

Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*)

Antioxidant activity of grape bagasse extracts from Regente and Pinot Noir varieties (*Vitis vinifera*)

RIALA6/1122

Ismael Ivan ROCKENBACH*, Graciela Lessa da SILVA, Eliseu RODRIGUES, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT

* Endereço para correspondência: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Rod. Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, CEP: 88034-001, Florianópolis, SC, e-mail: ismael.rockenbach@gmail.com
Recebido: 05/07/2007 – Aceito para publicação: 26/09/2007

RESUMO

Bagaços de uva (*Vitis vinifera*) das variedades Pinot Noir e Regente, coletados no município de Videira, Santa Catarina, foram analisados quanto ao conteúdo total de polifenóis e capacidade antioxidante. Foram utilizados sistemas solventes aquosos a 50% (v/v) de metanol, etanol e acetona acidificados (HCl 0,1%). O conteúdo de fenólicos totais foi determinado pela técnica de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante por meio de técnicas de seqüestro de radicais livres ABTS e DPPH e pelo método do β -caroteno/ácido linoléico. A acetona apresentou maior conteúdo de polifenóis totais, atingindo em peso seco, 7852mg GAE/100g na variedade Pinot Noir e 5334mg GAE/100g na variedade Regente. A atividade antioxidante média das variedades Pinot Noir e Regente foi, respectivamente, de 477 e 419 μ Mol TEAC/g pela técnica ABTS e 480 e 479 μ Mol TEAC/g pela técnica DPPH. No ensaio da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico os extratos etanólicos apresentaram maior sinergismo quando associados ao BHT, com 92,6% e 90,9% de inibição da oxidação com 200 μ L para a variedade Regente e Pinot Noir, semelhante ao BHT com 200 μ L, apresentando 91,7% de inibição da oxidação. Os extratos de bagaço de uva demonstraram potencial antioxidante, atuando como inibidores de radicais livres ou em sinergismo com o antioxidante sintético.

Palavras-chave. atividade antioxidante, polifenóis, bagaço de uva.

ABSTRACT

Grape (*Vitis vinifera*) bagasse from Pinot Noir and Regente varieties, collected in Videira - Santa Catarina, were evaluated in order to determine the total polyphenol contents and antioxidant capacity. Acidified (HCl 0.1%) aqueous solvent systems of 50% (v/v) methanol, ethanol, and acetone were used. Total polyphenol contents were determined by Folin-Ciocalteu technique, and antioxidant activity was assessed by means of ABTS, DPPH, and β -carotene/linoleic acid techniques. Acetone presented the highest total polyphenol contents, reaching in a dry matter the concentrations of 7.852mg GAE/100g in Pinot Noir variety and 5.334mg GAE/100g in Regente variety. The average antioxidant activity of Pinot Noir and Regente varieties was of 477 and 419 μ Mol TEAC/g by means of ABTS technique, respectively, and 480 and 479 μ Mol TEAC/g, respectively when these samples were analyzed by DPPH technique. From β -carotene/linoleic acid technique analysis, it was observed that the ethanolic extracts showed higher synergism when associated to BHT, presenting 92.6% and 90.9% of oxidation inhibition with 200 μ L for Regente and Pinot Noir varieties, which were similar to BHT with 200 μ L, presenting 91.7% of oxidation inhibition. Extracts from grape bagasse demonstrated a potential antioxidant activity, functioning as inhibitors of free-radicals, or in synergism with a synthetic antioxidant.

Key words. antioxidant activity, polyphenols, grape bagasse.

INTRODUÇÃO

O crescente interesse nas propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos em vegetais e frutas deriva de sua forte atividade e baixa toxicidade comparada com antioxidantes fenólicos sintéticos, tais como o BHT (butil hidroxitolueno), BHA (butil hidroxi-anisól), PG (Propil Galato) e TBHQ (terc-butyl-hidroxi-quinona)^{1,2}.

