uvibra (2017)

O Rio Grande do Sul também corresponde ao maior produtor de suco de uva no país. De forma geral, as castas Isabel, Concord e Bordô, todas pertencentes à espécie *Vitis labrusca*, são utilizadas para a fabricação de sucos. A produção de sucos de uva, devido ao aprimoramento tecnológico, expansão da área de produção e mudança nos hábitos de consumo da população, encontra-se em ascensão. No ano de 1995, o consumo per capita de suco de uva era igual a 150 mL, passando para 480 mL em 1998 e seguido para 390 mL em 2003 (ASSIS *et al.*, 2011; SANTANA *et al.*, 2008).

Já o VSF é responsável pela produção 7 milhões de litros de vinho, valor menor do que o registrado no sul do país, entretanto, esta região dá origem a 99% das uvas de mesa exportadas pelo Brasil e detém 15% do mercado nacional (COELHO-COSTA e CORIOLANO, 2017).

Além do comércio brasileiro, o Brasil atua no mercado internacional, exportando vinhos, espumantes e suco de uva, sendo os principais países de destino: Japão, Paraguai, Estados Unidos e China. O setor vitivinícola, em 2017, teve crescimento de 17,3% nas exportações e a Tabela 3 representa os dados para este período (IBRAVIN, 2018).

**Tabela 3** - Dados de exportação de produtos de uvas brasileiros em 2017.

<b>Produto</b>	<b>Em litros</b>	<b>Em US\$</b>	<b>US\$/litro</b>
Vinhos	3.064.705	7.576.872,00	2,47
Espumantes	256.746	1.179.471,00	4,59
Sucos	2.273.136	6.329.797,00	2,78
<b>Total</b>	<b>5.594.587</b>	<b>15.086.140,00</b>	<b>2,69</b>

Fonte: Adaptada – IBRAVIN, 2018

#### **4 VARIEDADES DE UVAS**

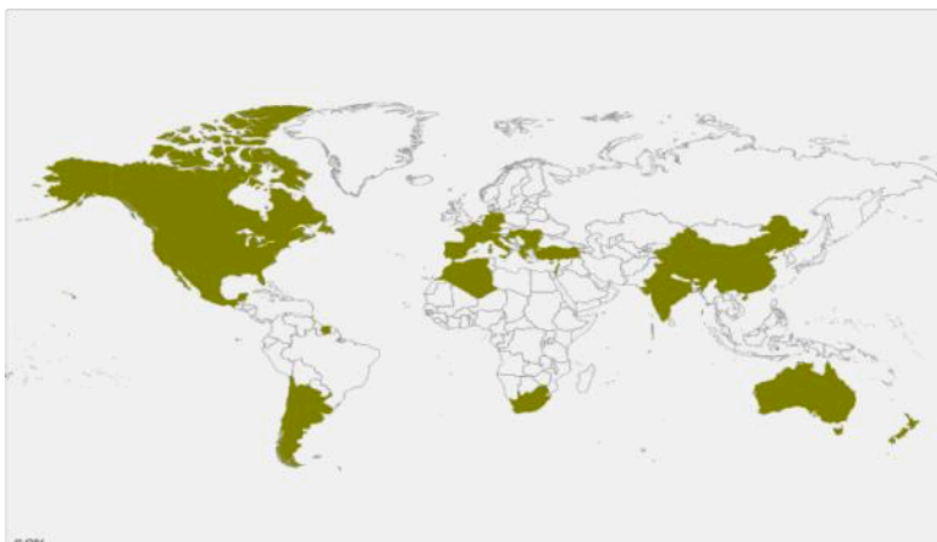
Em todo o mundo, existem milhares de cultivares de uva, porém, a maioria delas estão inseridas na espécie originária do Cáucaso de origem euro-asiática, a *Vitis vinifera*. Já no Brasil, a vitivinicultura começou com o plantio de variedades das espécies *Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*, conhecidas como uvas americanas, usada para a produção dos vinhos mesa. Apenas no meado do século XX, os vinhos finos, produzidos com as uvas *Vitis vinifera*, passaram a ser fabricados no país (GUERRA, 2005).

O Brasil está inserido no chamado “novo mundo vitivinícola”, ao lado de países como: Argentina, Chile e Estados Unidos. Este grupo possui como base o cultivo de uvas de variedades importadas de outros países tradicionais na produção de vinho da região mediterrânea. Mais de 120 cultivares da espécies *Vitis vinifera* e 40 cultivares de uvas de mesa, incluindo as espécies *Vitis labrusca* e *Vitis bourquina* e híbridas interespecíficas são encontradas no Brasil (CARMARGO *et al.*, 2011; GUERRA, 2005).

##### **4.1 Variedade Syrah**

Esta variedade de uva tinta tem a sua história de cultivo inicial na França, com expansão para diversos outros países, sendo hoje uma das mais plantadas no mundo, com 190 mil hectares registrados. Há indícios que a *Syrah* é uma das variedades mais antigas para o cultivo, com a hipótese de ser originária de Schiraz, na Pérsia, ou da Vila de Siracusa, na Sicília (GUERRA, 2005). A Figura 1 apresenta os lugares no mundo com maior ocorrência do cultivo da casta *Syrah* na atualidade (OIV, 2017).

**Figura 1.** Infográfico dos países produtores de uva (var. *Syrah*)



Fonte: OIV Focus 2017

No Rio Grande do Sul, a *Syrah* chegou pela primeira vez em 1921, procedente de vinhedos do estado de São Paulo. Por se tratar de uma casta muito vigorosa e produtiva, com características de alta sensibilidade a podridão nos cachos, apresentou dificuldades para o cultivo nas condições ambientais na Serra Gaúcha. Porém nas condições semi-áridas do nordeste brasileiro, a *Syrah* demonstrou excelente performance, se mostrando apta para o cultivo no VSF (GUERRA, 2005).

Além de ser uma das uvas mais cultivadas no mundo, a *Syrah* possui elevado teor de taninos e é reconhecida como uma das variedades com maior concentração de polifenóis com atividade antioxidante (MEINI *et al.*, 2019).

## 5 BAGAÇO DE UVAS

Milhões de toneladas de matéria orgânica são formada durante o processamento das uvas para a fabricação de sucos e vinhos. Este resíduo (Figura 2), conhecido como bagaço de uva, é constituído por sementes, cascas e engaço, os quais possuem elevado teor de compostos fenólicos. Calcula-se que, no Brasil, a maior quantidade de bagaço de uva é oriunda da produção de vinho, em que a cada 100 litros produzidos, 18kg de bagaço são formados (ROCKENBACH *et al.*, 2011; ZHU *et al.*, 2015).

**Figura 2 - Bagaço de uva**



*Fonte: Acervo do autor (2018)*

A alta concentração de compostos bioativos presentes no bagaço de uva é decorrente da extração incompleta que ocorre durante a etapa de fermentação, onde estima-se que 70% destes compostos são descartados. Os compostos fenólicos remanescentes no bagaço de uva possuem excelente potencial antioxidante, atribuindo a este resíduo vantagens econômicas importantes. No entanto, de maneira geral, o bagaço de uva ainda é subvalorizado, sendo destinado à ração animal ou compostagem, além do descarte, que representa uma grande questão ambiental (KUREK *et al.*, 2019; ROCKENBACH *et al.*, 2011).

Nos últimos 10 anos, foi possível verificar na literatura o crescimento do interesse pelo estudo sob o bagaço de uva e suas propriedades antioxidantes a partir do número de publicações que apresentam estas palavras como “palavras-chaves”. Tal fato deve-se a presença dos polifenóis no bagaço de uva, o que também contribui para que seu uso seja difundido em produtos farmacêuticos, cosméticos e, mais recentemente, em uma nova classe de “bioprodutos fitossanitários” que controlam a incidência de doenças nas plantações. Portanto, é coerente afirmar que a utilização do bagaço de uva pode ocasionar ganhos econômicos e uma significativa redução quanto à problemas ambientais (TOURNOUR *et al.*, 2015).

## **5.1 Cascas**

Para o processo de vinificação, as cascas, assim como as sementes, são mantidas em contato com o mosto fermentativo e retiradas após um período de maceração, inviabilizando a extração total dos compostos fenólicos presentes no bagaço de uva

(ANTONIOLLI *et al.*, 2015). As cascas compõem, em torno de, 82% do bagaço de uva (peso úmido) após a etapa de prensagem realizada durante vinificação, e possuem, aproximadamente, a seguinte composição centesimal: 55% de fibras, 12% de proteínas, 6% de lipídios, 7% de cinzas e 2% de açúcares solúveis (BENDER *et al.*, 2016).

As cascas de uva (Figura 3) correspondem à um resíduo alimentar de extrema importância, possível de ser utilizado para a produção de ingredientes funcionais com propriedades antioxidantes, como por exemplo, no estudo conduzido por Amorim *et al.* (2019) em que o extrato de cascas de uva foi adicionado à elaboração geleias com o objetivo de enriquecer o teor de polifenóis do produto.

**Figura 3** - Cascas de uva (var. *Syrah*)



*Fonte: Acervo do autor (2018)*

Aproximadamente, 30% dos compostos fenólicos das uvas estão depositados em suas cascas. Dentre os compostos fenólicos, as proantocianidinas são os polifenóis principais encontrados nas cascas da uva, incluindo: cianidina-3-glicosídeos condensados, malvidina-3-glicosídeos e peonidina-3-glicosídeos. As antocianinas presentes nas cascas das uvas possuem elevadas funções biológicas como atividade anti-inflamatória e antioxidante (FU-XIANG *et al.*, 2019; GHAFOR *et al.*, 2010).

## **5.2 Compostos fenólicos presentes nas cascas de uvas**

Os compostos fenólicos são fitoquímicos, que atuam como metabólitos secundários em plantas, protegendo-as contra patógenos e predadores, e exercendo uma função importante para o seu crescimento e reprodução. Estes compostos proporcionam pigmentos e características sensoriais às frutas e vegetais, além de carregar propriedades nutricionais e atividades antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatória, hipoglicêmicas e hipolipemiantes. Essas características promovem o aparecimento de muitas literaturas



com o objetivo de investigar o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante de produtos de uva. O perfil fenólico das uvas depende dos fatores: variedade, grau de maturação, genética, prática de cultivo, características do solo e meio ambiente, saúde da videira (BALASUNDRAM *et al.*, 2006; FU-XIANG *et al.*, 2019).

A estrutura química de um composto fenólico equivale ao anel aromático ligado a um ou mais substituinte hidroxílico e seus grupos funcionais. Estes compostos podem ser divididos em dois grupos: difenilpropanóides (flavonóides), sendo os mais comuns: flavonóis, catequinas (flavan-3-ols) e antocianinas; e os fenilpropanóides (não flavonóides). Para os compostos fenólicos presentes nas cascas de uvas, é possível também estabelecer a classificação como: fenóis de parede celular, quando ligados à polissacarídeo através de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio; e não fenóis de parede celular, que engloba tanto os fenóis encontrados nos vacúolos de células vegetais, quanto os fenóis associados ao núcleo celular (ANTONIOLLI *et al.*, 2015; BALASUNDRAM *et al.*, 2006; GHAFOR *et al.*, 2010; JACKSON, 2008).

A redução do reagente de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999), é o método para a determinação de fenólicos totais mais difundido nos estudos, no entanto, não corresponde a técnica mais consistente, uma vez que, outros compostos com capacidade redutora (ácido ascórbico e açúcares redutores) são igualmente quantificados por reagirem com o ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico, formando o complexo azul de molibdênio (HUANG *et al.*, 2005)

Dentro deste grupo, estão abrigados também os taninos, que podem ser classificados como hidrolisáveis ou condensados. Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, podem ser hidrolisados por ácidos fracos ou bases fracas para produzir carboidratos e ácidos fenólicos e possuem ações antimicrobianas e antivirais. Os taninos condensados, também conhecidos como proantocianidinas, são polímeros de monómeros de poli-hidroxi-flavan-3-ol, abundantes em cascas de uvas e são encontrados de maneira mais recorrente como catequina e epicatequina (SHIRMOHAMMADLI, EFHAMISISI e PIZZI, 2018).

### **5.2.1 Atividade antioxidante**

Por definição, antioxidantes são substâncias que tem ação de retardar ou inibir a auto oxidação de uma molécula. Nos últimos anos, foi difundido na literatura a importância da inserção de compostos com atividade antioxidante na dieta com o objetivo

de proteger as biomoléculas através da neutralização de radicais (AMORATI e VALGIMIGLI, 2014).

Um dos métodos *in-vitro* para avaliação do potencial antioxidante mais empregado é o qual analisa a redução do radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). O radical livre DPPH apresenta estabilidade à temperatura ambiente e, em meio a um solvente, forma uma solução de cor violeta. Em contato com substâncias que promovem ação antioxidante, há a quebra de cadeia, que ocasiona a alteração de cor na solução para amarelo (BADARINATH *et al.*, 2010). A Figura 4 mostra as cubetas preenchidas com a solução de DPPH com e sem contato com compostos antioxidantes, podendo assim verifica a diferença entre as tonalidades.

**Figura 4** - Solução DPPH em meio a extrato com ação antioxidante e etanol 80% (esq.); solução DPPH em meio a etanol 80% (dir.).



*Fonte: Acervo do autor*

Peixoto *et al.* (2018) analisaram a atividade antioxidante das cascas e sementes de uvas e verificaram que, embora ambos sejam ricos de compostos antioxidantes, as sementes apresentaram o melhor valor para EC<sub>50</sub> – quantidade mínima necessária para inibir 50% dos radicais DPPH.

