UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS

MAITÊ FRANCIELLE OLIVEIRA
SABRINA YURI ODO ROCHA

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE PÃO ENRIQUECIDO COM COMPOSTOS BIOATIVOS DO BAGAÇO DA UVA (*Vitis labrusca*)

Limeira
2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS

MAITÊ FRANCIELLE OLIVEIRA
SABRINA YURI ODO ROCHA

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE PÃO ENRIQUECIDO COM COMPOSTOS BIOATIVOS DO BAGAÇO DA UVA (*Vitis labrusca*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição pela Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Ariel Rostagno
Coorientadora: Profa. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra

Limeira
2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva – CRB 8/9281

OL4a

Oliveira, Maitê Francielle, 1999-
Análise da produção de pão enriquecido com compostos bioativos do bagaço da uva (*Vitis labrusca*) / Maitê Francielle Oliveira; Sabrina Yuri Odo Rocha. - Limeira, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Mauricio Ariel Rostagno
Coorientador: Rosângela Maria Neves Bezerra
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Alimentos funcionais. 2. Propriedades funcionais. 3. Bagaço de uva. I. Rocha, Sabrina Yuri Odo, 1996-. II. Rostagno, Mauricio Ariel, 1974-. III. Bezerra, Rosangela Maria Neves, 1957-. IV. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. V. Título.

Informações adicionais, complementares

Titulação: Bacharéis em Nutrição
Data de entrega do trabalho definitivo: 13-01-2021

Autoras: Maitê Francielle Oliveira, Sabrina Yuri Odo Rocha

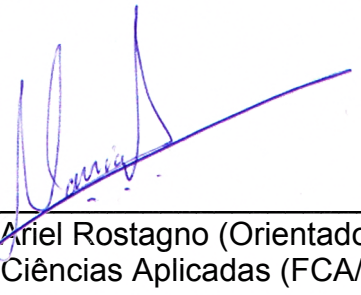
Título: Análise da produção de pão enriquecido com compostos bioativos do bagaço da uva (*Vitis labrusca*)

Natureza: Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição

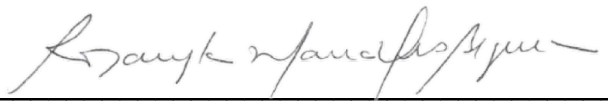
Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas

Aprovado em: 13/01/2021.

BANCA EXAMINADORA



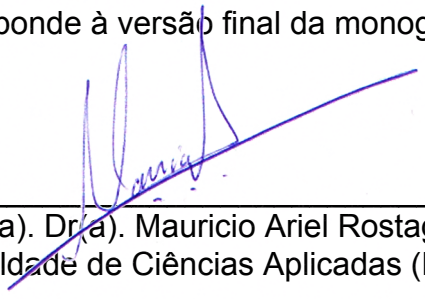
Prof. Dr. Mauricio Ariel Rostagno (Orientador) – Presidente
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)



Profa. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra – Coorientadora
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Vitor Lacerda Sanches – Avaliador
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Este exemplar corresponde à versão final da monografia aprovada.



Prof(a). Dr(a). Mauricio Ariel Rostagno (Orientador)
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Dedicamos este trabalho aos nossos pais que sempre nos apoiaram.
Às nossas amigas que estão sempre ao nosso lado.
E aos nossos companheiros que nos deram forças para continuar.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente ao nosso orientador Prof. Dr. Mauricio Ariel Rostagno, que nos mostrou o caminho a ser seguido. A nossa coorientadora Profª. Drª. Rosângela Maria Neves Bezerra pelo carinho e dedicação ao pacientemente nos direcionar.

Agradecemos igualmente à todos do Laboratório Multidisciplinar em Alimentos e Saúde (LABMAS) pelas contribuições para a realização desse projeto, especialmente à Mariana Corrêa de Souza, Luis Gustavo Saboia Ponte, Rodrigo Pizani, Luiz Salvino e Laise Capelasso.

Agradecimentos também à Bruna Mara Postingher da empresa uva'só por disponibilizar o resíduo da uva para compra colaborando com a execução do projeto.

Da mesma forma agradecemos uma à outra pelo apoio e dedicação dados a este trabalho.

“O professor medíocre conta.
O bom professor explica.
O professor superior demonstra.
O grande professor inspira.”
(William Arthur Ward)

OLIVEIRA, Maitê Francielle; ROCHA, Sabrina Yuri Odo. Análise da produção de pão enriquecido com compostos bioativos do bagaço da uva (*Vitis labrusca*). 2021. nº40. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2021.

RESUMO

No Brasil, a indústria vinícola gera toneladas de resíduos, sendo um deles o bagaço da uva, composto principalmente por casca e semente, que é rico em compostos antioxidantes devido à sua extração incompleta. No momento, há uma tendência na elaboração de produtos de panificação funcionais, visto que diversas doenças estão associadas aos malefícios causados pelos radicais livres e cada vez mais as pessoas estão se preocupando com a saúde. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi explorar o extrato do bagaço da uva (casca e semente) como aditivo no pão e verificar se os compostos antioxidantes permanecem após a cocção, produzindo, assim, um alimento funcional e proporcionando uma aplicabilidade a esse resíduo industrial considerado um significativo poluente ambiental. Extratos de casca da uva (ECU), semente da uva (ESU) e casca mais semente da uva (ECSU) foram preparados e posteriormente acrescentados aos pães nas concentrações 25, 50, 75 e 100%. Análise de Fenólicos Totais (FT), de Capacidade Antioxidante (CA) por ABTS e FRAP e de HPLC foram realizadas para as 26 amostras selecionadas. O enriquecimento dos pães com extrato do bagaço da uva mostrou-se eficiente, uma vez que aumentou a concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante após o processamento térmico dos pães, exceto nas análises pelo método FRAP dos pães enriquecidos com os extratos de semente e casca mais semente da uva.

Palavras-chave: 1. pão 2. bagaço da uva 3. alimento funcional 3. antioxidantes 4. poluente ambiental.

OLIVEIRA, Maitê Francielle; ROCHA, Sabrina Yuri Odo. Análise da produção de pão enriquecido com compostos bioativos do bagaço da uva (Vitis labrusca). 2021. nº40. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2021.

ABSTRACT

In Brazil, the wine industry generates tons of waste, one of which is grape marc, composed mainly of skin and seeds, which is rich in antioxidant compounds due to its incomplete extraction. At the moment, there is a trend in the elaboration of functional bakery products, since several diseases are associated with the harm caused by free radicals. Therefore, the objective of this work was to explore the grape marc extract (skin and seed) as a food additive to the bread. To check if the antioxidant compounds remain after cooking, thus producing a functional food and providing an applicability to this industrial residue considered a significant environmental pollutant. Grape skin (ECU), grape seed (ESU) and grape skin plus seed (ECSU) extracts were prepared and later added to breads in concentrations 25, 50, 75 and 100%. Analysis of Total Phenolics (TF), and Antioxidant Capacity (CA) for ABTS and FRAP method, and HPLC were performed for the 26 selected samples. The addition of grape marc in breads proved to be efficient, since it increased the concentration of phenolic compounds and antioxidant capacity after the thermal processing of the breads, except in the analysis by the FRAP method, bread with grape seed (ESU) and grape skin plus seed (ECSU) extracts.