Os resíduos da produção de vinho são caracterizados por conter altos teores de compostos fenólicos devido à extração insuficiente durante a vinificação. Segundo Shrikhande³ os extratos de cascas de uva, consistindo de antocianinas das cascas e procianidinas das sementes, são fontes importantes de polifenóis. Sementes e cascas são normalmente descartadas nas operações de suco e vinho branco antes do processamento. Esses resíduos não fermentados tornam-se então valiosos para a extração de polifenóis. Os subprodutos obtidos após exploração da vinificação, tanto as sementes como o bagaço, constituem uma fonte muito barata para a extração de flavonóides antioxidantes, podendo ser utilizados como suplementos alimentares, ou na produção de fitoquímicos, proporcionando vantajosa importância econômica^{4,5,6}.

A proposta deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de extratos dos resíduos do processo de vinificação das variedades Regente e Pinot Noir, cultivadas no município de Videira, Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizadas amostras de bagaço de uvas vermelhas (*Vitis vinifera* v. Pinot Noir e Regente) coletadas no município de Videira, Santa Catarina, resultantes da safra de 2005/2006, cedidas pela EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina). O município de Videira localiza-se a uma latitude de 27°00', longitude de 51°09', estando a uma altitude de 779,1 metros acima do nível do mar⁷, possui clima úmido do tipo temperado, com as estações bem definidas e temperaturas médias que variam de 35°C no verão a 0°C no inverno.

Com o objetivo de preservar as propriedades gerais dos bagaços, os exemplares foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo, sendo encaminhados imediatamente para laboratório, onde foram armazenados à temperatura de $-18,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 15 dias até as análises.

Métodos

Preparação dos extratos

O conteúdo em peso seco dos bagaços foi obtido em estufa a 105°C, até peso constante. Para obtenção dos extratos,

as amostras do bagaço de uva das variedades Pinot Noir e Regente foram submetidas a tratamento térmico a 80°C, num período de 10 min, para inativação enzimática^{8,9}. Posteriormente, foram secas em estufa de ar circulante, a temperatura de 50°C, por 24 horas. Após resfriamento em dessecador, as amostras foram trituradas (60 mesh) e desengorduradas em extrator de Soxhlet, utilizando-se hexano, durante 6 horas. Os extratos foram preparados com 1,5g de material seco e 2 x 25mL de solvente, utilizando soluções aquosas a 50% (v/v) de metanol, etanol e acetona acidificados com HCl a 0,1% sob agitação mecânica e ao abrigo da luz, durante um período de 2 horas. Os extratos foram filtrados em papel filtro Whatman nº1 e transferidos para balão volumétrico, sendo o volume final ajustado para 50mL.

Determinação do Conteúdo de Polifenóis Totais (PT)

O conteúdo total de polifenóis em cada extrato de bagaço de uva foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método de Folin-Ciocalteu¹⁰, com a leitura da absorbância em 764nm, e os resultados expressos em miligramas de equivalentes a ácido gálico (GAE) por 100 gramas de extrato seco.

Determinação da capacidade antioxidante – sequestro de radicais livres do ABTS⁺

Para determinar a atividade antioxidante utilizou-se o método ABTS (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) descrito por Re et al.¹¹. A absorbância foi medida em espectrofotômetro modelo Hewlett-Packard 8425A, no tempo de 7 minutos após a adição da amostra. A capacidade antioxidante total da amostra foi calculada em $\mu\text{Mol/g}$ de TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox)¹².

Determinação da capacidade antioxidante – método DPPH

Desenvolvido por Brand-Williams et al.¹³, o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515nm do radical DPPH^{*} (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por antioxidantes. Foram aplicadas modificações de Kim et al.¹⁴, que utilizam o método com base na absorbância do radical DPPH^{*} 100 μM (2,9mL) dissolvido em metanol a 80% no comprimento de onda de 517nm. Os resultados são expressos em Trolox ($\mu\text{Mol TEAC/100g}$ de amostra).