### 5.2.2 Atividade antimicrobiana

Os compostos bioativos encontrados em frutas, vegetais e seus subprodutos possuem a habilidade de permear e influenciar na atividade respiratória celular microbiana. Esta característica proporciona a morte ou inibição de bactérias no meio (SILVEIRA, 1997). Dentre os compostos fenólicos que possuem significante atividade antimicrobiana, pode-se citar o grupo dos flavonoides. Alguns estudos relatam que estas

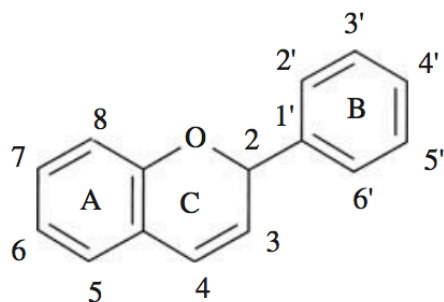
substâncias são capazes de complexar as proteínas extracelulares e solúveis com as estruturas de parede celular bacteriana. Pode-se citar também os taninos, que possuem potencial de inibição de microorganismos através da possível inativação de adesinas, enzimas e proteínas transportadoras do envelope celular (MÜLLER, 2006).

Devido aos fatos descritos, diversas pesquisas são executadas com a intenção de avaliar e comprovar a atividade antimicrobiana. Vodnar *et al.* (2017) alcançaram bons resultados para a atividade antimicrobiana para os extratos obtidos por cascas de uvas frescas e termicamente processadas. Os autores justificam tais valores através da elevada quantidade de compostos fenólicos, como antocianinas, presentes nas amostras.

### 5.2.3 Flavonoides

O maior grupo de compostos fenólicos encontrado nas plantas são os flavonoides, sendo a quercetina e o caempferol em maior incidência. Tratam-se de compostos de baixo peso molecular e que tem na sua estrutura básica dois anéis aromáticos (A e B) juntos ao anel heterocíclico (C) com um átomo de oxigênio, conforme mostra a Figura 5 (BALASUNDRAM *et al.*, 2006; GONZALES *et al.*, 2016).

**Figura 5** - Estrutura básica do flavonoide



*Fonte: Jackson, 2008*

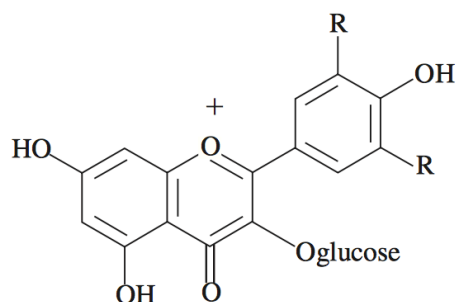
Os flavonoides podem ser distribuídos em 6 subgrupos principais: flavonas, flavonóis, catequinas ou flavanóis, flavanonas, antocianinas e isoflavonas. Nas cascas das uvas, por exemplo, são encontradas a miricetina, quercetina e caempferol, compostos presentes no subgrupo dos flavonóis, em forma de glicosídeos ou glucurônidos (HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; RIBÉREAU-GAYON, 1998)

### 5.2.3.1 Antocianinas

Localizadas nas cascas das uvas, as antocianinas são pigmentos da classe dos flavonoides, por conta de sua característica de esqueleto carbônico  $C_6C_3C_6$ , responsáveis pela coloração das uvas tintas e seus produtos de beneficiamento. Elas aparecem de forma veemente durante o amadurecimento da uva e as principais encontradas são as derivadas da cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina, que usualmente ocorrem como glicosídeos e acilglicosídeos, sendo malvidina-3-O-glicosídeo achada em maior quantidade (SILVA e QUEIROZ, 2016).

Solúveis em água, o facilita a incorporação nos alimentos aquosos, as antocianinas (Figura 6) oferecem as colorações laranja, vermelho e azul, tornando-as corantes naturais de alto interesse. Elas podem ser distinguidas pelo padrão de substituição, especialmente no anel B, e pelo grau e natureza da glicosilação da antocianidina aglicona, principalmente nas posições 3 e 5.

**Figura 6** - Estrutura da antocianina



*Fonte: Jackson, 2008*

As antocianinas estão sujeitas à instabilidade devido a fatores estruturais e parâmetros como: luz, temperatura, oxigênio e presença de copigmentos; o que pode provocar a perda da cor e bioatividade (LUNA-VITAL *et al.*, 2018). O pH também demonstra afetar a estabilidade destes compostos, de forma que valores entre 2,5 a 4 promovem maior estabilidade para as antocianinas. (LARSEN, 2017; LUNA-VITAL *et al.*, 2018; PAZMINO-DURAN *et al.*, 2001; WEBER). O aquecimento e o tipos de processamento podem resultar na degradação térmica das antocianinas. De maneira geral, a degradação é ocasionada a partir da oxidação, clivagem da ligação covalente ou reações avançadas de oxidação devido ao processamento térmico, favorecendo a formação de compostos intermediários (PATRAS, 2010).

As antocianinas são substâncias que possuem diversos efeitos benéficos à saúde humana, como: aumento da acuidade visual, diminuição da doença cardíaca coronária, proteção contra declínios relacionados à idade na disfunção neurológica e manutenção da permeabilidade vascular normal, além das propriedades citadas para os compostos fenólicos em geral (JU e HOWARD, 2003).

## 6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Nos últimos anos, a extração de compostos fenólicos presentes em frutas e vegetais se tornou alvo de interesse para estudos e pesquisas. A extração é uma etapa importante para o isolamento, identificação e uso de polifenóis. As técnicas aplicadas para este processo podem ser repartidas em duas classificações: convencionais e não convencionais (DENT *et al.*, 2015)

As técnicas de extração convencionais são amplamente aplicadas, com ênfase para as extrações sólido-líquido por agitação mecânica e de Soxhlet, utilizando soluções etanólicas ou metanólicas como solventes. No entanto, estes métodos necessitam de elevado consumo de tempo e solvente, provocando uma relevante questão energética e ambiental, além da capacidade de promover a hidrólise e degradação de compostos de interesse (CALDAS *et al.*, 2018; MEDINA-MEZA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2015).

A extração sólido-líquido por agitação mecânica corresponde a remoção de um composto (soluto) a partir da utilização de um solvente, no entanto, para este método, torna-se fundamental que o tempo de contato entre ambos seja suficiente para que haja a dissolução do soluto em meio ao solvente (FELLOWS, 2006). Trusheva *et al.* (2007) analisaram o desempenho deste método, comparando-o à demais técnicas não convencionais e reportaram que a extração sólido-líquido foi a que obteve a menor recuperação de compostos bioativos durante as análises.

Com o intuito de sanar os pontos negativos atribuídos às técnicas de extração convencional, novos métodos de extração dos compostos bioativos presentes nas frutas, vegetais e seus subprodutos vêm sendo investigados. As técnicas de extração não convencionais, geralmente, não aplicam elevadas temperaturas e, portanto, são capazes de minimizar alterações dos parâmetros de qualidade durante o processamento, como: sabor, odor, cor, textura e valor nutricional (TIWARI *et al.*, 2009).

Dentre os métodos não convencionais mais estudados estão a extração por ultrassom (EU), extração assistida por micro-ondas e a extração supercrítica. Contudo, a

EU é uma técnica capaz de ofertar alta reprodutibilidade em menor tempo, maior rendimento de compostos bioativos, manipulação simplificada, menor temperatura durante o processo, menor consumo de solvente e energia (DENT *et al.*, 2015)

## 6.1 Extração por ultrassom

A técnica da EU fornece diversas vantagens frente às técnicas convencionais quanto à redução do tempo de processamento, maior rendimento, menor consumo de energia e diminuição da degradação térmica. Este método ocorre através do fenômeno da cavitação, capaz de ocasionar forças de cisalhamento e bolhas responsáveis pela erosão da superfície, fragmentação e transferência de massa (AWAD *et al.*, 2012; TIWARI *et al.*, 2009).

A EU proporciona a maior penetração do solvente e o rompimento das paredes celulares, facilitando a liberação dos compostos fenólicos. Na literatura, é possível encontrar estudos que já executaram esta técnica e relataram que a aplicação do ultrassom promove maior qualidade para o extrato e age contra patógenos produzidos em alimentos nos sucos de laranja (TIWARI *et al.*, 2008; VALERO *et al.*, 2007; WANG e WELLER, 2006).

Alguns parâmetros podem ser aplicados em conjunto com a EU, visando maior rendimento da extração dos compostos fenólicos presentes em frutas e vegetais. A temperatura é um dos fatores que, empregada de forma apropriada, induz a ruptura de ligações entre a matriz, eleva a solubilidade do composto, taxa de difusão do solvente, transferência de massa e reduz a viscosidade do solvente (MEDINA-TORRES *et al.*, 2017). Como dito anteriormente, altas temperaturas podem ocasionar a degradação de compostos de interesse, e segundo Carrera *et al.* (2012), estes compostos tornam-se mais vulneráveis a degradação quando o processo de EU atinge temperaturas superiores à 75 °C.

Outro fator capaz de influenciar no rendimento da EU é a utilização de solvente apropriados. No caso, os compostos fenólicos estão dispostos nas células das frutas e vegetais de acordo com a sua solubilidade: compostos hidrofílicos encontram-se, em sua maioria, nos vacúolos celulares, enquanto substâncias como ligninas, flavonoides e polifenóis insolúveis em água, são depositadas na parede celular por meio de ligações hidrofóbicas com proteínas e polissacarídeos. Por isto, o solvente utilizado para a extração deve estar de acordo com a polaridade do composto de interesse. O etanol, por exemplo,

é um solvente que possui uma polaridade significativamente menor que a da água, favorecendo a solubilidade e difusão dos compostos fenólicos, disponível em alta pureza, preço baixo e completamente biodegradável. O tempo utilizado para a EU traz interferências para a extração de fenólicos igualmente, uma vez que: quanto maior o tempo de extração, maior o tempo de contato entre o solvente e a amostra (CHEMAT *et al.*, 2012; MEDINA-TORRES *et al.*, 2017).

## 7 REFERÊNCIA

AMORATI, R., VALGIMIGLI, L. Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. **Free Radical Research**, v. 49, p. 1-38, 2014.

AMORIM, F. L., SILVA, M. B. C., CIRQUEIRA, M. G., OLIVEIRA, R. S., MACHADO, B. A. S., GOMES, R. G., DE SOUZA, C. O., DRUZIAN, J. I., FERREIRA, E. S., UMSZA-GUEZ, M. A. Grape peel (*Syrah* var.) jam as a polyphenol-enriched functional food ingrediente. **Food Science and Nutrition**, v. 11, p. 1-11, 2019.

AMRI, F. S. A., HOSSAIN, M. A. Comparison of total phenols, flavonoids and antioxidant potential of local and imported ripe bananas. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, p. 245-251, 2018.

ANTONIOLLI, A., FONTANA, A. R., PICCOLI, P., BOTTINI, R. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. **Food Chemistry**, v. 178, p. 172-178, 2015.

ASSIS, A.M.; YAMAMOTO, L.Y.; SOUZA, F.D.; BORGES, R.D.S.; ROBERTO, S.R. Evolução da maturação e características físico-químicas e produtivas das videiras ‘BRS Carmen’ e ‘Isabel’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 493-498, 2011.

AWAD, D. S., MOHARRAM, H. A., SHALTOUT, O. E., ASKER, D., YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, p. 410–427, 2012.

BADARINATH, A. V., RAO, K. M., CHETTY, C. M. S., RAMKANTH, S., RAJAN, T. V. S., GNANAPRAKASH K. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, p. 1276-1285, 2010.

BALASUNDRAM, N; SUNDRAM, K; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plant and agri- industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, v. 99, p. 191-203, 2006.

BENDER, A. B. B., LUVIELMO, M. M., LOUREIRO, B. B., SPERONI, C. S., BOLIGON, A. A., SILVA, L. P., PENNA, N. G. Obtenção e caracterização de farinha de casca de uva e sua utilização em snack extrusado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, (e2016010), 2016.

BOTELHO, R. V.; PIRES, E. J. P. Viticultura como opção de desenvolvimento para os campos gerais. Disponível em: <http://pitangui.uepg.br/departamentos/defito/labiovegetal/Viticultura.pdf> Acesso em: 25 mai. 2019.

CALDAS, T. W., MAZZA, K. E. L., TELES, A. S. C., MATTOS, G. N., BRÍGIDA, A. I. S., CONTE-JUNIOR, C. A., BORGUINI, R. G., GODOY, R. L. O., CABRAL, L. M. C., TONONC, R. V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non- conventional extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 86-91, 2018

CAMARGO, U. A., TONIETTO, J., HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, E., p. 144- 149, 2011.

CARRERA, C., RUIZ-RODRÍGUEZ, A., PALMA, M. BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100-104, 2012.

CHEMAT, F., ABERT-VIAN, M., CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products, concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 8615-8627, 2012.

COELHO-COSTA, E. R., CORIOLANO, L. N. **Indicações geográficas e turismo enogastronômico no Vale Dos Vinhedos (RS) e No Vale Do Rio São Francisco (PE/BA)**. Turismo: Estudos e Práticas (RTEP/UERN), v. 6, p. 48-77, 2017.

CONEB – Companhia Nacional de Abastecimento. Uva – Análise mensal, Agosto 2017. Disponível em: <http://www.coneb.gov.br> Acesso em: 25 mai. 2019.

DANNER, M. A., CITADIN, I., SASSO, S. A. Z., ZARTH, N. A., MAZARO, S. M. Fontes de cálcio aplicadas no solo e sua relação com a qualidade da uva 'Vênus'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 881-889, 2009.