Keywords: 1. grape bread 2. grape skin and seed 3. total phenolics 4. antioxidant capacity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Comparação da concentração de compostos fenólicos e da CA presentes nos pães crus pelos métodos ABTS e FRAP nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (*) Diferença estatística entre o pão com concentração inferior do extrato para p<0,05 24

Figura 2 Comparação da concentração de compostos fenólicos totais presentes no pão cru e assado nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05 26

Figura 3 Comparação da CA presente no pão cru e assado pelo método ABTS nas diferentes concentrações de ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75% e 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05..... 27

Figura 4 Comparação da CA presente no pão cru e assado pelo método FRAP nas diferentes concentrações de ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75% e 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05..... 29

Figura 5 Comparação da concentração de compostos fenólicos e de antioxidantes presentes nos pães assados pelos métodos ABTS e FRAP nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (*) Diferença estatística entre o pão com porcentagem inferior de substituição do extrato. (•) Diferença estatística entre ECU e ESU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, (■) diferença estatística entre ECU e ECSU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, (▲) diferença estatística entre ESU e ECSU no mesmo nível

	de concentração do extrato no pão, para p<0,05…….……	31
Figura 6	Cromatogramas representativos das amostras do ECU, ESU e ECSU…….....	33
Figura 7	Cromatogramas representativos das amostras de pão cru e assado enriquecidos com ECU……..	34
Figura 8	Pães assados enriquecidos com ECU…….	35
Figura 9	Pães assados enriquecidos com ESU…….	35
Figura 10	Pães assados enriquecidos com ECSU…….	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Formulação padrão utilizada para o pão de 100 gramas……..... 19

Tabela 2 Concentração do extrato e a porcentagem de incremento nos pães crus..... 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LABMAS	Laboratório Multidisciplinar de Alimento e Saúde
FCA	Faculdade de Ciências Aplicadas
ECU	Extrato da Casca de Uva
ESU	Extrato da Semente de Uva
ECSU	Extrato da Casca e Semente de Uva
CA	Capacidade Antioxidante
FT	Fenólicos Totais
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
ABTS	Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ANOVA	Analysis Of Variance

LISTA DE SÍMBOLOS

✱	Diferença estatística entre o pão com concentração inferior do extrato para p<0,05
#	Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05
●	Diferença estatística entre ECU e ESU no mesmo nível de concentração do extrato no pão
■	Diferença estatística entre ECU e ECSU no mesmo nível de concentração do extrato no pão
▲	Diferença estatística entre ESU e ECSU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, para p<0,05

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
2.	METODOLOGIA.....	18
2.1.	Obtenção de amostras e ingredientes……..	18
2.2.	Preparo do extrato dos bagaços da uva……..	18
2.3.	Formulação dos pães……..	19
2.4.	Extração dos compostos…….	19
2.5.	Análise da capacidade antioxidante (CA).....	20
2.6.	Análise de fenólicos totais (FT).....	21
2.7.	Análise por cromatografia líquida……..	21
2.8.	Análise estatística…….....	22
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO……	22
3.1.	Análise de FT, ABTS e FRAP…….....	22
3.2.	Cromatograma……..	32
3.3.	Coloração dos pães…….	34
4.	CONCLUSÃO…….....	36
	REFERÊNCIAS…….....	37

1. INTRODUÇÃO

A vitivinicultura é uma atividade de relevância econômica mundial, anualmente produz-se aproximadamente 60 milhões de toneladas, sendo 80% da fabricação designada à confecção de vinhos e derivados (BENNEMANN *et al.*, 2018). O Brasil é um grande produtor de frutas, sendo as uvas uma das principais produzidas. As espécies *Vitis vinífera* e *Vitis labrusca* são as mais cultivadas, sendo a primeira empregada para produção de vinhos finos e a segunda para vinhos de mesa e consumo (RIBEIRO, 2016).

No geral, as uvas são utilizadas como matéria prima na fabricação de vinhos, sucos, geleias, e passas. O suco de uva é bastante consumido por ser uma bebida prática, saborosa e nutritiva (FREITAS, 2007). Nos últimos anos a produção nacional de sucos de uva tem aumentado (PEREIRA *et al.*, 2013) devido ao crescimento significativo pela procura de sucos, particularmente do integral pronto para beber (COSTA, 2019).

As uvas se destacam devido ao seu alto teor de antioxidantes, compostos bioativos que protegem nossas células dos efeitos dos radicais livres, substâncias que causam danos à saúde humana (SILVA *et al.*, 2010). Na alimentação esses antioxidantes preservam a qualidade dos alimentos e diminuem o risco de doenças crônicas, como câncer, diabetes e aterosclerose (ANGELO; JORGE, 2007).

O reino vegetal possui as principais fontes antioxidantes naturais devido ao seu conteúdo de compostos fenólicos, os quais nas uvas são identificados como flavonóides, ácidos fenólicos e resveratrol (ANGELO; JORGE, 2007; ABE *et al.*, 2007). Os flavonóides (catequina, epicatequina, procianidinas e antocianinas), ácidos fenólicos e resveratrol, estão presentes na casca e sementes das uvas (SOARES *et al.*, 2008). Os flavonóides além de antioxidantes têm capacidade antiinflamatória, antialérgica e antiplaquetária (ZOPELLARO; SILVA; LOVATO, 2019).

O bagaço da uva é o resíduo predominante da vinificação, produzido em decorrência da prensagem das uvas, formado por casca, sementes, engaço e mosto, sendo o engaço a sustentação do cacho e o mosto o suco que não foi fermentado. No Brasil, apenas uma fração do bagaço é utilizada para produzir graspa, um destilado de uva, a maior porção desse resíduo é utilizada para fertilização do solo e incremento à ração animal. Pela biodegradação do resíduo ser

longa, não é possível transformar toda a matéria orgânica até a próxima safra e devido à sua grande quantidade de fibras, não pode ser exclusivamente ofertado à alimentação animal tornando-o um poluente ambiental (RIBEIRO, 2016; ROCHA, *et al.*, 2019).