Determinação da capacidade antioxidante - sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico

A capacidade antioxidante também foi avaliada pelo método de descoramento do β -caroteno descrito por Marco¹⁵ e modificado por Miller¹⁶. Uma alíquota de 20 μL da solução de β -caroteno (20mg/mL em clorofórmio) foi colocada em um frasco erlenmeyer de 250mL com 40 μL de ácido linoléico, 1mL de clorofórmio e 20mg de Tween 40. Após homogeneização, o clorofórmio foi completamente evaporado

com nitrogênio. Ao erlenmeyer foram adicionados 150mL de água deionizada (previamente submetida a tratamento com atmosfera de oxigênio, durante 30 minutos). A emulsão apresentou-se límpida e sua absorvância foi ajustada entre 0,6 e 0,7 a 470nm. Diferentes alíquotas (50, 100 e 200µL) de soluções a 100ppm dos extratos foram comparadas ao controle (sem antioxidante) e à solução de BHT (butil hidroxitolueno) a 100ppm, utilizado como antioxidante padrão. Além disso, o efeito sinérgico foi avaliado utilizando-se misturas das soluções de extratos com a solução de BHT (1:1). Uma leitura inicial da absorvância foi feita imediatamente após a adição das soluções de extratos e do padrão ao sistema. Posteriormente, a absorvância foi monitorada a cada 15 min, durante 2 horas. As cubetas foram mantidas em banho-maria a 50°C durante as leituras. A atividade antioxidante foi calculada em termos de percentual de inibição, relativo ao controle, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \left(\frac{A_i - A_f}{C_i - C_f} \times 100 \right)$$

A_i = absorvância inicial da solução de extrato

A_f = absorvância final da solução de extrato

C_i = absorvância inicial da solução controle

C_f = absorvância final da solução controle

Análise Estatística

Realizou-se análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias através do software Statistica® 6.0, ao nível de 5% de significância ($P < 0,05$).

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados como média ± desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conteúdo de Polifenóis Totais

A concentração de polifenóis totais foi maior no extrato aquoso de acetona, seguido pelo extrato etanólico e metanólico para as variedades Pinot Noir e Regente (Tabelas 1 e 2), respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) apenas para o extrato metanólico da variedade Regente, que apresentou menor teor de compostos fenólicos.

Llobera e Cañellas¹⁷ realizaram um estudo com o bagaço de uvas vermelhas variedade Manto Negro (*Vitis vinifera*) e encontraram valores de compostos fenólicos de 2630 mg GAE/100g em peso seco, sendo estes valores inferiores aos encontrados em nosso estudo. Em outro estudo Yilmaz e Toledo¹⁸ determinaram o conteúdo de polifenóis totais em semente de uva utilizando diferentes sistemas solventes. Foram encontrados valores, em peso seco, em torno de 2800mg GAE/100g utilizando soluções aquosas de etanol (50, 60 e 70%), 3000mg GAE/100g em soluções aquosas metanólicas (60 ou 70%) e valores em torno de 4000mg GAE/100g quando utilizadas soluções aquosas de acetona (50 ou 75%).

Levando em consideração que as concentrações de polifenóis totais encontradas em nosso estudo atingem, em peso seco, 7852mg GAE/100g no extrato acetônico da variedade Pinot Noir, pode-se dizer que os subprodutos da vinificação, como cascas e sementes, representam uma fonte rica de produtos de alto valor, sendo caracterizados pelo elevado conteúdo de polifenóis^{4,5,19,6}. Kuskoski et al.²⁰ realizaram pesquisa com a polpa de abacaxi, cupuaçu, maracujá, graviola e uva, e encontraram valores de compostos fenólicos de 21,7; 20,5; 20,0; 84,3 e 117,1mg GAE/100g em peso fresco. Em outro estudo Sun et al.²¹ encontraram em frutas como uva (182,0 ± 2,6mg/100g), morango (147,8 ± 1,1mg/100g) e abacaxi (40,4 ± 1,0mg/100g), valores de compostos fenólicos totais, em peso fresco, inferiores aos encontrados em nosso estudo com bagaço de uva, que foram de 1806 e 1067mg GAE/100g, para Pinot Noir e Regente, respectivamente.