DENT, M., DRAGOVIĆ-UZELAC, V., ELEZ GAROFULIĆ, I., BOSILJKOV, T., JEŽEK, D., BRNČIĆ, M. Comparison of Conventional and Ultrasound-assisted Extraction Techniques on Mass Fraction of Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis* L.). **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 29, p. 475-484, 2015.



FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). Table and dried grapes. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i7042e.pdf>. Acesso em: 24 mai. 2019.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática** – 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FU-XIANG, L., FU-HUA, L. YA-XUAN, Y., RAN, Y., MING, J. Comparison of phenolic pro les and antioxidant activities in skins and pulps of eleven grape cultivars (*Vitis vinifera L.*). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, p. 1148-1158, 2019.

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

GONZALES, G.B.; CAMP, J.V.; SMAGGHE, G.; RAES, K.; MACKIE, A. Flavonoid–gastrointestinal mucus interaction and its potential role in regulating flavonoid bioavailability and mucosal biophysical properties. **Food Research International**, v. 88, p. 341-347, 2016

GUERRA, C.C., MANDELLI, F., TONIETTO, J., ZANUS, M. C., CAMARGO, U. A. **Conhecendo e essencial sobre uvas e vinhos**. Embrapa. Documento n 48. Bento Gonçalves; RS 2005.

HOFFMANN-RIBANI, R., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta**. Química Nova, 31 (6), p. 1378-1384, 2008.

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.

IBRAVIN. Instituto Brasileiro do Vinho. Disponível em: <https://www.ibravin.org.br/Noticia/exportacoes-brasileiras-de-vinhos-espumantes-e-suco-de-uva-crescem-17-3-em-valor-em-2017/336> Acesso em: 26 mai. 2019

JACKSON, R. S. **Chemical constituents of grapes and wine**. In: Wine Science: Principles and Applications. 3 ed. San Diego: Elsevier Inc., p. 270-331, 2008.

JU, Z. Y., HOWARD, L. R. Effects of Solvent and Temperature on Pressurized Liquid Extraction of Anthocyanins and Total Phenolics from Dried Red Grape Skin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 51, 5207-5213, 2003.

LEÃO, P. C. S. Viticulture in the Brazil's Semi-arid Regions. **Proceeding of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 47, p. 90-92, 2003.

LUNA-VITAL, D.; CORTEZ, R.; ONGKOWIJOYO, P.; MEJIA, E. G. Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. **Food Research International**, v. 105, p. 169-177, 2018.

MEINI, M., CABEZUDO, I., BOSCHETTI, C. E., ROMANINI D. Recovery of phenolic antioxidants from *Syrah* grape pomace through the optimization of an enzymatic extraction process. **Food Chemistry**, v. 283, p. 257-264, 2019.

MELLO, L. M. R. (2018). **Viticultura brasileira: panorama 2017**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/187913/1/Comunicado-Tecnico-207.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2019

MEDINA-MEZA, I. G., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Assisted extraction of bioactive compounds from plum and grape peels by ultrasonics and pulsed electric fields. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 268-275, 2015.

MEDINA-TORRES, N., AYORA-TALAVERA, T., ESPINOSA-ANDREWS, H., SÁNCHEZ-CONTRERAS, A., PACHECO, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. **Agronomy**, v. 47, p. 1-19, 2017.

MÜLLER, J. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius**. Santa Maria: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, UFSM. Dissertação de Mestrado, 2006

OIV Organização Internacional de Vinha e Vinho. Focus OIV 2017 Disponível em: <http://www.oiv.int/public/medias/5336/infographie-focus-oiv-2017-new.pdf>.> Acessado em: 25 mai. 2019

PATRAS, A., BRUTON, N. P., O'DONNELL, C. TIWARI, B. K., Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods, mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 3-11, 2010.

PAZMINO-DURAN, E. A., GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E., GLORIA, M. B. A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, p. 211–216, 2001.

PEIXOTO, C. M., DIAS, M. I., ALVES, M. J., CALHELHA, R. C., BARROS, L., PINHO, S. P., FERREIRA, I. C. F. R. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p. 132-138, 2018.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, U. A.; MELLO, L. M. R. **A viticultura brasileira: realidade e perspectivas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008

RIBÉREAU-GAYON, P. *et al.* **Tratíe dónologie 2. Chimie du vin: stabilisation et traitements.** Paris: Dumond, v. 2, p. 519, 1998.

ROCKENBACH, I. I., RODRIGUES, E., GONZAGA, L. V., CALIARI, V., GENOVESE, M. I., GONÇALVES, A. E. S. S., FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 174-179, 2011.

SANTANA, M.T.A.; SIQUEIRA, H.H.; REIS, K.C.; LIMA, L.C.O.; SILVA, R. J. L. Caracterização de diferentes marcas de suco de uva comercializados em duas regiões do Brasil. **Ciência Agrotecnica**, v. 32, p. 882-886, 2008.

SHIRMOHAMMADLI, Y., EFHAMISISI, D., PIZZA, A. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. **Industrial Crops & Products**, v. 126, p. 316-332, 2018.

SILVA, L R., QUEIROZ, M. Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, p. 315-321, 2016.

SILVEIRA, C. F. S. **Zanthoxylum rhoifolium Lamarck (Rutaceae): Determinação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química e biológica.** Santa Maria: Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, UFSM, 1997. Dissertação de Mestrado.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOUSA, E. C., UCHÔA-THOMAZ, A. M. A., CARIOCA, J. O. B., MORAIS, S. M., LIMA, A., MARTINS, C. G., ALEXANDRINO, C. D., FERREIRA, P. A. T., RODRIGUES, A. L. M., RODRIGUES, S. P., SILVA, J. N., RODRIGUES, L. L. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. **Food Science & Technology**, v. 34, p. 135-142, 2014.

TIWARI, B.K., MUTHUKUMARAPPAN, K., O'DONNELL, C.P., CULLEN, P.J. Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 2423–2428, 2008.

TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., CULLEN, P. J. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. **Journal of Food Engineering**, v. 93, p. 166-171, 2009.

TOURNOUR, H. H.; SEGUNDO, M. A.; MAGALHÃES, L. M.; BARREIROS, L.; QUEIROZ, J.; CUNHA, L. M. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive

phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 397-406, 2015.

TRUSHEVA, B., TRUNKOVA, D., BANKOVA, V. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. **Chemistry Central Journal**, v. 7, p. 1-13, 2007.

VALERO, M., RECROSIO, N., SAURA, D., MUNOZ, N., MARTIC, N., LIZAMA, V. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 509–516, 2007.

VODNAR, D. C., CALINOIU, L. F., DULF, F. V., STEFANESCU, B. E., CRISAN, G., SOCACIU, C. Identification of bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. **Food Chemistry**, v. 231, p. 121-140, 2017.

WANG, L., WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006.

WEBER, F., LARSEN, L. R. Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. **Food Research international**, v. 100, p. 354-365, 2017.

ZHU, F., DU, B., ZHENG, L., LI, J. Advance on the bioactivity and potential applications of dietary fibre from grape pomace. **Food Chemistry**, v. 186, p. 207-212, 2015.

## **CAPÍTULO II**

---

# INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM ULTRASSOM NAS CARACTERÍSTICAS BIOATIVAS DE EXTRATO DE CASCAS DE UVAS

Roberta Barreto de Andrade<sup>1</sup>, Gabriele de Abreu Barreto<sup>2</sup>, Laerte Marlon Conceição dos Santos<sup>3</sup>, Kathleen Ramos Deegan<sup>4</sup>, Luiz Claudio Corrêa<sup>5</sup>, Bruna Aparecida Souza Machado<sup>2</sup>, Marcelo Andrés Umsza-Guez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, s/n, 40170-115, Salvador, BA, Brasil.

<sup>2</sup>Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial da Bahia, Laboratório de Pesquisa Aplicada em Alimentos e Biotecnologia, Faculdade de Tecnologia SENAI CIMATEC, Avenida Orlando Gomes, 1845, Piatã, 41650-010, Salvador, BA, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Avenida Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela, 40110-100, Salvador, BA, Brasil.

<sup>4</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Avenida Adhemar de Barros, s/n, Ondina, 40170-110, Salvador, BA, Brasil.

<sup>5</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Semiárido (Embrapa Semiárido), BR428, Km 152, P.O. Box 23, 56302-970, Petrolina, PE, Brasil.

## RESUMO

Diversas técnicas de extração não-convencionais são analisadas com o intuito de alcançar o melhor rendimento para a recuperação de compostos fenólicos presentes em resíduos de frutas e vegetais. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes temperaturas (25, 40, 50 e 60 °C) e tempo de exposição ao ultrassom (0, 10, 20 e 30 minutos) na obtenção de extratos a partir das cascas de uva (var. *Syrah*), utilizando etanol como solvente. Foram quantificados os fenólicos totais, flavonoides e a atividade antioxidante (DPPH•). O perfil fenólico dos extratos foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica também foram realizadas. Os resultados obtidos mostraram que, os extratos expostos por 20 minutos ao ultrassom e à temperatura de 25 °C tiveram a maior atividade antioxidante com CE<sub>50</sub> entre 0,21 e 0,24 mg.mL<sup>-1</sup>, em todas as temperaturas testadas. O extrato obtido por 20 minutos de ultrassom a 60 °C apresentou maior potencial antioxidante e maior quantidade de flavonoides (0,40±0,04 mgEAG.g<sup>-1</sup>). O extrato elaborado a 60 °C sem o uso de ultrassom obteve o maior teor de compostos fenólicos totais e melhor perfil fenólico, sendo a quercetina-3-B-D-glucosídeo e malvidina-3-O-glucosídeo os mais abundantes. Os grupos fenólicos das antocianinas e flavonóis foram o que apresentaram maior concentração, entre 3,5 e 8 mg.g<sup>-1</sup>, nos extratos elaborados. O extrato exposto a 20 minutos de ultrassom a 40 °C foi o único que inibiu o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas várias concentrações testadas. Portanto, conclui-se que a temperatura de 60 °C proporcionou melhor extração de compostos bioativos e, combinado a 20 minutos de ultrassom, favoreceu a capacidade antioxidante.

**Palavras-chave:** *Syrah, fenólicos, flavonoides, sonificação, vitis vinífera.*

## ABSTRACT

Several non-conventional extraction techniques are investigated in order to reach the best possible yield for recovering phenolic compounds present in fruits and vegetables wastes. The main of this research was to evaluate the impact of different temperatures (25, 40, 50 60 °C) and time of exposing to ultrasound-assisted (0, 10, 20, 30 minutes) for the extracts obtained from grape peels (var. *Syrah*), using ethanol as solvent. Were quantified by the total phenol, flavonoids and antioxidant activity (DPPH•). The phenolic profile of the extracts was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Analyzes for an evaluation of antimicrobial and antifungal activity were also performed. The results showed that the extracts exposed to ultrasound-assisted for 20 minutes and to temperature of 25 °C were those that reached the higher antioxidant activity with CE<sub>50</sub> values between 0,21 e 0,24 mg.mL<sup>-1</sup>, in all temperature tested. The extract obtained by 20 minutes of ultrasound extraction and temperature of 60 °C showed the higher antioxidant capacity, as well as the higher flavonoids content (0,40±0,04 mgEAG.g<sup>-1</sup>). The extract prepared on 60 °C without applying the ultrasound obtained the highest content of total phenolic compounds and phenolic profile evaluated, with the quercetin-3-B-D-glucoside and malvidin-3-O-glucoside the most abundant. The phenolic groups of the anthocyanins and flavonols presented the highest concentration, between 3,5 e 8 mg.g<sup>-1</sup>, in the elaborated extracts. The extract exposed to ultrasound-assisted for 20 minutes and 40 °C was the only one that inhibited the growth of bacteria's *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* along all the concentration used. Therefore, it was concluded that the temperature of 60 °C provided better extraction of bioactive compounds and, combined with the 20 minutes of ultrasound, favored the antioxidant capacity.

**Key-words:** *Syrah, phenolics, flavonoids, sonication, vitis vinifera*

## 8. INTRODUÇÃO

A vinicultura tem crescido de maneira expressiva nos últimos anos em todo o mundo, proporcionando o aparecimento de novas regiões produtoras de vinho reconhecidos pela sua alta qualidade, como a do semi-árido nordestino brasileiro - Bacia Inferior do Vale do São Francisco (CALDAS *et al.*, 2018). No entanto, associado ao crescimento da indústria vitivinícola está a geração de subprodutos orgânicos sólidos (RONDEAU *et al.*, 2013).

Uvas (*Vitis vinífera*) são consideradas frutas ricas em polifenóis, compostos parcialmente removidos durante o processo de vinificação, permanecendo o restante

depositado nas cascas e sementes (FERRI *et al.*, 2016). A concentração destes compostos nas uvas é influenciada por fatores como genética, condições ambientais e grau de maturação da fruta (MELO *et al.*, 2006; YU e AHMEDNA, 2013).

Os compostos fenólicos são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, antimicrobiana e anti-inflamatória (XIA *et al.*, 2010), e podem ser classificados em três principais grupos: ácidos fenólicos, flavonoides e proantocianidinas (PEIXOTO *et al.*, 2018). Os resultados de estudos demonstram que a ingestão de alimentos ricos nestas substâncias pode promover efeitos benéficos à saúde humana, tais como, a redução do risco no desenvolvimento de doenças crônicas (cânceres, neurodegenerativas, etc) e cardiovasculares (DEL RIO *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2015). Por conta de todas essas características, o bagaço de uva tornou-se uma fonte valiosa de fitoquímicos possíveis de serem empregados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentos (AMORIM *et al.*, 2019; FONTANA *et al.*, 2013).