O bagaço ainda possui grande quantidade de compostos bioativos devido a extração incompleta no processo de produção, principalmente flavonóides e não flavonóides. Os flavonoides são os flavanóis, flavonóis, flavonas e antocianidinas e os não flavonóides são ácidos benzoicos, fenólicos, cinâmicos e estilbenos (RIBEIRO, 2016). Sua composição é principalmente a casca, que possui fibras, água, compostos fenólicos e antocianinas que dão sua coloração, e sementes, compostas por fibras, óleo, proteínas, minerais, açúcares e compostos fenólicos como taninos, além disso, também possuem ácido linoleico, ácido graxo poli-insaturado, catequinas e epicatequinas, ácido gálico e resveratrol (RIBEIRO, 2016). A partir da extração da semente podem ser obtidos óleos ricos em ácidos graxos insaturados, como o ácido linoleico ou ômega-6 (ROCHA *et al.*, 2019).

Esses resíduos são uma fonte de baixo custo para obtenção desses compostos, podendo ser adicionados a alimentos a fim de melhorar seu valor nutricional (ROCKENBACH *et al.*, 2007). De acordo com a American Dietetic Association (1999) alimentos funcionais são aqueles enriquecidos, fortificados ou integrais, que para serem definidos como funcionais devem fornecer benefícios à saúde além dos nutrientes. A prática de enriquecimento de alimentos é feita com a função de melhorar o valor nutricional dos mesmos (BORGES *et al.*, 2011).

Recentemente, devido ao aumento da conscientização entre alimentação e saúde, maior demanda por alimentos saudáveis e crescente prevalência de doenças ocasionadas por mudanças no perfil alimentar e hábitos alimentares da população, como obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e câncer, a pesquisa científica e indústria de panificação começaram a investir na melhora da qualidade dos produtos de panificação para atender às necessidades dos consumidores (CONTE *et al.*, 2016). Os padrões nutricionais desses alimentos podem ser melhorados através da adição de fibras, proteínas, antioxidantes naturais e prebióticos (RAHAIE, 2014).

O pão é um alimento mais antigo e amplamente consumido no mundo, sendo atrativo pelo preço, sabor e disponibilidade. Representando uma importante fonte calórica da dieta brasileira, fornecendo energia e nutrientes (BORGES *et al.*, 2011).

No momento, há uma forte tendência na elaboração de produtos de panificação funcionais, assim o estudo do enriquecimento do pão com o bagaço da uva é relevante, uma vez que os compostos bioativos são sensíveis ao aumento da temperatura, podendo ser degradados e outros formados (KIM *et al*., 2006; PENG *et al.*, 2010).

Neste contexto, o presente trabalho propõe enriquecer o pão com os extratos dos componentes do bagaço da uva (casca e semente), agregando ao alimento propriedades funcionais, através da substituição da água na receita do pão por um extrato do resíduo da uva, verificar se esses compostos permanecem após a cocção e ao mesmo tempo dar uma finalidade ao resíduo produzido pelas vinícolas.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção de amostras e ingredientes

Foi realizado o contato com a empresa de suco de uva integral, uva'só, localizada no Rio Grande do Sul. As amostras de cascas e sementes de uva foram enviadas secas, da variedade de uva Bordô (*Vitis labrusca*), e recebidas em agosto de 2019 no Laboratório Multidisciplinar de Alimento e Saúde (LABMAS) da Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA). Os ingredientes para formulação dos pães foram adquiridos em estabelecimentos comerciais da cidade de Limeira.

2.2. Preparo do extrato dos bagaço da uva

Foram realizadas extrações em banho de ultrassom com três tipos de amostras, a primeira com 15 g de casca da uva, a segunda com 15 g de semente da uva e a terceira com 15 g de casca mais semente de uva. Os solventes utilizados foram 100 mL de água ultrapura para a primeira extração, 100 mL de etanol 50% para a segunda extração e 100 mL de etanol 100% para a terceira. O banho de ultrassom foi preparado em frequência 37 kHz, temperatura 50°C, potência 100 por 30 minutos. Os extratos foram filtrados em filtros de café de papel número 103, colocados no rota-evaporador até secarem e diluídos em 20 mL de água ultrapura. O extrato da casca de uva (ECU), extrato da semente de uva (ESU) e o extrato da casca mais semente de uva (ECSU) foram armazenados a -20º C para serem utilizados posteriormente para elaboração dos pães e análises.

2.3. Formulação dos pães

Foram utilizadas diferentes porcentagens de substituição da água da formulação pelo extrato concentrado (25%, 50%, 75% e 100%) dos ECU, ESU e ECSU para a produção dos pães experimentais. A formulação padronizada* para um pão de 100 gramas foi a referência dos pães controle (Tabela 1). Inicialmente os ingredientes foram pesados, os secos foram colocados em um bowl juntos e misturados, em seguida foi adicionada a água misturando tudo até obter uma massa homogênea. O primeiro descanso da massa foi de cinco minutos, após esse tempo a massa foi sovada e descansou por mais quarenta minutos. A estufa foi aquecida a 180ºC, os pães assados por 25 minutos e posteriormente armazenados no freezer a -20ºC.

Tabela 1. Formulação padrão utilizada para o pão de 100 gramas.

Ingredientes	**0% (controle)**	**25%**	**50%**	**75%**	**100%**
Farinha	63 g	63 g	63 g	63 g	63 g
Fermento	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g
Água	35 mL	26,2 mL	17,4 mL	8,6 mL	-
Extrato	-	8,8 mL	17,6 mL	26,4 mL	35 mL

Fonte: Autoras (2021)

*Foram excluídos açúcar, gordura, sal, leite em pó para diminuir a complexidade da amostra e facilitar a leitura dos compostos.

2.4. Extração dos compostos

Foram realizadas extrações dos compostos dos vinte e seis tipos de amostras (pães crus e assados). A extração foi seriada e os solventes utilizados foram 100 mL de água ultrapura para a primeira extração em banho de ultrassom, 100 mL de metanol 50% para a segunda extração e 100 mL de metanol 100% para a terceira. O banho de ultrassom foi preparado em frequência 37 kHz, temperatura 50°C, potência 100 por 30 minutos. Os extratos foram filtrados em filtros de café de papel número 103. Os extratos obtidos foram misturados, completados com água

ultrapura até 100 mL e filtrados com filtro de seringa para posterior análise de fenólicos totais e capacidade antioxidante (CA). Os extratos dos compostos dos pães foram armazenados a -20ºC.

2.5. Análise da capacidade antioxidante (CA)

A análise da capacidade antioxidante dos pães crus e assados foi realizada em triplicata em microplaca, através de dois métodos: o método FRAP, segundo a metodologia de MÜLLER, L. *et al.*, (2010), mede a capacidade antioxidante através da redução do ferro e o método ABTS, segundo a metodologia de AL-DUAIS, M. *et al.*, (2009), verifica a CA através da geração do radical ABTS.