Tabela 1. Conteúdo de polifenóis totais (PT) e Atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos de bagaço de uva variedade Pinot Noir (solventes a 50% em meio aquoso acidificado com HCl 0,1% v/v).

| Amostras | PT (mg GAE/100g de bagaço) | | DPPH – TEAC ^c | ABTS–TEAC ^c |
|----------|----------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| | PS ^a | PF ^b | | |
| Etanol | 7173 ± 381 ^a | 1650 ± 88 ^a | 450 ± 14 ^a | 471 ± 12 ^a |
| Metanol | 7073 ± 389 ^a | 1627 ± 89 ^a | 438 ± 11 ^a | 436 ± 57 ^a |
| Acetona | 7852 ± 291 ^a | 1806 ± 67 ^a | 551 ± 7 ^b | 523 ± 24 ^a |
| Média | 7366 ± 354 | 1694 ± 81 | 480 ± 11 | 477 ± 31 |

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n = 3.

^aPS: Peso seco; ^bPF: Peso fresco (77% de umidade); ^cTEAC: atividade antioxidante equivalente ao Trolox (µMol TEAC/g).

Letras diferentes em uma mesma coluna representam diferença estatística (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Tabela 2. Conteúdo de polifenóis totais (PT) e Atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos de bagaço de uva variedade Regente (solventes a 50% em meio aquoso acidificado com HCl 0,1% v/v).

| Amostras | PT (mg GAE/100g de bagaço) | | DPPH – TEAC ^c | ABTS – TEAC ^c |
|----------|----------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | PS ^a | PF ^b | | |
| Etanol | 5230 ± 96 ^b | 1046 ± 19 ^b | 439 ± 18 ^a | 357 ± 12 ^a |
| Metanol | 4354 ± 98 ^a | 871 ± 20 ^a | 443 ± 12 ^a | 454 ± 20 ^b |
| Acetona | 5334 ± 13 ^b | 1067 ± 3 ^b | 556 ± 12 ^b | 447 ± 15 ^b |
| Média | 4973 ± 69 | 995 ± 14 | 479 ± 14 | 419 ± 16 |

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n = 3.

^a PS: Peso seco; ^b PF: Peso fresco (80% de umidade); ^c TEAC: atividade antioxidante equivalente ao Trolox (µMol TEAC/g).

Letras diferentes em uma mesma coluna representam diferença estatística (Tukey HSD, P <0,05).

Atividade Antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH

Os valores médios encontrados em nosso estudo considerando-se os diferentes solventes são, respectivamente, 477 e 419 µMol TEAC/g pelo método ABTS e 480 e 479 µMol TEAC/g pelo método DPPH para Pinot Noir e Regente (Tabelas 1 e 2), respectivamente. Para a variedade Pinot Noir o extrato acetônico apresentou maior atividade pelo método DPPH, não havendo diferença significativa entre os extratos pelo método ABTS (P <0,05). Para a variedade Regente o extrato acetônico apresentou maior atividade pelo método DPPH. Enquanto que pelo método ABTS o extrato metanólico apresentou maior atividade em relação ao extrato acetônico, porém sem apresentar diferença significativa (P <0,05).