Diversas técnicas de extração vêm sendo estudadas com o intuito de obter melhores resultados para a recuperação de compostos existentes em alimentos ou subprodutos e, dentre elas, está a extração por ultrassom (EU) (CASAZZA *et al.*, 2010; DENT *et al.*, 2015). O método consiste na emissão de ondas ultrassônicas que proporcionam a variação de pressão no líquido e, por vez, a cavitação capaz de gerar forças de cisalhamento e microbolhas responsáveis pela maior erosão da superfície, fragmentação e transferência de massa (AWAD *et al.*, 2012). Esta técnica, quando comparada às extrações convencionais como sólido-líquido e Soxhlet, é considerada uma opção sustentável pois requer menor consumo de solvente e energia, reduz o tempo para o processo e necessita de temperaturas moderadas, o que favorece aos compostos termo sensíveis (ESCLAPEZ *et al.*, 2011; MEDINA-TORRES *et al.*, 2017). A extração de polifenóis por EU torna-se mais eficiente quando empregados solventes polares, sendo a principal limitação o uso de solventes orgânicos em determinadas análises. No entanto, esta restrição é atenuada a partir da utilização do etanol, substância não tóxica e, portanto, segura na utilização em alimentos, possível de ser encontrada com alto grau de pureza, biodegradável e com preço acessível (CHEMAT *et al.*, 2012; MEDINA-TORRES *et al.*, 2017).

Nadeen *et al.* (2018) demonstraram que o tratamento ultrassônico aplicado à sucos (cenouras e uvas), foi capaz de intensificar a extração de compostos responsáveis pelas propriedades funcionais e antioxidante presentes amostra. Dent *et al.* (2015) avaliaram o teor de compostos fenólicos extraídos da sálvia e foi comprovada as vantagens EU frente



as técnicas convencionais através de melhores resultados e diminuição do consumo de solventes.

Apesar de muitos estudos terem observado melhor eficiência na extração de compostos bioativos a partir de resíduos submetidos a EU, os resultados ainda são difusos e dependem das condições de operação adotadas a partir de parâmetros como tempo, temperatura de extração e solvente utilizado (BAMBA *et al.*, 2018). O tempo de ultrassom aplicado durante as extrações de compostos bioativos interfere nos resultados para teor de fenólicos totais e potencial antioxidante (CORRALES *et al.*, 2008; MEDINA-MEZA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2015).

Considerando o uso de uvas (aproximadamente 273 mil toneladas) para a produção de vinho no Brasil (FAO, 2014) e ciente das características promissoras dos resíduos gerados no beneficiamento da uva e da redução impacto ambiental provocado através do aproveitamento dos mesmos, este trabalho tem como objetivo identificar a melhor condição de extração por ultrassom (EU) como tecnologia assistente para a recuperação de biocompostos de casca de uva (var. *Syrah*), verificar os efeitos deste método no processo e avaliar a atividade biológica dos extratos.

## 9. MATERIAIS E MÉTODOS

### 9.1 Amostra

Os resíduos de uvas da variedade *Syrah* foram coletados de vinícolas localizadas na região do Vale do São Francisco (PE/BA). As cascas usadas como amostra foram separadas manualmente, lavadas em água corrente e armazenada a -20 °C até o momento das análises.

### 9.2 Extração alcóolica

Adotando a proporção 1:5 (m/v), foram homogeneizadas 20 g de cascas de uva e 100 mL etanol 80% (m/v) em um multiprocessador (Philco, All in one 2 Citrus, Joinville, Brazil) por 10 minutos. Em seguida, o homogenato foi deixado sob agitação em shaker (190 rpm, 25 °C, 2 horas). Depois, o material foi submetido ao banho de ultrassom (Elmasonic S30(H), Elma, Singen, Alemanha), sob diferentes condições de temperatura (25, 40, 50 e 60 °C). Posteriormente, o material foi filtrado, concentrado sob vácuo em um concentrador de amostras (55 °C) miVac (Genevac<sup>®</sup>, Ipswich, Reino Unido). Na Tabela 4, encontram-se as condições em que os extratos foram obtidos, três referem-se

aos controles utilizados para mensurar a influência de cada temperatura adotada sem o uso do ultrassom (C:40, C:50, C:60), e um capaz de avaliar a ausência de ambos os parâmetros (C:25).

**Tabela 4.** Condições diferentes temperaturas de extração com ou sem aplicação de ultrassom.

ID*	Temperatura (°C)	Tempo de ultrassom (minutos)
C:25	25	0
C:40	40	0
E:40-10	40	10
E:40-20	40	20
E:40-30	40	30
C:50	50	0
E:50-10	50	10
E:50-20	50	20
E:50-30	50	30
C:60	60	0
E:60-10	60	10
E:60-20	60	20
E:60-30	60	30

*Amostras com ID iniciado com a letra C correspondem aos controles realizados sem a exposição ao ultrassom.*

### 9.3 Métodos analíticos

#### 9.3.1 Compostos fenólicos

Seguindo a descrição feita por Singleton *et al.* (1999), o extrato foi solubilizado em etanol (80%, m/v) com concentração final de 0,01 g.mL<sup>-1</sup>. Foram misturados 0,5 mL da amostra junto a 2,5 mL da solução aquosa de Folin-Ciocalteau 10% (v/v). A mistura se manteve 3 minutos ao abrigo da luz e, em seguida, adicionado 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5% (p/v). A amostra foi aquecida em banho-maria a temperatura de 50 °C por 5 minutos. A leitura da absorbância foi feita a 765 nm em espectrofotômetro (Lambda 900 UV/VIS, Perkin Elmer®, Connecticut, EUA). O branco foi preparado com água deionizada repetindo o mesmo processo e utilizado o ácido gálico como padrão. A

quantidade de fenólicos totais foi expressa em equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra (mg.EAG.g<sup>-1</sup>).

### 9.3.2 Teor de flavonoides

O teor de flavonoides foi determinado através do método de leitura em espectrofotômetro (Lambda 900 UV/VIS, Perkin Elmer®, Connecticut, EUA) a 415 nm. Foi usado cloreto de alumínio a 2% (p/v) em metanol (MARCUCCI *et al.*, 2001) e solução etanólica do extrato de casca de uva (0,01 g/mL), na proporção 1:1. O branco usado nesta análise era constituído de água deionizada. Para a obtenção da curva padrão, foi utilizado soluções conhecidas do padrão quercetina realizando o mesmo processo. A quantidade de flavonoides totais foi expressa como equivalentes de quercetina (EQ) por grama de amostra (mg.EQ.g<sup>-1</sup>).

### 9.3.3 Atividade antioxidante

Nesta etapa, foi realizada a metodologia descrita por Brand e William *et al.* (1995) e Molyneux (2004). A solução reagente foi elaborada a partir 10 mg de DPPH• solubilizados em 250 mL de etanol 95% (p/v) e deixados em repouso por 90 minutos. Para a análise, 1 mL da solução do extrato (20 mg de extrato 20 mL de etanol 80%) foi homogeneizado a 3 mL da solução etanólica de 2,2- difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) e mantido ao abrigo da luz a temperatura ambiente por 30 minutos. Este procedimento foi feito com 5 concentrações diferentes de uma mesma amostra para que fosse possível obter a equação da reta e efetuar cálculo para o resultado CE<sub>50</sub>. O branco também foi elaborado pelo mesmo método, porém substituiu-se a amostra pelo etanol. A leitura da absorbância aconteceu a 518 nm em espectrofotômetro (Lambda 900 UV/VIS, Perkin Elmer®, Connecticut, EUA).

## 9.4 Determinação do perfil fenólico

Para esta análise foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise individual dos compostos foi realizada de acordo com a metodologia citada por Natividade *et al.* (2013). As amostras preparadas foram filtradas em membrana de 0,45 µm e inseridas com volume de injeção igual a 10 µL. A análise foi conduzida usando a coluna Gemini-NX C18, 3 µm (150 x 4,6 mm) e pré- coluna Gemini- NX C18 (4,0 x 3,0 mm) (Phenomenex, California, USA), com tempo de corrida equivalente a 60 minutos e aplicando como fase móvel uma solução a 0,85% de ácido orto-fosfórico (fase A) e

acetonitrila (fase B). A taxa de fluxo e temperatura do forno foram de 0,5 mL.min<sup>-1</sup> e 40° C.

Foram usados os detectores por Arranjo de Diodos (DAD) e Fluorescência (FD) para o monitoramento simultâneo nas seguintes condições: 280 nm (DAD), ácido gálico, (-)- galato epicatequina, (-)- galato epigalocatequina, cis- resveratrol; 320 nm (DAD), trans- resveratrol, ácido caféico, ácido siríngico, ácido ferrúlico, ácido clorogênico, ácido caftárico, piceatanol e viniferina ; 360 nm (DAD), caempferol-3-O-glicosídeo, miricetina, rutina, isoquercetina e isorhamnetina-3-O-glicosídeo; 520 nm (DAD), todas as antocianinas; excitação a 280 nm e emissão a 320 nm (FD), (+)-catequina, procianidina B1, procianidina B2, procianidina A2 e (-) –epicatequina.

## 9.5 Atividade antibacteriana e antifúngica

### 9.5.1 *Bactéria e meio de cultura*

Foram utilizadas as cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922 fornecidos pelo SENAI-CIMATEC. As amostras bacterianas, recuperadas em ágar BHI, foram incubadas por 24h à 37 °C. As culturas desenvolvidas foram transferidas para tubo de ensaio contendo 5 mL de solução salina estéril a 0,9% (p/v) até a obtenção de turbidez equivalente a 0,5 MacFarland (aproximadamente 1 a 2x10<sup>8</sup> UFC/mL). A suspensão 0,5 MacFarland (1x10<sup>8</sup> UFC/mL) foi diluída 1:100 para obter o valor de 10<sup>6</sup> UFC/mL em caldo Muller-Hinton 2X (MH). Os isolados foram cultivados em tubos inclinados contendo ágar malte em estufa bacteriológica a 28 °C.

### 9.5.2 *Avaliação de atividade antibacteriana*

Nesta análise, foi seguida a metodologia descrita por Vodnar *et al.* (2017) com algumas modificações. Para a concentração inibitória mínima (CIM), 100 µL dos extratos de casca de uva, previamente solubilizados em etanol 10% (p/v) e água Milli-Q em diferentes concentrações (2,5 mg.ml<sup>-1</sup> a 0,001 mg.mL<sup>-1</sup>). Uma alíquota de 100 µL de inóculo foi adicionado a cada poço junto com a amostra. Foram adotados dois controles, elaborados nas mesmas condições, utilizando o etanol 5% (v/v) e o meio de cultura, separadamente, junto ao inóculo. O teste de esterilidade foi realizado utilizando etanol 5% (v/v) e o meio de cultura. As placas foram incubadas por 24h à 37 °C e a CIM foi definida como a menor concentração de extrato capaz de impedir o crescimento microbiano. Para a determinação a concentração bactericida mínima (CBM), uma

alíquota de 20 µL foi retirada dos poços de determinação da CIM e inoculadas em superfície do ágar BHI.

### 9.5.3 Atividade antifúngica

Os seguintes isolados foram cultivados em tubos inclinados contendo ágar malte em estufa bacteriológica a 28°C: *Fusarium oxysporum sp. passiflorae* (CMF 03122), cedido pela EMBRAPA Mandioca e Fruticultura; *Aspergillus fumigatus* (324), cedido pela FIOCRUZ-RJ. Para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM), o método da microdiluição em caldo, com modificações, foi utilizado (VODNAR *et al.*, 2017; CLSI M 38-A, 2002). Os inóculos foram preparados pela lavagem da cultura em tubo inclinado com solução salina (0,85%) e Tween 80 0,1% (v/v), diluídos em meio caldo malte, com uma concentração final de células de  $1,5 \times 10^5$  UFC/mL. A solução dos extratos e da anfotericina B foram diluídos em DMSO. Utilizou-se microplacas de 96 poços estéreis, depositando em cada poço 100 µL do extrato na concentração 2X de teste diluído em 100 µL do inóculo, ambos diluídos em caldo malte. As microplacas foram incubadas (72 h à 28 °C). Para determinar a concentração fungicida mínima (CFM) o volume total dos poços (200 µL) correspondentes à CIM e seus antecessores foram semeados em placas de Petri contendo ágar malte e incubadas (72 h à 28 °C). Foram testados controles negativos sem adição de inóculo e controle negativo do meio.

### 9.6 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão ( $n = 3$ ). Para a análise estatística foi utilizado o programa Statistica® 7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA), e para identificar diferenças entre as médias foi realizada a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey com nível de significância de 95%.