Para realizar o procedimento FRAP, foram utilizado os reagentes tampão acetato de potássio 0,3 M e pH 3,6, solução HCL 40 mM, solução TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina) 10 mM em HCL 40 mM, solução cloreto férrico hexa hidratado 20 mM em água destilada, solução padrão de sulfato ferroso heptahidratado 2,5 mM e solução FRAP. A solução padrão traz os pontos da curva analítica: 100, 250, 400, 550 e 700 lμM. Posteriormente, o leitor de placas foi ajustado em um comprimento de onda 595 nm e temperatura 37ºC. Em microplaca 20 μL de água (branco), solução padrão e as amostras foram pipetadas, 30 μL de água destilada e por último 2000 μL do reagente FRAP, preparado no momento da análise. A placa foi inserida no leitor de placas e realizada a leitura após 8 minutos de incubação. Os resultados obtidos da placa foram usados para os cálculos da atividade antioxidante expressos em equivalentes de sulfato ferroso por meio da equação da reta adquirida através da curva de calibração. A curva é construída plotando-se a concentração no eixo y e absorbância no eixo x.

Para a execução do método ABTS foram utilizado os reagentes tampão fosfato de potássio 75 mM pH 7,4, solução ABTS 7 mM em água destilada, solução persulfato de potássio 140 mM em água destilada, solução radical ABTS ajustada à absorbância de 0,7 ± 0,02 com tampão fosfato de potássio 75 mM pH 7,4, por último solução padrão de Trolox 2,5 mM em tampão fosfato de potássio 75 mM pH 7,4. A solução padrão traz os pontos da curva analítica: 200, 150, 100, 50, 12,5 μM. Posteriormente, o leitor de placas foi ajustado em um comprimento de onda 730 nm. Em microplaca 240 μL de tampão fosfato (branco), 20 μL de solução padrão e amostras foram pipetados e 220 μL de solução do radical ABTS ajustada à absorbância de 0,7 ± 0,02. A placa foi inserida no equipamento, agitada e realizada

a leitura após 6 minutos reagindo ao abrigo da luz. Os resultados obtidos da placa foram usados para os cálculos da atividade antioxidante expressos em equivalentes de Trolox por meio da equação da reta adquirida através da curva de calibração. A curva é construída plotando-se a concentração no eixo y e absorbância no eixo x.

2.6. Análise de fenólicos totais (FT)

A análise dos fenólicos totais descrita por Singleton *et al*. (1999) e adaptada para microvolume, foi realizada segundo a metodologia de AL-DUAIS, M. *et al*., (2009) em triplicata. O método utiliza o reagente Folin-Ciocalteau baseado em reações de oxi-redução entre os compostos fenólicos e íons metálicos e a leitura feita por espectrofotometria. Para realizar o procedimento de determinação da concentração de fenólicos totais, foram utilizado os reagentes solução de Folin-Ciocalteau 10% em água destilada, solução de carbonato de sódio 7,5% em água destilada e solução padrão de ácido gálico 500 µg/mL em água destilada. A solução padrão traz os pontos da curva analítica: 20, 40, 60, 80, 100, 120 µg/mL. Posteriormente, o leitor de placas foi ajustado em um comprimento de onda 740 nm. Em microplaca 20 µL de água (branco) e da amostra e 100 µL da solução Folin-Ciocalteau 10% foram pipetados, após 5 minutos foram adicionados 75 µL da solução de carbonato de sódio 7,5%. A placa foi inserida no equipamento, agitada e realizada a leitura após 40 minutos ao abrigo da luz. Os resultados obtidos da placa foram usados para os cálculos da atividade antioxidante expressos em ácido gálico por meio da equação da reta adquirida através da curva de calibração. A curva é construída plotando-se a concentração no eixo y e absorbância no eixo x.

2.7. Análise por cromatografia líquida

Foi feita a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) no sistema Extract-US (FAPESP 2013/04304-4). A separação dos compostos foi realizada utilizando uma coluna tipo Fused-core (Kinetex C18, 2,6 µm, 100 A, 100×4,6 mm, Phenomenex, Torrance, CA, EUA). A absorbância UV foi monitorizada em 280 nm. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C e o fluxo a 1,1 mL/min. A fase móvel foi composta de água (0,1% ácido fosfórico) (solvente A) e acetonitrila (0,1% ácido fosfórico) (solvente B). O perfil de gradiente foi o seguinte: 2 minutos (7% B), 5 minutos (10% B), 14 minutos (15% B), 25 minutos (40% B), 29 minutos (100% B), 33 minutos (100% B), 34 minutos (5% B). O volume de injeção foi de 5 µL.

2.8. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. A comparação entre os pães crus e assados em diferentes concentrações (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) foi realizada através da análise ANOVA de dois fatores seguida do teste de Tukey. Os testes foram realizados utilizando o software SigmaPlot 12.0. Para todos os testes considerou-se significativo valor de $p<0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento térmico faz parte da cocção comum dos alimentos, sendo a forma mais popular de processamento de alimentos. Durante o aquecimento, ocorrem várias reações que podem ser difíceis de serem determinadas pelo tamanho de sua complexidade, mas com papel fundamental para determinar atributos de qualidade ao alimento, características estas, sensoriais, de valor nutricional e de segurança. Embora muitos compostos sejam degradados por causa do calor, outros novos podem ser gerados a partir destes. Alguns desses compostos contribuem significativamente para as propriedades organolépticas dos alimentos, como cor e sabor (KIM *et al.*, 2006; PENG *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos, segundo Malacrida e Motta (2005), são sensíveis ao aumento da temperatura, principalmente as antocianinas que são facilmente degradadas durante o processamento e armazenamento. Em contrapartida, as reações causadas pelo calor podem gerar compostos com efeitos antioxidantes e quimiopreventivos, mas alguns podem ter ações prejudiciais à saúde (PENG *et al.*, 2010). No presente estudo foi demonstrado que os compostos, em sua maior parte, não foram degradados após o processamento térmico dos pães, sendo esse resultado mostrado pela análise de FT e CA pelos métodos FRAP e ABTS.

3.1. Análise de FT, ABTS e FRAP

Verificou-se que os compostos fenólicos e CA aumentaram significativamente nos pães assados em relação aos crus com a adição de quatro níveis de concentrações diferentes das formulações ECU, ESU e ECSU. Os gráficos demonstram que um nível mais alto de adição dos diferentes extratos resulta em um

conteúdo maior de compostos fenólicos e CA, ou seja, conforme o aumento das concentrações maior o valor de compostos FT e CA dos pães.