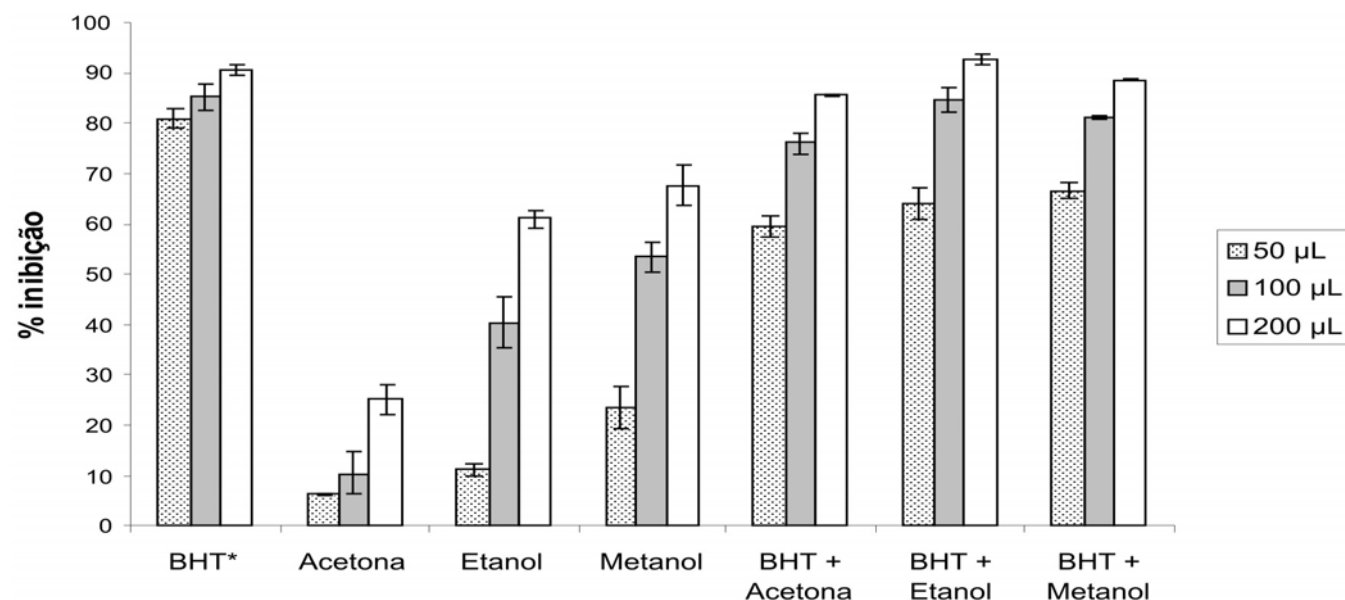
A atividade antioxidante média encontrada no bagaço das uvas é relativamente elevada quando comparada com frutas ricas em antocianinas, como morango (20,6 µMol TEAC/g peso fresco ORAC), descrita por Kalt et al.²², suco de uva e de amora (8,11 – 38,29 µMol TEAC/g peso fresco pelo método ABTS), descrita por Sellappan et al.²³; polpa de açaí (48,6 µMol/mL ORAC),

determinada por Del Pozo-Insfran et al.²⁴; e suco de uva tinta (14,6 – 25,0 µMol TEAC/mL), descrita por Dávalos et al.²⁵.

Em outro estudo Kuskoski et al.²⁶ determinaram atividade antioxidante das polpas de frutas de grande consumo no mercado sul brasileiro (amora, uva, açaí, goiaba, morango, acerola, abacaxi, manga, graviola, cupuaçu e maracujá), aplicando método ABTS. Os valores de atividade antioxidante equivalente ao Trolox obtidos oscilam entre valores mínimos e máximos de 2,0 e 67,6 µMol TEAC/g em peso fresco.

Atividade Antioxidante através do sistema β-caroteno/ácido linoléico

A ação antioxidante dos extratos acetônico, etanólico e metanólico do bagaço das duas variedades de uva também foi avaliada através do sistema modelo β-caroteno/ácido linoléico. O método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. A Figura 1 mostra as porcentagens de inibição da oxidação dos extratos acetônico, etanólico e metanólico da variedade Regente.



* BHT - butil hidroxitolueno

Figura 1. Atividade antioxidante dos extratos acetônico, etanólico e metanólico do bagaço de uva variedade Regente determinada pela oxidação acoplada do β-caroteno/ácido linoléico.

O extrato metanólico teve maiores valores de atividade antioxidante, que indicou com 200µL a melhor proteção contra o processo de oxidação, com uma média de 67,5%, seguido por 53,5% de inibição da oxidação pela mesma amostra com 100µL. Na variedade Pinot Noir (Figura 2) o extrato etanólico teve maiores valores de atividade antioxidante, indicando com 200µL a melhor proteção contra o processo de oxidação com uma média de 63,6%, seguido por 41,1% de inibição da oxidação pela mesma amostra com 100µL.

Estes resultados são inferiores aos dados apresentados no estudo de Moreira e Mancini-Filho²⁷, onde o extrato aquoso de mostarda a 200 ppm apresentou 72% de inibição da oxidação, e o extrato etéreo de canela indicou 83% de atividade antioxidante. Em outro estudo Jayaprakasha et al.²⁸, utilizando diferentes sistemas solventes em extratos de semente de uva, obtiveram 89,3% de inibição com acetato de etila em meio aquoso (proporção 17:3).