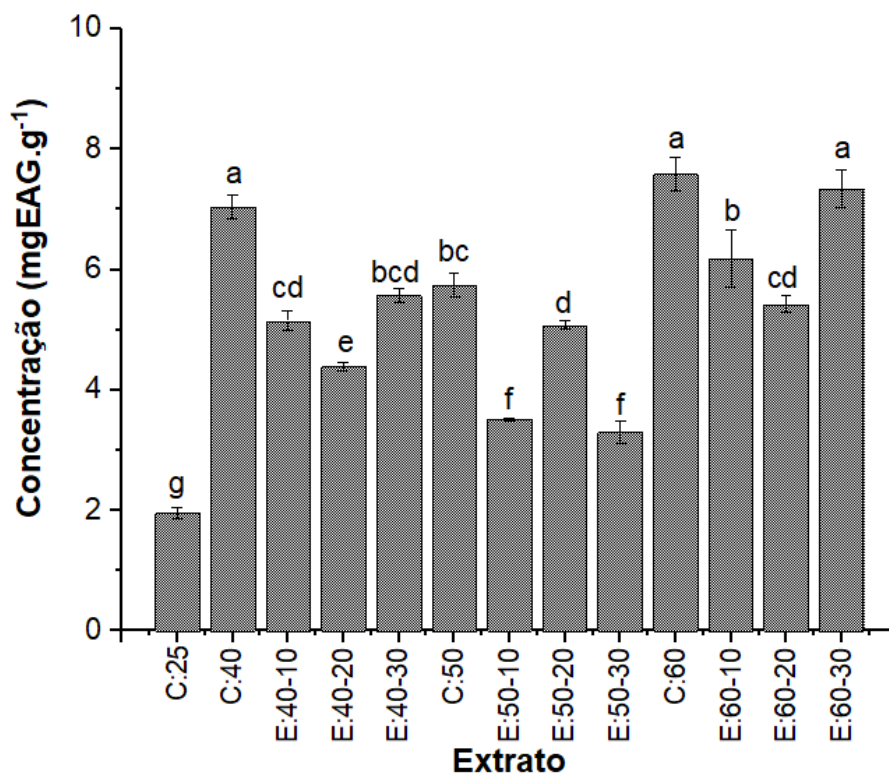
## 10. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 10.1. Determinação da concentração de fenólicos e atividade antioxidante

Na literatura, diferentes estudos, com o objetivo que alcançar maiores concentrações de compostos fenólicos extraídos de matrizes vegetais, correlacionam a oscilação de resultados à aplicação de fatores como o tempo de ultrassom e variação de temperatura (CALDAS *et al.*, 2018; IRAKLI *et al.*, 2018; BUCIC-KOJIC *et al.*, 2013).

A Figura 7 apresenta o teor de compostos fenólicos encontrados nos diferentes extratos obtidos nas condições propostas.

**Figura 7** - Efeito das condições de extração no teor dos fenólicos totais.



Amostras com ID iniciado com a letra C correspondem aos controles realizados sem a exposição ao ultrassom; amostras com ID iniciado com a letra E correspondem aos controles realizados com a exposição ao ultrassom; número seguinte a letra corresponde a temperatura de extração; número seguinte ao traço corresponde ao tempo de extração ao ultrassom.

Pela Figura 7, observa-se que os extratos obtidos sob a influência da temperatura de 60 °C, de maneira geral, apresentaram a maior concentração de compostos fenólicos extraídos da casca de uva (5,4±0,10 a 7,59±0,27 mgEAG.g<sup>-1</sup>), estando de acordo com o valor observado (5,0 mgEAG.g<sup>-1</sup>) por Casazza *et al.* (2010) em cascas e sementes de uva da variedade *Pinot Noir*, utilizando o método de ultrassom com algumas modificações. Cruz *et al.* (2016) também verificaram que a temperatura de secagem das cascas de uvas a 70 °C influencia positivamente em relação a quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

O extrato obtido sem aquecimento e sem exposição ao ultrassom (C:25) apresenta menor concentração de compostos fenólicos (1,96±0,10 mgEAG.g<sup>-1</sup>) com diferença significativa aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ), comprovando a influência destes

parâmetros durante a extração. Os polissacarídeos que compõem a parede celular do bagaço de uva sob altas temperaturas, sofrem hidrólise e proporcionam o aumento (liberação) da concentração dos compostos fenólicos (CHAMORRO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2014). Aliado à temperatura, o ultrassom também contribui com a ruptura celular das cascas de uva (MEDINA-MEZA *et al.*, 2015), permitindo a penetração do solvente na amostra e auxiliando o processo extração dos compostos de interesse (GIACOMETTI *et al.*, 2018).

Ribeiro *et al.* (2015) realizaram em condições similares a extração de compostos fenólicos em mix de resíduos de uvas (var. *Bordeaux, Isabel, BRS Violeta*) e observaram valores maiores destes compostos quando comparados a este estudo,  $41,2 \pm 0,11$  mgEAG.g<sup>-1</sup>. Porém, além de não usar apenas as cascas, como os próprios autores sugerem, a concentração de compostos fenólicos modifica de acordo com variedade, clima, técnicas de cultivo, solo, condições de maturação, eficiência de prensagem e tempo de contato entre as partes sólidas da uva e o mosto. Estudos mostram que a utilização da tecnologia do ultrassom (tempo de 30 minutos) para a produção de extratos geralmente melhora o rendimento de compostos de interesse, no caso compostos fenólicos, como demonstrado por Senpa *et al.* (2012) e Trusheva *et al.* (2007) utilizando própolis e Carrera *et al.* (2012) empregando bagas de uva (var. *Tempranillo*).

Diversos estudos publicados para análise de extratos correlacionam os dados obtidos para o teor de fenólicos totais aos de atividade antioxidante, com o intuito de explicar as propriedades biológicas e nutricionais (FONTANA *et al.*, 2013). Dentre os fenólicos está presente o grupo dos ácidos hidroxicinâmicos, classe de compostos amplamente presentes em frutas, vegetais e bebidas que possuem relevante atividade antioxidante e efeito protetor à saúde humana, como o ácido cafeico, por exemplo (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015; ADJIMANI e ASARE, 2015). Medina-Torres *et al.* (2017) também abordaram a associação entre o aumento do teor de compostos fenólicos e o crescimento da atividade antioxidante em matrizes vegetais distintas, incluindo as uvas. A Tabela 5 apresenta os valores encontrados para flavonoides e a atividade antioxidante dos diferentes extratos.

**Tabela 5** - Efeito das condições de extração para o teor de flavonoides e atividade antioxidante do extrato.

ID	CE <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	Flavonoides (mgEQ.g <sup>-1</sup> )
C:25	0,46±0,03 <sup>cd</sup>	0,17±0,03 <sup>ef</sup>
C:40	0,40±0,07 <sup>bcd</sup>	0,18±0,02 <sup>ef</sup>
E:40-10	0,37±0,01 <sup>bc</sup>	0,10±0,01 <sup>f</sup>
E:40-20	0,21±0,03 <sup>a</sup>	0,30±0,06 <sup>bc</sup>
E:40-30	0,37±0,01 <sup>b</sup>	0,30±0,05 <sup>bc</sup>
C:50	0,49±0,07 <sup>d</sup>	0,21±0,01 <sup>cde</sup>
E:50-10	0,36±0,02 <sup>b</sup>	0,23±0,01 <sup>cde</sup>
E:50-20	0,24±0,05 <sup>a</sup>	0,29±0,01 <sup>bcd</sup>
E:50-30	0,20±0,02 <sup>a</sup>	0,19±0,02 <sup>def</sup>
C:60	0,37±0,03 <sup>b</sup>	0,29±0,01 <sup>bcd</sup>
E:60-10	0,19±0,01 <sup>a</sup>	0,30±0,04 <sup>abc</sup>
E:60-20	0,21±0,01 <sup>a</sup>	0,40±0,04 <sup>a</sup>
E:60-30	0,17±0,02 <sup>a</sup>	0,33±0,04 <sup>ab</sup>

*Amostras com ID iniciado com a letra C correspondem aos controles realizados sem a exposição ao ultrassom; amostras com ID iniciado com a letra E correspondem aos controles realizados com a exposição ao ultrassom; número seguinte a letra corresponde a temperatura de extração; número seguinte ao traço corresponde ao tempo de extração ao ultrassom. Menores valores de CE<sub>50</sub> indicam melhor capacidade antioxidante. Letras diferentes na mesma coluna implicam em diferenças significativas ( $\rho < 0,05$ ) entre as condições, pelo teste de Tukey.*

Para a avaliação do potencial antioxidante, foi usado o método CE<sub>50</sub>, que calcula a quantidade de antioxidantes necessária para inibir em 50% a concentração inicial do radical DPPH• (CHEN *et al.*, 2013). Os melhores resultados sem diferenças significativas entre si ( $\rho > 0,05$ ) foram alcançados por 6 entre as 13 amostras analisadas, estando todos os extratos expostos a 20 minutos ao ultrassom inseridos neste grupo de melhor desempenho antioxidante (0,21±0,03 mg.mL<sup>-1</sup> para E:40-20; 0,24±0,05 mg.mL<sup>-1</sup> para E:50-20; 0,21±0,01 mg.mL<sup>-1</sup> para E:60-20). Estas amostras, quando relacionadas aos controles de cada temperatura, apresentaram aumento de 47,5, 51,0 e 43,2%, respectivamente, da atividade antioxidante. Além da temperatura e tempo de ultrassom



para extração, outros parâmetros influenciam no potencial antioxidante da amostra, como, por exemplo, o solvente utilizado (PINELO *et al.*, 2004). Do *et al.* (2014) analisaram o extrato de *Limnophila aromática* obtido a partir de solventes distintos em diferentes concentrações, e verificaram que extração com etanol 100%, foi o método que gerou o extrato com maior atividade antioxidante (0,07 mg.mL<sup>-1</sup>).

O método e suas condições de extração (tempo e temperatura) influenciam nos resultados obtidos para a atividade antioxidante (DO *et al.*, 2014), no caso dos ensaios utilizando o radical DPPH apesar de se tratar de uma técnica simples e de baixo custo com resultados de atividade de relevância direta, ela não fornece dados sobre compostos individuais, mas sim resultados semi-quantitativos (ROBARDS, 2003). Valores para CE<sub>50</sub> acima de 250 mg.mL<sup>-1</sup> referem-se a baixo potencial antioxidante da amostra (XU *et al.*, 2016), portanto, é possível afirmar (Tabela 5) que todas as condições para extração aplicadas nesta pesquisa contribuíram obtenção de extratos com excelente capacidade antioxidante.

Assim como para os compostos fenólicos, o aumento da temperatura durante o período de extração também provocou interferência positiva para a concentração de flavonoides, uma vez que as amostras obtidas sob a condição de 60°C apresentaram valores que variaram de 0,29±0,01 a 0,40±0,04 mgEQ.g<sup>-1</sup>. De forma similar a atividade antioxidante, todas as amostras extraídas com o auxílio do ultrassom por 20 minutos apresentaram os melhores valores estatisticamente para o teor de flavonoides, quando comparados aos demais de cada grupo. A maior concentração de flavonoides foi obtida no extrato E:60-20, verificando-se um aumento de 27,5% destes compostos quanto comparado ao seu controle (C:60). Estudos afirmam que, em até 30 minutos de exposição ao ultrassom, é atingido o rendimento máximo para recuperação de compostos bioativos (KHAN *et al.*, 2010; LUENGO *et al.*, 2013). Rodríguez-Peréz *et al.* (2015) verificaram que o extrato de folhas de *Moringa oleífera* formado pelo uso da EU por 15 minutos obteve predominância de flavonoides dentre os compostos fenólicos extraídos.

Vodnar *et al.* (2017) encontraram valores inferiores aos reportados nesta pesquisa para o teor de flavonoides em bagaços de uva (var. *Isabella*) (1.050±62,10 mgEQ.100g<sup>-1</sup>), o que pode ser explicado pela composição fenólica das uvas e seus produtos de beneficiamento, que sofrem a interferência de agentes externos de cultivo (JACKSON e LOMBARD, 1993). Bekhit *et al.* (2019) confirmaram esta divergência a partir da análise de duas variedades de uvas, *Pinot noir* e *Pinot meunier*, cultivadas em condições

ambientais similares, em uma mesma vinícola e, no entanto, apresentaram resultados distintos para o teor de fenólicos.

Ju e Howard (2003) e Siripatrawan *et al.* (2013) comprovaram em seus estudos que, além dos fatores citados nesta pesquisa, o perfil do solvente utilizado é igualmente um parâmetro capaz de influenciar nos resultados para a recuperação de fenólicos com propriedades antioxidantes. Foi visto que a natureza, a concentração e o pH do solvente empregado interferem na extração dos compostos, justificando também valores distintos entre os estudos.

A aplicação de 20 minutos de ultrassom favoreceu igualmente o teor de flavonoides e potencial antioxidante dos extratos em todas as temperaturas aplicadas. Porém, ao analisar os resultados obtidos para a quantificação dos compostos fenólicos, nota-se que apenas o extrato E:60-30 ( $7,34 \pm 0,3$  mgEAG.g<sup>-1</sup>) mostrou um valor estatisticamente igual ao seu controle de referência C:60 ( $7,59 \pm 0,27$  mgEAG.g<sup>-1</sup>), todos os demais extratos apresentaram resultados abaixo e sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ) aos seus controles por temperatura. Somando todas estas análises à busca de redução de tempo e energia de extração foi definido que as amostras mais promissoras de cada temperatura foram E:40-20, E:50-20 e E:60.-20.

## 10.2. Perfil fenólico dos extratos

Para a determinação do perfil fenólico em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), além dos extratos que apresentaram os melhores valores nas análises anteriores, foi avaliado também o extrato elaborado à temperatura ambiente submetido a 20 minutos de ultrassom (E:25-20) com o objetivo de verificar se a EU aplicada na ausência de temperaturas mais elevadas é capaz de extrair ou degradar compostos. Vinte e seis compostos fenólicos, divididos nos grupos: ácidos fenólicos, estilbenos, flavanóis, flavonóis e antocianinas, foram analisados quanto à sua presença e quantidade detectada nas amostras. A Tabela 6 apresenta os compostos fenólicos identificados em cada extrato obtido sob diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao EU.

**Tabela 6** - Valores médios e desvio padrão das concentrações dos compostos fenólicos quantificados nas amostras de extratos de cascas de uvas da variedade *Syrah* elaborados em diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao ultrassom.