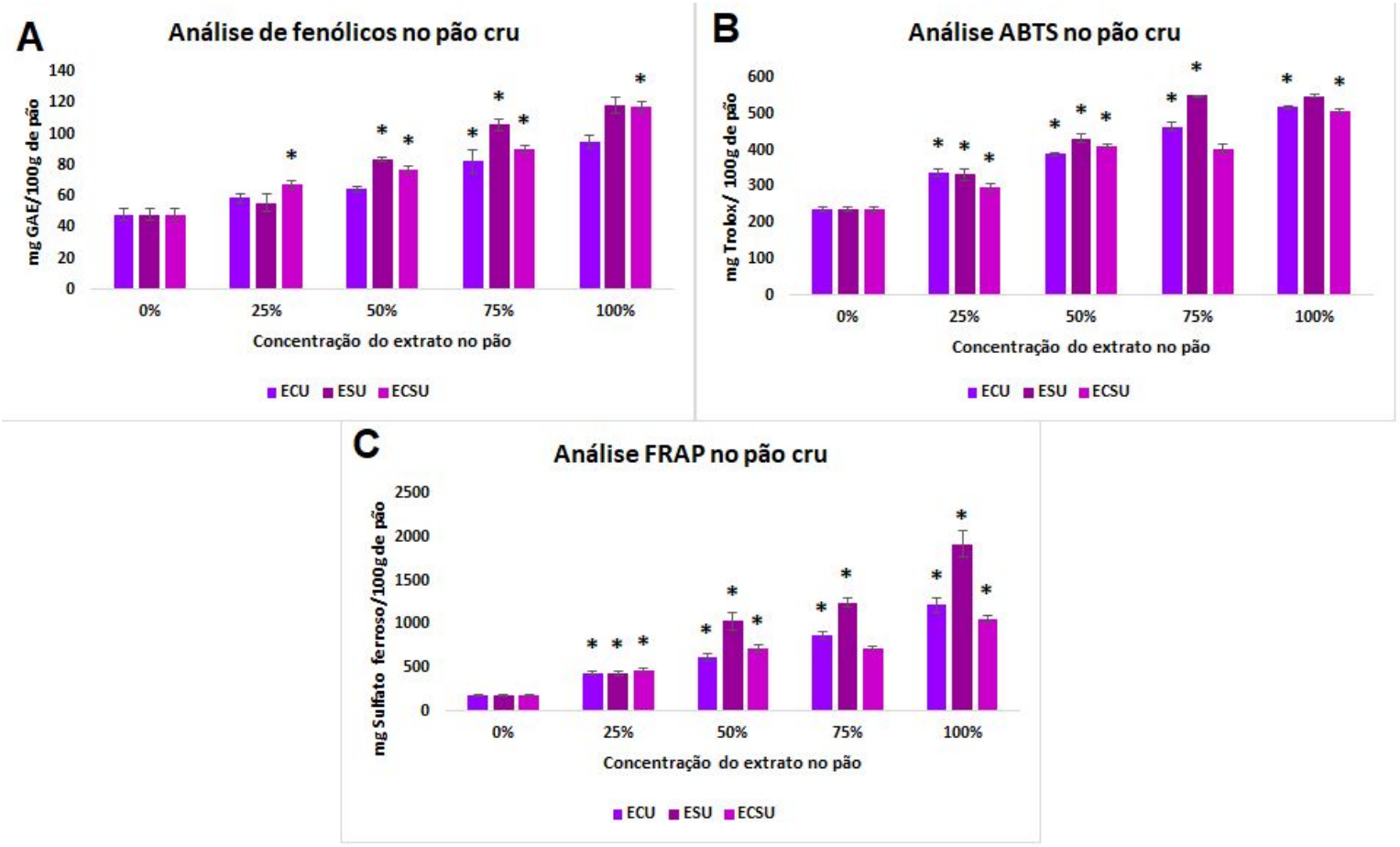
A figura 1A no gráfico da análise de fenólicos no pão cru, demonstra um aumento estatisticamente significativo de fenólicos comparando os pães com concentração inferior do extrato, menos as concentrações 25% ECU e ESU, 50% ECU e 100% ECU e ESU. Isso se deve a taxa de incremento de fenólicos na massa, pois quanto maior o volume do extrato, maior a quantidade de fenólicos encontrada na massa crua. É possível perceber esse fato na elaboração do pão, pois quanto maior a concentração do extrato mais roxo escuro a massa ficou. Apesar de algumas concentrações não terem um aumento significativo, ainda sim nota-se um aumento nos dados brutos, resultado do incremento do extrato na massa.

Ao observar o gráfico de análise ABTS no pão cru (Figura 1B), nota-se que as concentrações dos pães enriquecidos com os três extratos tiveram um crescimento significativo na CA em comparação com os pães de concentração inferior do extrato, exceto as concentrações 75% ECSU e 100% ESU.

No gráfico da análise FRAP no pão cru (Figura 1C), verifica-se que as formulações nas diferentes concentrações tiveram aumento na CA em relação aos pães com concentração inferior do extrato, apenas a concentração 75% ECSU não teve um aumento significativo.

Embora algumas concentrações não demonstraram crescimento significativo, observa-se um aumento nos valores brutos dos pães conforme o acréscimo do extrato. O aumento da CA deve-se ao fato da incorporação de fenólicos na massa, de acordo com a porcentagem de incremento.

Figura 1. Comparação da concentração de compostos fenólicos e da CA presentes nos pães crus pelos métodos ABTS e FRAP nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (*) Diferença estatística entre o pão com concentração inferior do extrato para p<0,05.



Fonte: Autoras (2021)

Ao analisar a tabela 2 percebe-se que a concentração que foi utilizada para adicionar o extrato no pão difere da taxa de incremento, possivelmente há uma interação entre as substâncias da massa crua com os compostos dos extratos, podendo formar complexos estruturais, funcionais e nutricionais. As interações de proteína-fenólicos podem levar a alterações nas propriedades físico-químicas das proteínas, como solubilidade, estabilidade térmica e digestibilidade. Existem muitos parâmetros que afetam as interações proteína-fenólicos, como temperatura, pH, tipos de proteínas, concentração de proteínas, tipos e estruturas de compostos fenólicos, concentração de sal e adição de certos reagentes (OZDAL *et al.*, 2013). O reagente Folin-Ciocalteu baseia-se na transferência de elétrons e determinação da capacidade redutora do extrato, podendo reagir com substâncias redutoras

intrínsecas dos produtos vegetais como tióis, aminoácidos, proteínas, algumas vitaminas e íons orgânicos, que interferem nos resultados (MARGRAF, 2015). Portanto há a possibilidade de serem outros compostos reagindo com o reagente Folin-Ciocalteu e não apenas compostos fenólicos.