Os dados demonstram que o percentual de inibição da oxidação é dose-dependente, ou seja, aumenta com a elevação do volume de solução de extrato aplicada. Outro fato relevante a ser observado é que, ao contrário dos resultados de ABTS e DPPH, os extratos acetônicos foram menos efetivos no ensaio do sistema β-caroteno/ácido linoléico em comparação com os extratos metanólico e etanólico. Este fato pode estar relacionado com a composição fenólica dos extratos, provavelmente determinada pelas características de afinidade polar entre solvente e compostos fenólicos. Frankel et al.²⁹ observaram que antioxidantes de caráter polar apresentaram maior capacidade

antioxidante em sistemas de caráter mais apolar, sendo observado o contrário para antioxidantes de caráter apolar.

Além disso, o extrato etanólico das duas variedades foi o que melhor apresentou sinergismo quando associado ao BHT. A mistura, com volume de 200µL, de antioxidante sintético e extrato (1:1) teve uma performance na inibição da oxidação semelhante, de 92,6% para a variedade Regente e 90,9% para a variedade Pinot Noir, ao BHT puro quando aplicado o mesmo volume, com 91,7% de inibição nos ensaios para as duas variedades.

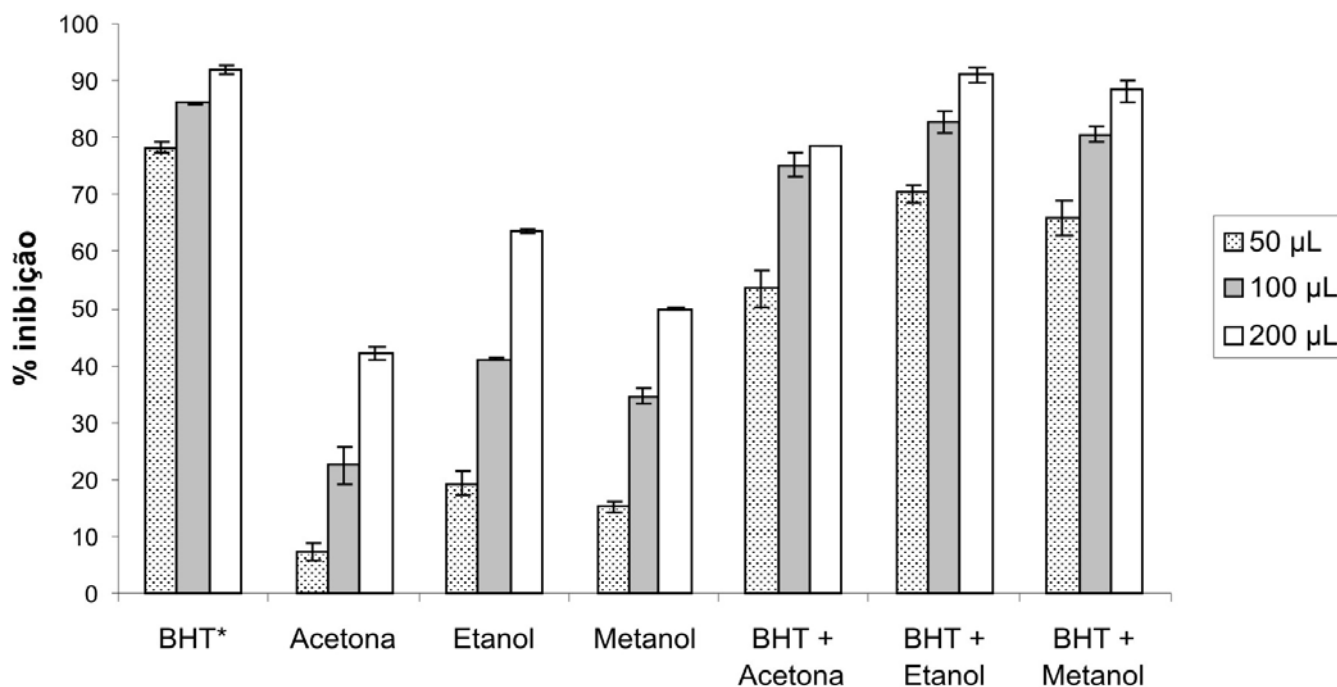
CONCLUSÃO

Considerando que o bagaço de uva é resíduo obtido a partir da separação do mosto na vinificação, o conteúdo total de compostos fenólicos que permanece no bagaço é elevado, comparando-se com a polpa de algumas frutas como abacaxi, cupuaçu, maracujá, graviola e uva.