Compostos fenólicos (mg.g <sup>-1</sup> )	Extratos							
	C:25	E:25-20	C:40	E:40-20	C:50	E:50-20	C:60	E:60-20
<b><i>Ácidos fenólicos</i></b>								
Ácido gálico	0,136±0,02 <sup>d</sup>	0,150±0,00 <sup>cd</sup>	0,186±0,01 <sup>bc</sup>	0,143±0,01 <sup>cd</sup>	0,203±0,00 <sup>b</sup>	0,129±0,02 <sup>d</sup>	0,262±0,02 <sup>a</sup>	0,183±0,01 <sup>bc</sup>
Ácido cafeico	0,133±0,01 <sup>bc</sup>	0,128±0,01 <sup>c</sup>	0,172±0,00 <sup>a</sup>	0,136±0,00 <sup>bc</sup>	0,168±0,00 <sup>a</sup>	0,147±0,01 <sup>b</sup>	0,175±0,01 <sup>a</sup>	0,177±0,01 <sup>a</sup>
Ácido caftárico	0,237±0,05 <sup>c</sup>	0,218±0,00 <sup>c</sup>	0,414±0,01 <sup>a</sup>	0,278±0,01 <sup>bc</sup>	0,368±0,02 <sup>ab</sup>	0,247±0,09 <sup>c</sup>	0,425±0,03 <sup>a</sup>	0,283±0,04 <sup>bc</sup>
<b><i>Estilbenos</i></b>								
<i>Cis</i> -resveratrol	0,063±0,00 <sup>a</sup>	0,058±0,00 <sup>a</sup>	0,058±0,00 <sup>a</sup>	0,072±0,00 <sup>a</sup>	0,063±0,00 <sup>a</sup>	0,038±0,07 <sup>a</sup>	0,086±0,00 <sup>a</sup>	0,077±0,00 <sup>a</sup>
Piceatanol	0,129±0,00 <sup>ef</sup>	0,119±0,01 <sup>f</sup>	0,132±0,00 <sup>de</sup>	0,140±0,00 <sup>bcd</sup>	0,150±0,00 <sup>b</sup>	0,137±0,00 <sup>cde</sup>	0,167±0,01 <sup>a</sup>	0,148±0,00 <sup>bc</sup>
<i>Trans</i> -resveratrol	0,120±0,00 <sup>a</sup>	0,090±0,01 <sup>b</sup>	0,097±0,00 <sup>b</sup>	0,120±0,01 <sup>a</sup>	0,115±0,00 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,125±0,01 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>
Viniferina	0,164±0,01 <sup>cd</sup>	0,153±0,01 <sup>d</sup>	0,187±0,01 <sup>bc</sup>	0,191±0,01 <sup>bc</sup>	0,191±0,00 <sup>bc</sup>	0,209±0,02 <sup>ab</sup>	0,223±0,01 <sup>a</sup>	0,187±0,01 <sup>bc</sup>

**Continuação...**

**Tabela 3** - Valores médios e desvio padrão das concentrações dos compostos fenólicos quantificados nas amostras de extratos de cascas de uvas da variedade *Syrah* elaborados em diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao ultrassom.

Compostos fenólicos (mg.g <sup>-1</sup> )	Extratos							
	C:25	E:25-20	C:40	E:40-20	C:50	E:50-20	C:60	E:60-20
<b><i>Flavanois</i></b>								
(-)-Galato epicatequina	0,152±0,00 <sup>de</sup>	0,166±0,00 <sup>cd</sup>	0,154±0,01 <sup>de</sup>	0,177±0,00 <sup>bc</sup>	0,142±0,01 <sup>e</sup>	0,163±0,00 <sup>cd</sup>	0,200±0,00 <sup>a</sup>	0,189±0,01 <sup>ab</sup>
(+)-Catequina	0,241±0,02 <sup>d</sup>	0,279±0,01 <sup>cd</sup>	0,331±0,01 <sup>bc</sup>	0,274±0,01 <sup>cd</sup>	0,346±0,03 <sup>b</sup>	0,250±0,01 <sup>d</sup>	0,412±0,02 <sup>a</sup>	0,287±0,05 <sup>cd</sup>
(-)-Epicatequina	0,243±0,00 <sup>d</sup>	0,268±0,01 <sup>d</sup>	0,318±0,01 <sup>bc</sup>	0,269±0,01 <sup>d</sup>	0,327±0,03 <sup>b</sup>	0,251±0,00 <sup>d</sup>	0,393±0,01 <sup>a</sup>	0,275±0,03 <sup>cd</sup>
Procianidina A2	0,177±0,00 <sup>ab</sup>	0,144±0,01 <sup>b</sup>	0,151±0,00 <sup>b</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,154±0,03 <sup>b</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,196±0,01 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>
Procianidina B1	0,379±0,02 <sup>c</sup>	0,368±0,02 <sup>c</sup>	0,405±0,02 <sup>bc</sup>	0,449±0,02 <sup>bc</sup>	0,434±0,02 <sup>bc</sup>	0,476±0,04 <sup>ab</sup>	0,542±0,05 <sup>a</sup>	0,451±0,03 <sup>bc</sup>
Procianidina B2	0,442±0,00 <sup>bc</sup>	0,427±0,04 <sup>c</sup>	0,487±0,01 <sup>bc</sup>	0,475±0,02 <sup>bc</sup>	0,485±0,02 <sup>bc</sup>	0,445±0,00 <sup>bc</sup>	0,693±0,05 <sup>a</sup>	0,511±0,00 <sup>b</sup>
<b><i>Flavonois</i></b>								
Caempferol-3- O-glucosídeo	0,268±0,03 <sup>bcd</sup>	0,310±0,04 <sup>abc</sup>	0,244±0,01 <sup>cd</sup>	0,319±0,03 <sup>ab</sup>	0,317±0,00 <sup>ab</sup>	0,203±0,04 <sup>d</sup>	0,340±0,02 <sup>a</sup>	0,257±0,00 <sup>bcd</sup>

**Continuação...**

**Tabela 3** - Valores médios e desvio padrão das concentrações dos compostos fenólicos quantificados nas amostras de extratos de cascas de uvas da variedade *Syrah* elaborados em diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao ultrassom.

Compostos fenólicos (mg.g <sup>-1</sup> )	Extratos							
	C:25	E:25-20	C:40	E:40-20	C:50	E:50-20	C:60	E:60-20
Quercetina-3-B-D-glucosídeo	3,676±0,41 <sup>ab</sup>	2,928±0,65 <sup>ab</sup>	3,891±0,28 <sup>ab</sup>	2,124±0,17 <sup>b</sup>	3,357±0,04 <sup>ab</sup>	3,805±2,56 <sup>ab</sup>	4,142±0,19 <sup>a</sup>	2,250±0,09 <sup>ab</sup>
Isohramnetina-3-O-glucosídeo	1,302±0,12 <sup>ab</sup>	0,721±0,11 <sup>c</sup>	1,434±0,08 <sup>ab</sup>	0,785±0,05 <sup>c</sup>	1,243±0,08 <sup>b</sup>	0,636±0,20 <sup>c</sup>	1,552±0,10 <sup>a</sup>	0,875±0,03 <sup>c</sup>
Miricetina	0,748±0,09 <sup>ab</sup>	0,601±0,09 <sup>c</sup>	0,792±0,00 <sup>ab</sup>	0,342±0,03 <sup>d</sup>	0,682±0,04 <sup>bc</sup>	0,298±0,04 <sup>d</sup>	0,877±0,03 <sup>a</sup>	0,364±0,00 <sup>d</sup>
Rutina	0,112±0,00 <sup>cd</sup>	0,160±0,00 <sup>ab</sup>	0,102±0,00 <sup>d</sup>	0,152±0,00 <sup>b</sup>	0,138±0,01 <sup>bc</sup>	0,158±0,02 <sup>ab</sup>	0,157±0,01 <sup>ab</sup>	0,188±0,02 <sup>a</sup>
<i>Antocianinas</i>								
Malvidina-3-O-glucosídeo	5,520±1,03 <sup>a</sup>	2,607±1,03 <sup>b</sup>	3,157±0,04 <sup>ab</sup>	2,271±0,21 <sup>b</sup>	2,531±0,17 <sup>b</sup>	5,137±2,05 <sup>a</sup>	3,753±0,47 <sup>ab</sup>	3,196±0,09 <sup>ab</sup>
Malvidina-3,5-di-O-glucosídeo	0,038±0,00 <sup>ab</sup>	0,035±0,00 <sup>ab</sup>	0,040±0,00 <sup>ab</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,022±0,02 <sup>b</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,044±0,00 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>
Cianidina-3-O-glucosídeo	0,108±0,00 <sup>bcd</sup>	0,097±0,01 <sup>cd</sup>	0,097±0,01 <sup>cd</sup>	0,116±0,01 <sup>bc</sup>	0,092±0,00 <sup>d</sup>	0,127±0,01 <sup>ab</sup>	0,139±0,01 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>
Cianidina-3,5-di-O-glucosídeo	0,083±0,00 <sup>ab</sup>	0,071±0,00 <sup>ab</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,071±0,02 <sup>b</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>	0,088±0,00 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>c</sup>

**Continuação...**

**Tabela 3** - Valores médios e desvio padrão das concentrações dos compostos fenólicos quantificados nas amostras de extratos de cascas de uvas da variedade *Syrah* elaborados em diferentes condições de temperatura e tempo de exposição ao ultrassom.

Compostos fenólicos (mg.g <sup>-1</sup> )	Extratos							
	C:25	E:25-20	C:40	E:40-20	C:50	E:50-20	C:60	E:60-20
Pelargonidina-3-O-glucosídeo	0,305±0,00 <sup>c</sup>	0,435±0,08 <sup>abc</sup>	0,439±0,00 <sup>abc</sup>	0,374±0,04 <sup>bc</sup>	0,373±0,02 <sup>bc</sup>	0,365±0,10 <sup>c</sup>	0,559±0,04 <sup>a</sup>	0,510±0,01 <sup>ab</sup>
Delfinidina-3-O-glucosídeo	0,341±0,06 <sup>a</sup>	0,209±0,03 <sup>c</sup>	0,218±0,00 <sup>bc</sup>	0,220±0,01 <sup>bc</sup>	0,199±0,00 <sup>c</sup>	0,206±0,03 <sup>c</sup>	0,285±0,02 <sup>ab</sup>	0,255±0,00 <sup>bc</sup>
Peonidina-3-O-glucosídeo	0,477±0,10 <sup>ab</sup>	0,316±0,07 <sup>b</sup>	0,336±0,03 <sup>b</sup>	0,309±0,07 <sup>b</sup>	0,301±0,01 <sup>b</sup>	0,673±0,19 <sup>a</sup>	0,485±0,07 <sup>ab</sup>	0,390±0,02 <sup>b</sup>
Petunidina-3,5-di-O-glucosídeo	0,126±0,01 <sup>a</sup>	0,100±0,01 <sup>bc</sup>	0,096±0,01 <sup>c</sup>	0,000±0,00 <sup>d</sup>	0,110±0,00 <sup>b</sup>	0,000±0,00 <sup>d</sup>	0,128±0,00 <sup>a</sup>	0,000±0,00 <sup>d</sup>

*Amostras com ID iniciado com a letra C correspondem aos controles realizados sem a exposição ao ultrassom; amostras com ID iniciado com a letra E correspondem aos controles realizados com a exposição ao ultrassom; número seguinte a letra corresponde a temperatura de extração; número seguinte ao traço corresponde ao tempo de extração ao ultrassom. Letras diferentes na mesma linha implicam em diferenças significativas ( $\rho < 0,05$ ) entre as condições, pelo teste de Tukey a 95% de confiança. Média da análise obtida por triplicata (n=3).*

No grupo dos ácidos fenólicos, o majoritário foi o ácido caftárico, sendo o extrato C:60 que apresenta a maior concentração ( $0,425 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Estudos também relataram o ácido caftárico como o principal entre os ácidos fenólicos (Magro *et al.*, 2016; Padilha *et al.*, 2017; Toaldo *et al.*, 2015). Os resultados encontrados para o ácido cafeico foram inferiores aos registrados por Tournour *et al.* (2015), porém esta diferença pode ser justificada uma vez que os autores utilizaram, além das cascas, as sementes e engaço para a elaboração do extrato.

Com exceção dos extratos E:50-20 e E:60-20, o intervalo de valores atingidos para quantificação de *trans*-resveratrol ( $0,090 \pm 0,01$  a  $0,120 \pm 0,01 \text{ mg.g}^{-1}$ ), composto integrante do grupo dos estilbenos, foi próximo ao obtido por Casazza *et al.* (2010), equivalente a  $0,118 \text{ mg.g}^{-1}$ . Os autores também constataram que, em uvas da variedade *Pinot Noir*, o *trans*-resveratrol foi extraído em maior quantidade nas sementes.