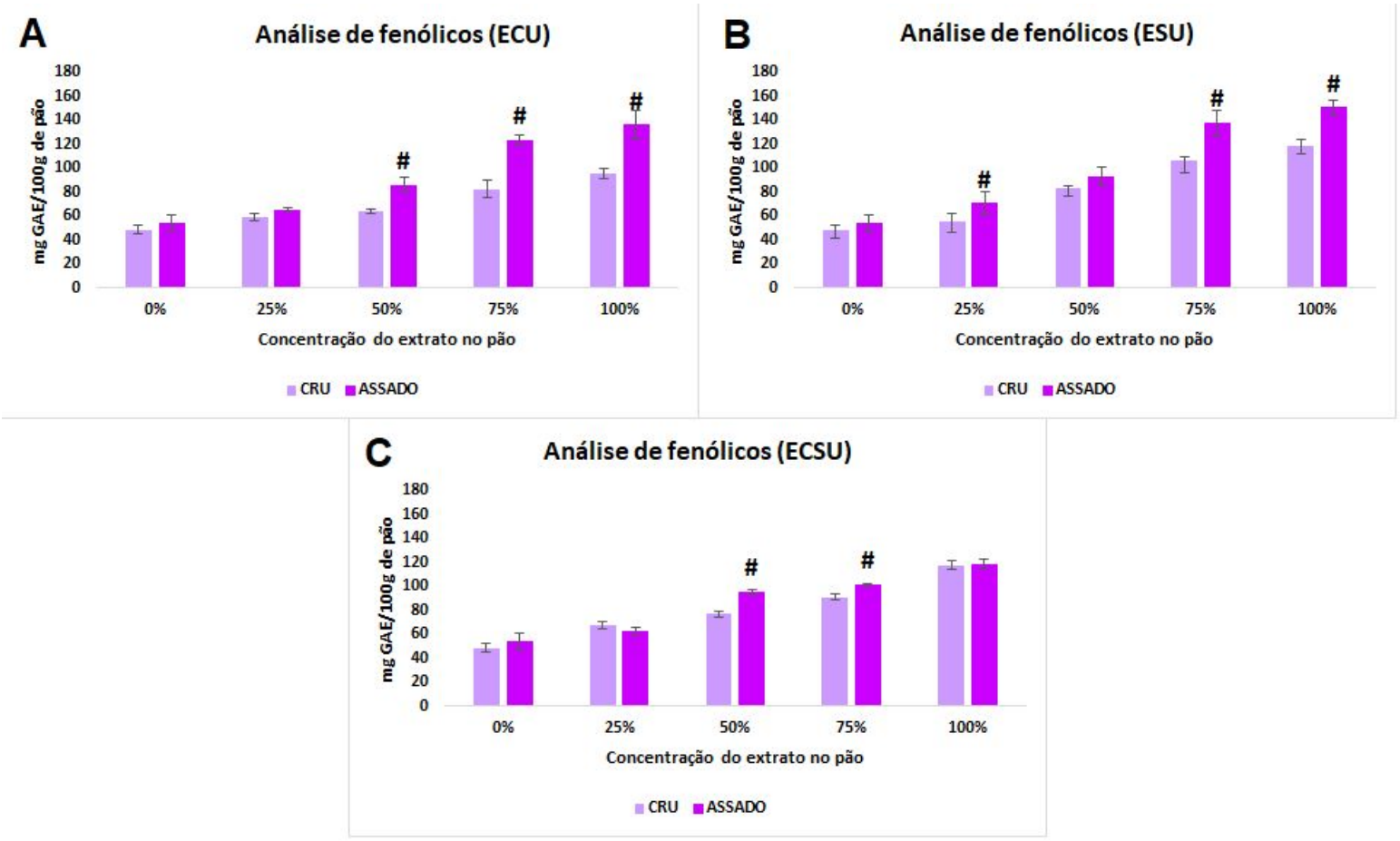
Tabela 2. Comparação entre a concentração do extrato e a porcentagem de incremento nos pães crus.

	ECU	**ESU**	**ECSU**
Concentração (%)	**Incremento (%)**		
25%	58,89	55,76	67,32
50%	64,40	83,62	76,93
75%	82,22	105,66	90,54
100%	94,97	118,29	117,11

Fonte: Autoras (2021)

A figura 2 mostra a comparação de fenólicos totais entre o pão cru e assado nas concentrações dos diferentes extratos. O gráfico de análise de fenólicos ECU (Figura 2A), demonstra que os pães assados tiveram maior concentração estatisticamente significativa de fenólicos exceto na concentração 25%. No gráfico ESU (Figura 2B) , as concentrações 25%, 75% e 100% obtiveram diferença estatística no crescimento dos fenólicos dos pães assados em relação aos pães crus, porém a concentração 50% não obteve essa diferença. No gráfico ECSU (Figura 2C), apenas as concentrações 50% e 75% tiveram aumento dos fenólicos nos pães assados em comparação aos pães crus.

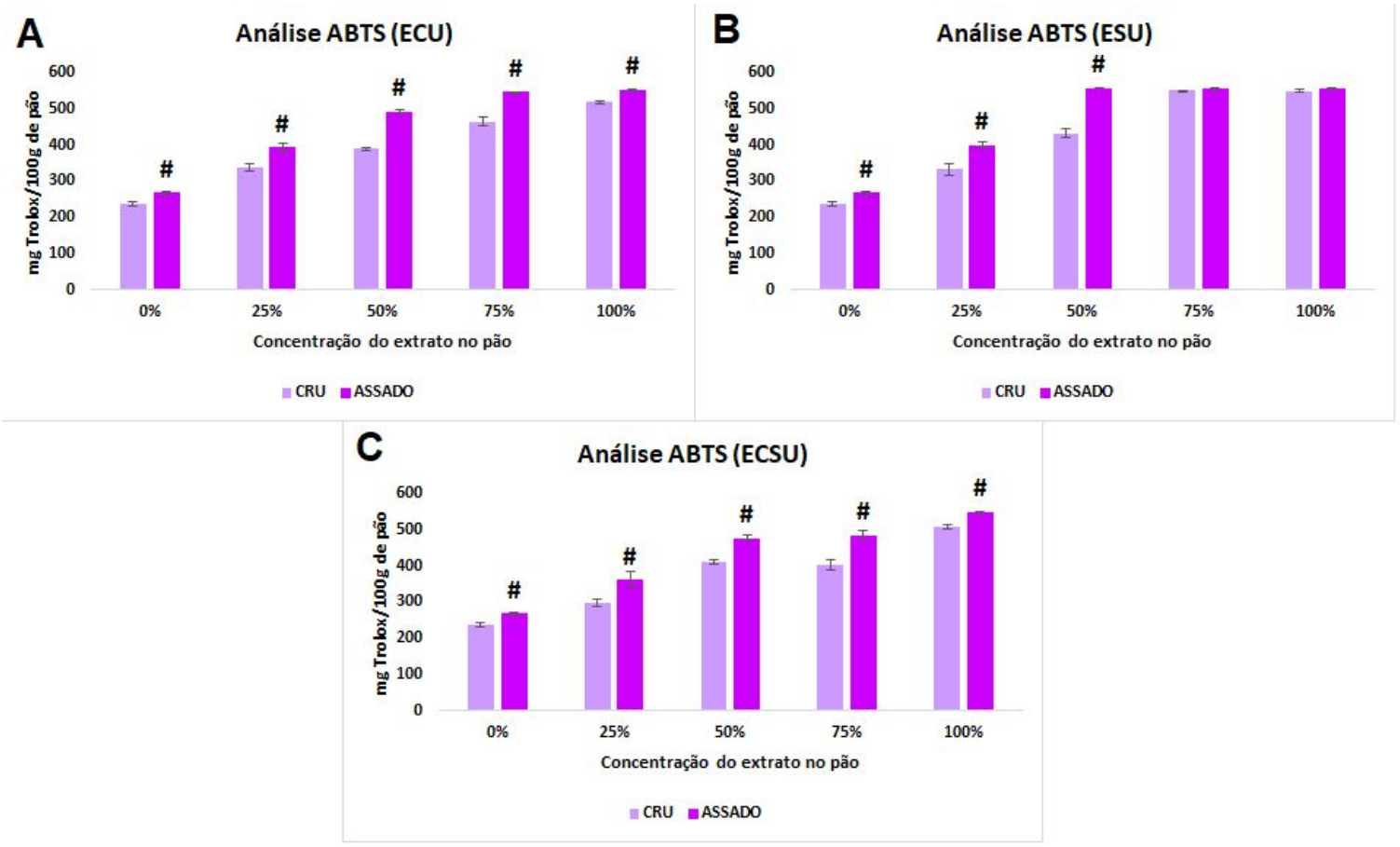
Figura 2. Comparação da concentração de compostos fenólicos totais presentes no pão cru e assado nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05.