Os extratos de bagaço de uva avaliados apresentaram potencial antioxidante atuando como inibidores de radicais livres, ou atuando em sinergismo com o antioxidante sintético BHT.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/Capes pelo auxílio financeiro, e a EPAGRI (Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária) de Videira, Estado de Santa Catarina, pelo fornecimento das amostras.



* BHT - butil hidroxitolueno

Figura 2. Atividade antioxidante dos extratos acetônico, etanólico e metanólico do bagaço de uva variedade Pinot Noir determinada pela oxidação acoplada do β-caroteno/ácido linoléico.

REFERÊNCIAS

1. Marinova EM, Yanishlieva NV. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. Food Chem 1997; 58 (3): 245-8.
2. Nakatani N. Antioxidant from spices and herbs. In: Shahidi F, editor. Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications. Champaign: AOCS Press; 1997. p. 64-75.
3. Shrikhande AJ. Wine by-products with health benefits. Food Res Int 2000; 33: 469-74.
4. Alonso A, Guilleán D, Barroso C, Puertas B, Garcia A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. J Agric Food Chem 2002; 50: 5832-6.
5. Negro C, Tommasi L, Miceli A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. Bioresource Technol 2003; 87: 41-4.
6. González-Paramas A, Esteban-Ruano S, Santos-Buelga C, Pascual-Teresa S, Rivas-Gonzalo J. Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. J Agric Food Chem 2004; 52: 234-8.
7. Massignam AM, Dittrich RC. Estimativa do número médio e da probabilidade mensal de ocorrência de geadas para o Estado de Santa Catarina. R Bras Agromet 1998; 6 (2): 213-20.
8. Valderrama P, Marangoni F, Clemente E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em Maçã (*Mallus comunis*). Ciênc Tecnol Aliment 2001; 21 (3): 321-5.
9. Troiani EP, Tropiani CT, Clemente D. Peroxidase (POD) and Polyphenoloxidase (PPO) in grape (*Vitis vinifera* L.). Ciênc Agrotec 2003; 27 (3): 635-42.
10. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Viticul 1965; 16: 144-58.
11. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio Med 1999; 26: 1231-7.
12. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Bio Med 1996; 20: 933-56.
13. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm-Wiss Technol 1995; 22: 25-30.
14. Kim D-O, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. J Agric Food Chem 2002; 50: 3713-7.
15. Marco GJ. A rapid method for evaluation of antioxidants. J Am Oil Chem Soc 1968; 45: 594-8.
16. Miller HE. A simplified method for the evaluation of antioxidants. J Am Oil Chem Soc 1971; 48: 91.
17. Llobera A, Cañellas J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Mano Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. Food Chem 2007; 101: 659-66.
18. Yilmaz Y, Toledo R. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry by products and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. J Food Compos Anal 2006; 19: 41-8.
19. Kammerer D, Claus A, Carle R, Schieber A. Polyphenol screening of pomace from red and white grapevarieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. J Agric Food Chem 2004; 52: 4360-7.
20. Kuskoski EM, Asuero AG, Morales MT, Fett R. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. Ciênc Rural 2006; 36 (4): 1283-1287.
21. Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. J Agric Food Chem 2002; 50: 7449-54.
22. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. J Agric Food Chem 1999; 47: 4638-44.
23. Sellappan S, Akoh CC, Krewer G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. J Agric Food Chem 2002; 50: 2432-8.
24. Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Talcott ST. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). J Agric Food Chem 2004; 52: 1539-45.
25. Dávalos A, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. Food Chem 2005; 93: 325-30.
26. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc Tecnol Aliment 2005; 25 (4): 726-32.
27. Moreira AVB, Mancini-Filho J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva doce em sistemas aquoso e lipídico. Nutrire 2003; 25: 31-46.
28. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. Food Chem 2001; 73: 285-90.
29. Frankel EN, Huang S-W, Kanner J, German JB. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. J Agric Food Chem 1994; 42: 1054-59.