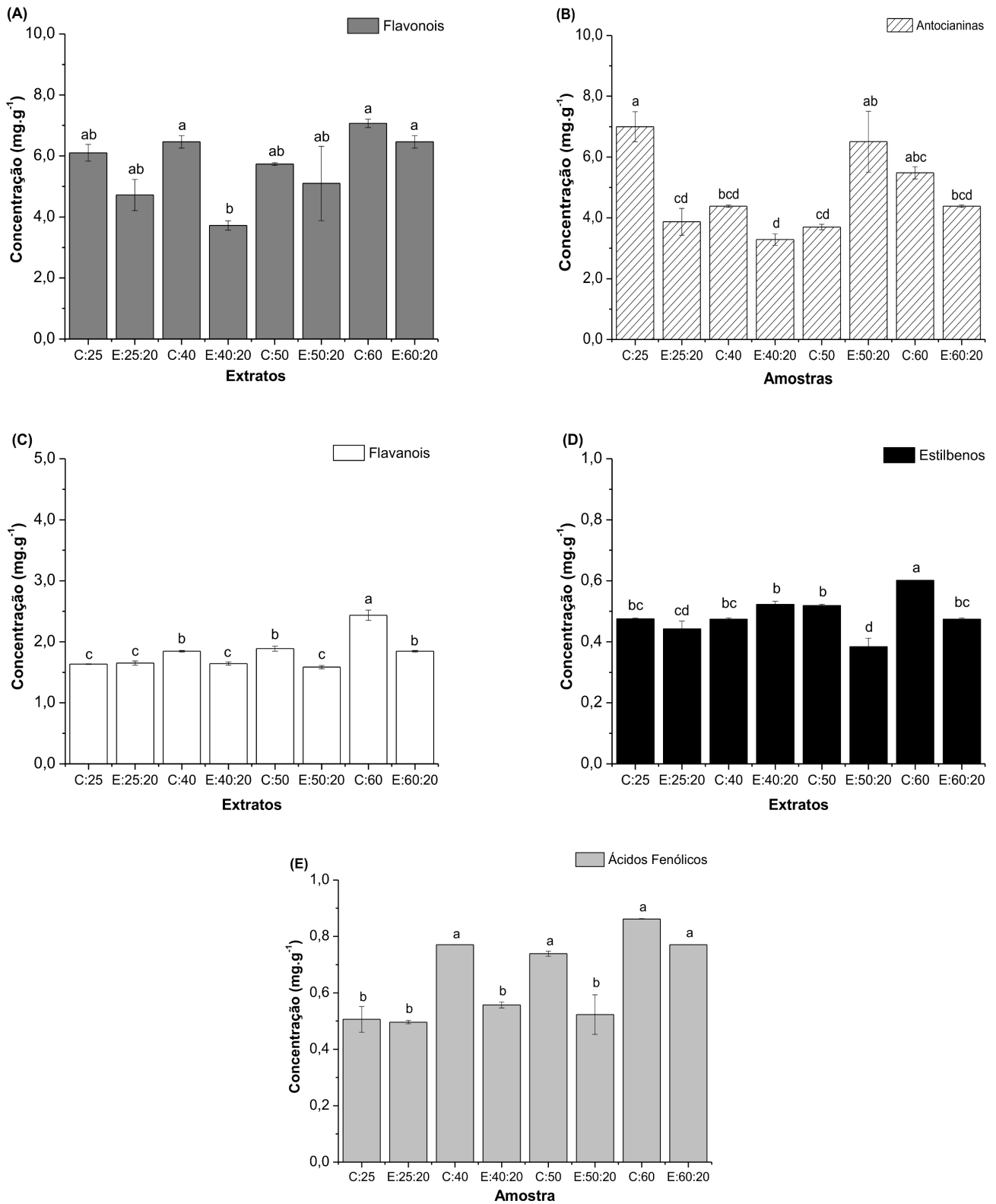
Os intervalos identificados para miricetina e procianidina B2, respectivamente inseridos nos grupos: flavonol e flavanol, foram de  $0,877 \pm 0,03$  a  $0,342 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $0,693 \pm 0,05$  a  $0,427 \pm 0,04 \text{ mg.g}^{-1}$ . Níveis menores de miricetina foram quantificados por Caldas *et al.* (2018), no entanto, os autores afirmaram que, dentre as técnicas de extração utilizadas neste estudo, a aplicação do ultrassom foi a que apresentou a maior recuperação da miricetina na casca de uva. Em relação a procianidina B2, Teixeira *et al.* (2014) relataram que este composto é um dos mais abundantes presentes nas cascas e sementes de uvas.

Entre as antocianinas, as que apresentaram os maiores valores foram a peonidina-3-O-glucosídeo, pelargonidina-3-O-glucosídeo e malvidina-3-O-glucosídeo. Este resultado se assemelha ao encontrado por Melo *et al.* (2015) que, ao avaliar o perfil fenólico do bagaço de uva da variedade *Syrah* cultivada na região do Vale do São Francisco, identificou a peonidina-3-O-glucosídeo e a malvidina-3-O-glucosídeo como antocianinas em maior quantidade.

Os valores encontrados para a malvidina-3-O-glucosídeo ( $2,271 \pm 0,21$  a  $5,520 \pm 1,03 \text{ mg.g}^{-1}$ ) são superiores ao valor registrado por Caldas *et al.* (2018) em casca de uvas tintas ( $1,115 \pm 0,02 \text{ mg.g}^{-1}$ ). De acordo com Sousa *et al.* (2014), o teor de antocianinas encontradas nas uvas pode ser influenciado por fatores como cultivo, método de plantação das uvas, aspectos climáticos, parâmetros físicoquímicos (pH e temperatura).

Os somatórios para as concentrações dos compostos fenólicos de cada grupo em diferentes condições de extração estão apresentados na Figura 8.

**Figura 8 -** Teor de compostos fenólicos, por grupo, presente nos extratos de casca de uva.



*Amostras com ID iniciado com a letra C correspondem aos controles realizados sem a exposição ao ultrassom; amostras com ID iniciado com a letra E correspondem aos controles realizados com a exposição ao ultrassom; número seguinte a letra corresponde a temperatura de extração; número seguinte ao traço corresponde ao tempo de extração ao ultrassom.*



Através da Figura 8, verifica-se que o extrato controle (C:60) apresentou nos diferentes grupos fenólicos uma melhor extração dos compostos avaliados, com exceção das antocianinas que, apesar de possuírem valores estatisticamente iguais, a amostra C:25 alcançou maior concentração deste grupo de compostos.

Lingua *et al.* (2016) analisaram três diferentes variedades de uva (*Syrah*, *Merlot*, *Cabernet Sauvignon*) e, igualmente, verificaram que os principais grupos fenólicos presentes nas amostras foram as antocianinas, seguido dos flavonóis. De forma semelhante ao que mostra a Tabela 2, os autores destacaram a malvidina e a quercetina foram os compostos em maiores concentrações, e dentre as variedades avaliadas, a *Syrah* apresentou maior teor de antocianinas.

Pela Figura 8(B), verifica-se que, com exceção dos extratos elaborados à temperatura de 50 °C (C:50 e E:50-20), o uso do ultrassom influenciou negativamente quanto ao teor das antocianinas. Tiwari *et al.* (2010) observaram possíveis alterações nas concentrações das seguintes antocianinas extraídas por EU em diferentes condições, como tempo de exposição ao ultrassom e nível de amplitude usada no equipamento: delphinidina-3-O-glucosídeo, cianidina-3-O-glucosídeo e malvidina-3-O-glucosídeo. A degradação das antocianinas, durante a EU, também foi relatada por Tiwari *et al.* (2009), onde os autores sugerem que este evento pode estar relacionado a reações de oxidação ocasionadas pela interação com os radicais livres formados ao decorrer da aplicação do ultrassom.

O grupo dos flavonóis e dos flavanois, representado na Figura 8(A) e 8(C), demonstraram comportamentos semelhantes ao das antocianinas, quanto à EU. Todos os extratos expostos por 20 minutos ao ultrassom atingiram valores inferiores aos alcançados pelos extratos que foram submetidos, exclusivamente, à influência da temperatura. Estes resultados sugerem uma possível desvantagem ao uso do ultrassom, devido a degradação de compostos.

Fu-Xiang *et al.* (2019) relataram que, assim como neste estudo, os flavonoides, que possuem como principais compostos as antocianinas, flavonóis e catequinas (flavan-3-ols), estão em maior abundância nas cascas de uva. Pinelo, Arnous e Meyer (2006) afirmaram que, de maneira geral, quanto mais madura a uva utilizada para a fabricação dos vinhos, maior a ocorrência das antocianinas nos extratos, menor a relação antocianina/flavanol e maior o teor de compostos como o ácido gálico. Analisando a Figura 8(C), conclui-se que a condição aplicada ao extrato C:60 foi o que apresentou

melhor extração dos compostos do grupo flavanóis, resultado condizente ao apresentado na Tabela 2.

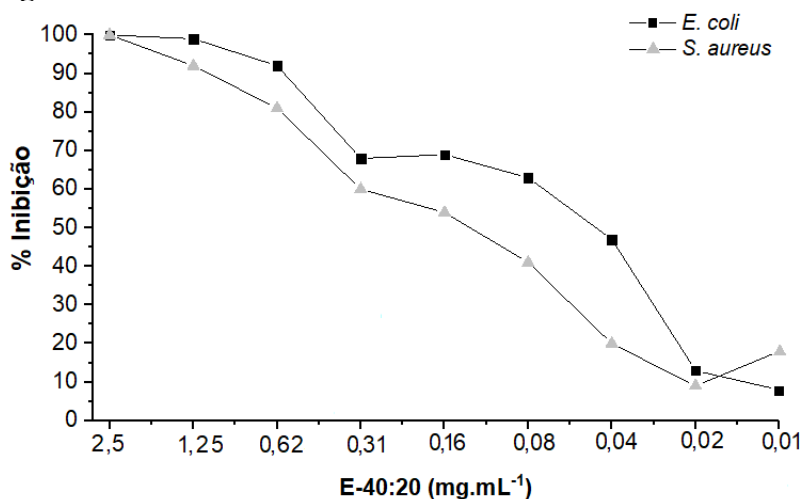
Os estilbenos, grupo que engloba o composto *trans*-resveratrol, foi determinado em menor concentração nas amostras. No entanto, a casca de uva *in natura* é indicada como uma excelente fonte de resveratrol, com concentrações entre 50 a 100  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (BALIGA e KATIYAR, 2006). Rockenbach *et al.* (2011) não detectaram a presença de *trans*-resveratrol em cascas de uvas oriundas de resíduo vitivinícola. Contudo, os autores sugerem que tal composto tenha sido transferido para o produto elaborado a partir das uvas durante a fabricação, o que justifica também a baixa concentração de estilbenos nos extratos deste estudo.

Os resultados obtidos para a concentração de ácidos fenólicos (0,496 a 0,862  $\text{mg.g}^{-1}$ ) foram os menores entre os grupos fenólicos. Segundo Natividade *et al.* (2013), sucos de uva elaborados a partir da variedade *Syrah* possuem 7,95% de ácido fenólicos em sua composição. Com exceção dos flavonoides, os ácidos fenólicos são os que apresentam maior efeito biológico relevante (MENG *et al.*, 2012).

### 10.3. Atividade antimicrobiana

Os extratos E:40-20, E:50-20 e E:60-20, seus respectivos controles (C:40, C:50, C:60) e o extrato elaborado sem a aplicação de ultrassom à temperatura ambiente (C:25) também foram submetidos à esta análise. Contudo, atividade antibacteriana foi observada apenas no extrato E:40-20, enquanto os demais extratos não apresentaram atividade nas concentrações testadas. A Figura 9 apresenta os resultados obtidos para a atividade antibacteriana exercida por E:40-20.

**Figura 9** - Atividade antimicrobiana do extrato de casca de uva.



Observa-se que, para a *E coli*, o extrato teve uma elevada atividade antibacteriana até a concentração de 0,62 mg.mL<sup>-1</sup>, tendo a CIM de 1,25 mg.mL<sup>-1</sup> e a CBM de 2,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Já o *Staphylococcus aureus* foi menos sensível à ação antibacteriana do extrato E:40-20, com valores de CIM e CBM na concentração 2,5 mg.mL<sup>-1</sup>. De maneira contrária ao que foi evidenciado neste estudo, Yeo *et al.* (2015) verificou que o extrato de própolis obtidos por EU teve melhores efeitos contra bactérias gram-positivas do que as gram-negativas. Oliveira *et al.* (2013), em estudo feito com extrato de bagaço de uva (var. *Merlot* e *Syrah*) obtido por extração supercrítica (SFE), relataram que as bactérias gram-negativas foram mais resistentes aos efeitos antimicrobianos do extrato, quando comparadas às gram-positivas, porém, os autores revelam que para os extratos obtidos por SFE com a aplicação do etanol como co-solvente, nenhuma atividade antimicrobiana foi observada. Katalinic *et al.* (2010) empregaram extratos feitos com casca de 14 variedades diferentes de uvas como agente antimicrobiano e evidenciaram que não houve diferenças significativas na resistência de bactérias gram-positivas e gram-negativas.

As bactérias gram-negativas possuem duas camadas em sua membrana celular, ao contrário das bactérias gram-positivas que apresentam apenas uma barreira, facilitando a penetração de compostos lipofílicos (SILICI e KUTLUCA, 2005; SMITH-PALMER *et al.*, 1998). Entretanto, segundo Yeo *et al.* (2015), a característica físico-química dos extratos é o principal fator para as qualidades bioativas distintas entre as amostras, seguido da diferença estrutural das bactérias. Os extratos de uva nas condições e intervalo de concentração testados não foram capazes de inibir o crescimento dos isolados (dados não mostrados). A CIM e a CFM para a anfotericina B foi respectivamente 0,5 µg.mL<sup>-1</sup> e 4 µg.mL<sup>-1</sup>, para o isolado de *Aspergillus fumigatus*, e 4 µg.mL<sup>-1</sup> e 16 µg.mL<sup>-1</sup>, para o isolado de *Fusarium oxysporum sp. passiflorae*.