Fonte: Autoras (2021)

A figura 3 faz a comparação do aumento da CA pelo método ABTS entre os pães crus e assados. Os gráficos ECU e ECSU (Figura 3A e 3C) demonstraram aumento significativo nos pães assados de todas as concentrações. E no gráfico ESU (Figura 3B) apenas as concentrações 75% e 100% não tiveram esse aumento significativo.

Figura 3. Comparação da capacidade antioxidante presentes no pão cru e assado pelo método ABTS nas diferentes concentrações do ECU, ESU, e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru para p<0,05.



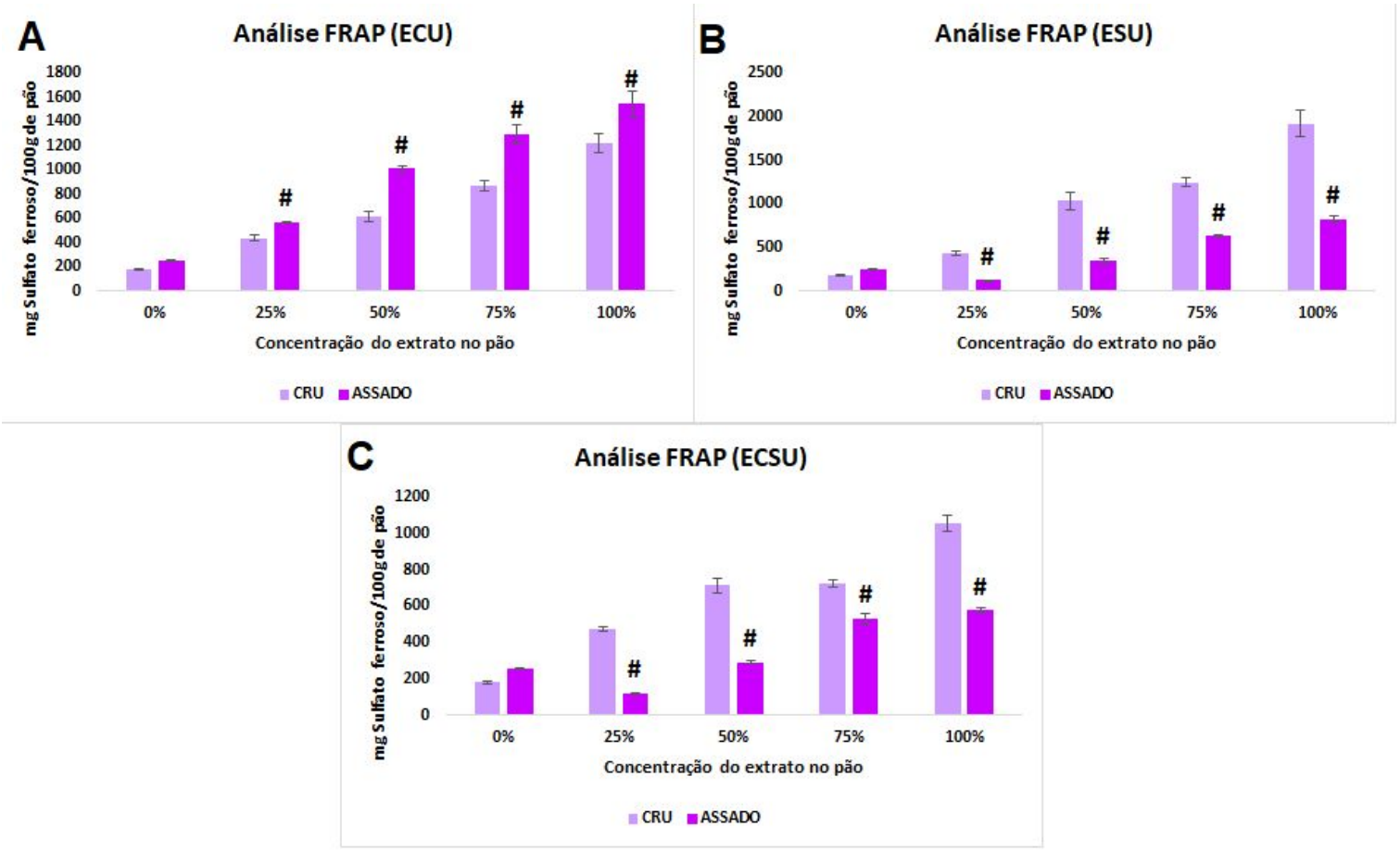
Fonte: Autoras (2021)

O aumento dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante nos pães assados pode estar relacionado com a perda de água durante o processo de cocção, concentrando esses compostos e pela desnaturação de proteínas, causada pelo calor, liberando pigmentos, taninos e substâncias fenólicas (ATANACKOVIĆ *et al.*, 2011). O crescimento da capacidade antioxidante dos pães assados também pode ser referente a alguns produtos gerados na reação de Maillard, como as melanoidinas, que possuem atividades antioxidantes (ŠPORIN *et al.*, 2017; MERAL & DOĞAN, 2013). Estudos descreveram que o produto final cozido pode ter a capacidade antioxidante provinda de compostos fenólicos naturais da farinha, dos fenólicos adicionados, dos outros ingredientes que contém fenólicos inerentes, de fenólicos intermediários que podem ser formados durante a cocção (pela reação de Maillard, por exemplo), de produtos degradativos provocados pela termicamente e

pelos polifenol-polissacarídeos complexos (ŠPORIN *et al.*, 2017). Além disso, podemos considerar os taninos como parte da explicação dos resultados, compreendendo que os taninos são compostos fenólicos possuindo a capacidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcalóides. São classificados em dois grupos: hidrolisáveis, que consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, e condensados (proantocianidinas), que são polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol (COUTO, SCÁRDUA, 2010; HUBER, 2012). Assim, a ligação entre taninos e proteínas possivelmente ocorre através de pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e determinados sítios das proteínas, assim gerando uma estabilidade a estas substâncias (MONTEIRO *et al.*, 2005).