## 11. Conclusão

Verificou-se que, para a obtenção de extrato de casca de uva da variedade *Syrah*, a aplicação de 20 minutos de ultrassom promoveu as melhores respostas para todas as temperaturas avaliadas, quanto ao teor de flavonoides e potencial antioxidante. A maior temperatura (60 °C) proporcionou melhores resultados referentes a quantificação de compostos fenólicos. O extrato E:60-20, embora não tenha apresentado um teor de fenólicos relevante, mostrou-se uma opção promissora devido a sua alta capacidade antioxidante associando à economia de processo. O extrato controle C:60, além de estar presente entre as amostras com o maior teor de fenólicos totais, foi o que obteve o perfil

fenólico que mais se destacou, obtendo valores estatisticamente significativos em todos os compostos. Já a atividade antimicrobiana foi verificada apenas na amostra E:40-20.

## 12. Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal da Bahia (UFBA) e ao Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI – CIMATEC) pela disponibilidade de espaço nos laboratórios e apoio para a realização desta pesquisa.

## Referências

- ADJIMANI, J. P., ASARE, P. Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 721-728, 2015.
- ALBU, S., JOYCE, E., PANIWNKY, L., LORIMER, J. P., MASON, T. J. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 261-265, 2004.
- AMORIM, F. L., SILVA, M. B. C., CIRQUEIRA, M. G., OLIVEIRA, R. S., MACHADO, B. A. S., GOMES, R. G., DE SOUZA, C. O., DRUZIAN, J. I., FERREIRA, E. S., UMSZA-GUEZ, M. A. Grape peel (*Syrah* var.) jam as a polyphenol-enriched functional food ingrediente. **Food Science and Nutrition**, v. 11, p. 1-11, 2019.
- ARVANITOYANNIS, I. S., LADAS, D., MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 475-485, 2006.
- AWAD, D. S., MOHARRAM, H. A., SHALTOUT, O. E., ASKER, D., YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, p. 410-427, 2012.
- BALIGA, M. S., KATIYAR, S. K. Chemoprevention of photocarcinogenesis by selected dietary botanicals. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 5, p. 243-253, 2006.
- BAMBA, B. S. B., SHI, J., TRANCHANT, C. C., XUE, S. J., FORNEY, C. F., LIM, L. Influence of extraction conditions on ultrasound-assisted recovery of bioactive phenolics from blueberry pomace and their antioxidant activity. **Molecules**, v. 23, p. 1-17, 2018.
- BEKHIT, A. E. A., CHEN, V. J., ZHANG, H., MROS, S., AHMED, I. A. M., AL-JUHAIMI, F. Y., BEKHIT, A. A., MCONNELL, M. Effect of extraction system and grape variety on anti-influenza compounds from wine production residue. **Food Control**, v. 99, p. 180-189, 2019.
- BHAT, R., GOH, K. M. Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 215, p. 470-476, 2017.

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

BUCIC-KOJIC, A., SOVOVÁ, H., PLANINIC, M., TOMAS, S. Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: Experiment and model. **Food Chemistry**, v. 136, p. 1136-1140, 2013.

CALDAS, T. W., MAZZA, K. E. L., TELES, A. S. C., MATTOS, G. N., BRÍGIDA, A. I. S., CONTE-JUNIOR, C. A., BORGUINI, R. G., GODOY, R. L. O., CABRAL, L. M. C., TONONC, R. V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 86-91, 2018.

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

CARRERA, C., RUIZ-RODRÍGUEZ, A., PALMA, M., BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100-104, 2012.

CASAZZA, A. A., ALIAKBARIAN, B., MANTEGNA, S., CRAVOTTO, G., PEREGO, P. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 50-55, 2010.

CHAMORRO, S.; VIVEROS, A.; ALVAREZ I.; VEJA, E.; BRENES, A. Changes in polyphenol and polysaccharides content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. **Food Chemistry**, v. 133, p. 308-314, 2012.

CHEMAT, F., ABERT-VIAN, M., CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products, concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 8615-8627, 2012.

CHEN, Z., BERTIN, R., FROLDI, G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. **Food Chemistry**, v. 138, p. 414-420, 2013.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of filamentous fungi. Approved standards, **M38-A. CLSI**, Wayne, PA, USA, 2002.

CORRALES, M., TOEPFL, S., BUTZ, P., KNORR, D., TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, v. 9, p. 85-91, 2008.

CRUZ, L., CLEMENTE, G., MULET, A., AHMAD-QASEM, M. H., BARRAJÓN-CATALÁN, E., GARCÍA-PÉREZ, J. V. Air-borne ultrasonic application in the drying of grape skin: Kinetic and quality considerations. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 251-258, 2016.

Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants Redox Signal**, v. 18, p. 1818-1892, 2013.

DENT, M., DRAGOVIĆ-UZELAC, V., ELEZ GAROFULIĆ, I., BOSILJKOV, T., JEŽEK, D., BRNČIĆ, M. Comparison of Conventional and Ultrasound-assisted Extraction Techniques on Mass Fraction of Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis* L.). **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 29, p. 475-484, 2015.

ESCLAPEZ, M. D., GARCIA-PÉREZ, J. V., MULET, A., CÁRCEL, J. A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, v. 3, p. 108-120, 2011.

DO, Q. D., ANGKAWIJAYA, A. E., TRAN-NGUYEN, P. L., HUYNH, L. H., SOETAREDJO, F. E., ISMADJI S., JUA Y. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 22, p. 296-302, 2014.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. Disponível em < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QD>>. Acessado 20 mai. 2019.

FERRI, M., BIN, S., VALLINI, V., FAVA, F., MICHELINI, E., RODA, A., MINNUCCI, G., BUCCHI, G., TASSONI, A. Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. **New Biotechnology**, v. 33, p. 338-344, 2016.

FONTANA, A. R., ANTONIOLLI, A., BOTTINI, R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization and biotechnological applications of phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8987-9003, 2013.

FU-XIANG, L., FU-HUA, L. YA-XUAN, Y., RAN, Y., MING, J. Comparison of phenolic pro les and antioxidant activities in skins and pulps of eleven grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, p. 1148-1158, 2019.

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

GIACOMETTI, J., ŽAUHAR, G., ŽUVIC, M. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Major Phenolic Compounds from Olive Leaves (*Olea europaea* L.) Using Response Surface Methodology. **Foods**, v. 7, p. 2-14, 2018.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R., ROSSELLÓ, C., SIMAL, S., GARAU, M.C., LÓPEZ, F., FEMENIA, A. Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their by products: grape pomaces and stems. **LWT – Food Science Technology**, v. 43, p. 1580-1586, 2010.

IRAKLI, M., CHATZOPOULOU, P., EKATERINIADOU L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 382-388, 2018.

JACKSON, D. I., LOMBARD, P. B. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality: A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 44, p. 409-430, 1993.

JU, Z. Y., HOWARD, L. R. Effects of Solvent and Temperature on Pressurized Liquid Extraction of Anthocyanins and Total Phenolics from Dried Red Grape Skin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 5207-5213, 2003.

KATALINIC, V., MOZINA, S. S., SKROZA, D., GENERALIC, I., ABRAMOVIC, H., MILOS, 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.

KHAN, M. K., ABERT-VIAN, M., FABIANO-TIXIER, A. S., DANGLES, O., CHEMAT, F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, v. 119, p. 851-858, 2010.

LAFKA, T. I., SINANOGLU, V., LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1206-1214, 2007.

LINGUA, M. S., FABANI, M. P., WUNDERLIN, D. A., BARONI, M. V. In vivo antioxidant activity of grape, pomace and wine from three red varieties grown in Argentina: Its relationship to phenolic profile. **Journal of Functional Foods**, v. 20, p. 332-345, 2016.

LUENGO, E., ÁLVAREZ, I., RASO, J. Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, v. 17, p. 79-84, 2013.

MAGRO, L., GOETZE, D., RIBEIRO, C. T., PALUDO, N., RODRIGUES, E., HERTZ, P. F., KLEIN, M. P., RODRIGUES, R. C. Identification of bioactive compounds from *Vitis labrusca* L. variety concord grape juice treated with commercial enzymes: improved yield and quality parameters. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, p. 365-377, 2016.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C.; BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 74, p. 105-112, 2001.

MEDINA-TORRES, N., AYORA-TALAVERA, T., ESPINOSA-ANDREWS, H., SÁNCHEZ-CONTRERAS, A., PACHECO, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. **Agronomy**, v. 47, p. 1-19, 2017.

MELO, E. D. A., MACIEL, M. I. S., LIMA, V. L. A. G., LEAL, F. L. L., CAETANO, A. C. D. S., NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 639–644, 2006.

MELO, P. S., MASSARIOLI, A. P., DENNY, C., SANTOS, L. F., FRANCHIN, M., PEREIRA, G. E., VIEIRA, T. M. F. S., 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.

MENG, J., FANG, Y., QIN, M., ZHUANG, X., ZHANG, Z. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). **Food Chemistry**, v. 134, p. 2049-2056, 2012.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*, v. 26, p. 211-219, 2004.

NADEEM, M., UBAID, N., QURESHI, T. M., MUNIR, M., MEHMOOD, A. Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 45, p. 1-6, 2018.

NATIVIDADE, M. M. P., CORRÊA, L. C., SOUZA, S. V. C., PEREIRA, G. E., LIMA, L. C. O. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 665-674, 2013.

OLIVEIRA, D. A., SALVADORA, A. A., SMÂNIA JR., A., SMÂNIA, E. F. A., MARASCHINC, M., FERREIRA, S. R. S. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. **Journal of Biotechnology**, v. 164, p. 423-432, 2013.

PADILHA, C. V. S., MISKINIS, G. A., SOUZA, M. E. A. O., PEREIRA, G. E., OLIVEIRA, D., BORDIGNON-LUIZ, M. T., LIMA, M. S. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, v. 228, p. 106-115, 2017.

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 and Technology**, v. 17, p. 579-590, 2006.

PINELO, M., MANZOCCO, L., NUNEZ, M. J., NICOLI, M. C. Interaction among Phenols in Food Fortification: Negative Synergism on Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1177-1180, 2004.

RIBEIRO, L. F., RIBANI, R. H., FRANCISCO, T. M. G., SOARES, A. A., PONTAROLO, R., HAMINIUK, C. W. I. Profile of bioactive compounds from grape



pomace (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) by spectrophotometric, chromatographic and spectral analyses. **Journal of Chromatography B**, v. 1007, p. 72-80, 2015.

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, 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.

RODRÍGUEZ-PÉREZA, C., QUIRANTES-PINÉB, R., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZA, A., SEGURA-CARRETERO, A. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 246-254, 2015.

RONDEAU, P., GAMBIER, F., JOLIBERT, F., BROSSE, N. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 251-254, 2013.

SENPA, S., SUTJARITTANGTHAM, K., TUNKASIRI, T., EITSSAYEAM, S., CHANTAWANNAKUL, P. Ultrasonic Extraction of Thai Propolis for Antimicrobial and Antioxidant Properties. **Advanced Materials Research**, v. 506, p. 371-374, 2012.

SHAHIDI, F., AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SILICI, S., KUTLUCA, S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 99, p. 69-73, 2005.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SIQUEIRA, E. M. A., ROSA, F. R., FUSTINONI, A. M., SANT'ANA, L. P., ARRUDA, S. F. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **Plos One**, v. 8, p. 72-82, 2013.

SIRIPATRAWAN, U., VITCHAYAKITTI, W., SANGUANDEEKU, R. Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 22-27, 2013.

SMITH-PALMER, A., STEWART, J., FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 118-122, 1998.

SOUSA, E. C., UCHÔA-THOMAZ, A. M. A., CARIOCA, J. O. B., MORAIS, S. M., LIMA, A., MARTINS, C. G., ALEXANDRINO, C. D., FERREIRA, P. A. T., RODRIGUES, A. L. M., RODRIGUES, S. P., SILVA, J. N., RODRIGUES, L. L. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera L.*), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. **Food Science & Technology**, v. 34, p. 135-142, 2014.

TEIXEIRA, A., BAENAS, N., DOMINGUEZ-PERLES, R., BARROS, A., ROSA, E., MORENO, D. A., GARCIA-VIGUERA, C. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638- 15678, 2014.

TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A., CULLEN, P. J. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 10071-10077, 2008.

TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A., CULLEN, P. J. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. **Journal of Food Engineering**, v. 93, p. 166-171, 2009.

TIWARI, B. K., PATRAS, A., BRUNTON, N., CULLEN, P. J., O'DONNELL, C. P. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 598-604, 2010.

TOALDO, I. M., CRUZ, F. A., ALVES, T., de, L., GOIS, J. S., BORGES, D. L. G., CUNHA, H. P., SILVA, E. L., BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive potential of *Vitis labrusca L.* grape juices from the Southern Region of Brazil: Phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. **Food Chemistry**, v. 173, p. 527–535, 2015.

TOURNOUR, H. H., SEGUNDO, M. A., MAGALHÃES, L. M., BARREIROS, L., QUEIROZ, J., CUNHA, L. M. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 397-406, 2015.

TRUSHEVA, B., TRUNKOVA, D., BANKOVA, V. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. **Chemistry Central Journal**, v. 7, p. 1-13, 2007.

VODNAR, D. C., CALINOIU, L. F., DULF, F. V., STEFANESCU, B. E., CRISAN, G., SOCACIU, C. Identification of bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. **Food Chemistry**, v. 231, p. 121-140, 2017.

XIA, E., DENG, G., GUO, Y., LI, H. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 622-646, 2010.

XU, Y., BURTON, S., KIM, C., SISMOUR E. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia grown grape varieties. **Food Science and Nutrition**, v. 4, p. 125-133, 2016.

YEO, K. L., LEO, C. P., CHAN, D. J. C. Ultrasonic enhancement on propolis extraction at varied pH and alcohol content. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, p. 562-570, 2015.

YU, J., AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, p. 221-237, 2013.

WANG, T., HE, F., CHEN, G. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 101-111, 2014.