A figura 4, mostra a comparação da CA pelo método FRAP entre os pães crus e assados. Os gráficos ESU e ECSU (Figura 4B e 4C) diferente dos gráficos anteriores demonstram uma diminuição significativa da CA dos pães assados em relação aos pães crus em todas as concentrações. O gráfico ECU (Figura 4A) já demonstra um comportamento igual aos dos outros gráficos, de crescimento significativo da CA dos pães assados em comparação aos pães crus nas diferentes concentrações.

Figura 4. Comparação da capacidade antioxidante do pão cru e assado pelo método FRAP nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (#) Diferença estatística em relação ao pão cru indicada por para p<0,05.



Fonte: Autoras (2021)

A redução da CA nos pães assados com semente, pode ser relativa à degradação de compostos fenólicos devido ao aumento da temperatura, uma vez que a composição dos compostos fenólicos na casca e semente é diferente, podendo ser os compostos da semente mais sensíveis à temperatura. Peng *et al.* (2010), avaliaram os efeitos da fortificação do extrato de semente de uva na atividade antioxidante e qualidade do pão, mostrando que houve uma redução na atividade antioxidante após o processo de cocção, atribuindo esse resultado à reações induzidas pelo calor entre as proantocianidinas da semente e componentes do pão, como proteínas ou amido, produzindo moléculas grandes que não foram extraídas pelos solventes utilizados no experimento e alternativamente à degradação das proantocianidinas pelo processo térmico, diminuindo a atividade antioxidante. As sementes das uvas possuem em sua composição 12 a 20% de

óleo, sendo fonte de ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoleico (ω-6). Os óleos presentes na semente são sensíveis podendo se oxidar ao serem expostos ao calor, perdendo suas propriedades (SILVA, 2019; SHINAGAWA, 2015). Desta maneira, a diminuição da capacidade antioxidante dos pães assados com o ESU também pode estar relacionada à oxidação lipídica que diminuiu a capacidade antioxidante dos compostos que têm afinidade pelo reagente sulfato ferroso.

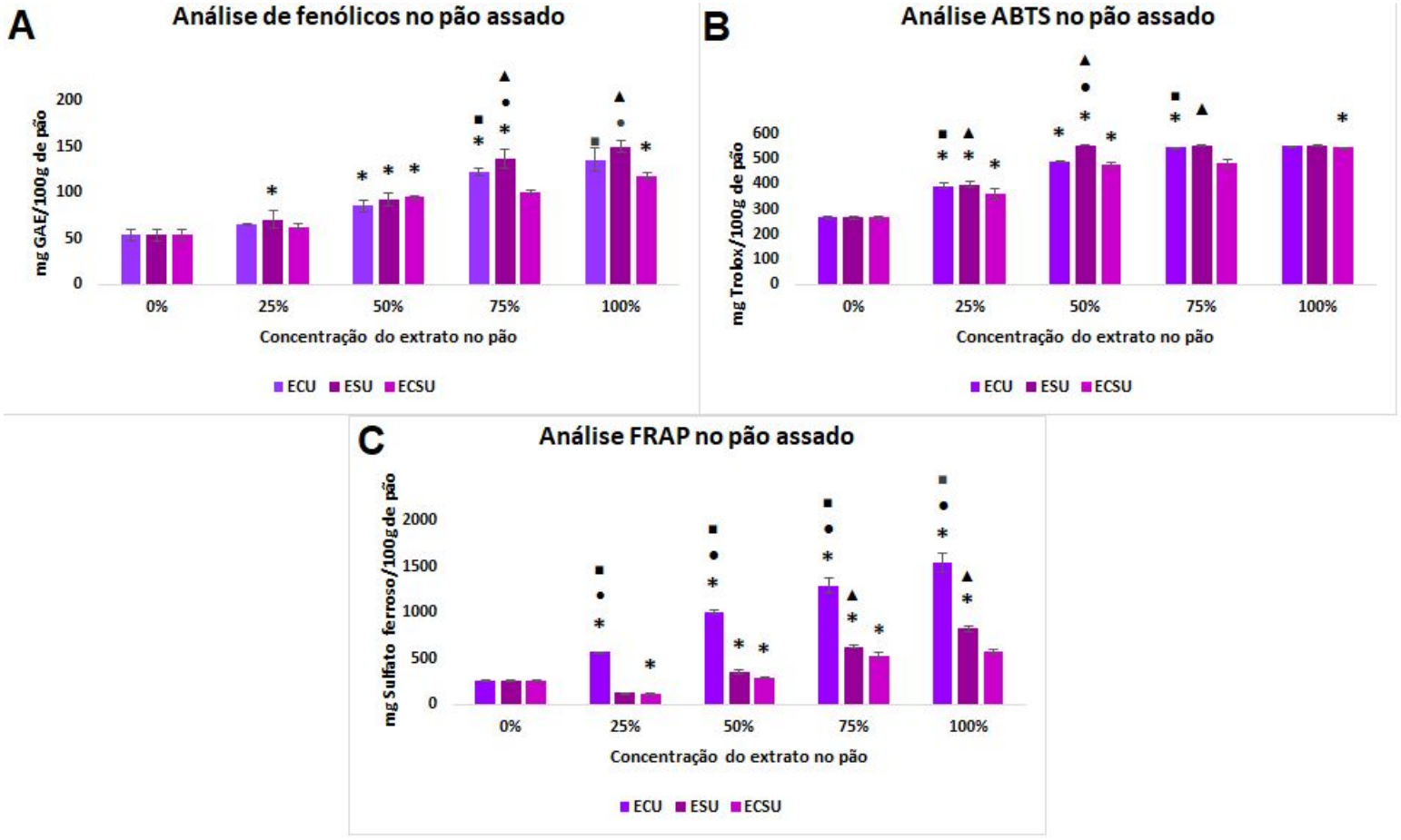
Outra explicação para a redução da CA pelo método FRAP pode ser porque os valores de FRAP, frequentemente, têm baixa correlação com outros métodos de medida da capacidade antioxidante, devido à capacidade de redução do ferro ter pouca associação com os processos de redução de radicais da maioria dos antioxidantes, sendo interessante combinar diferentes métodos de medição da capacidade antioxidante para diferenciar os mecanismos principais de diferentes antioxidantes (PRIOR, WU, SCHAICH, 2005).

Apesar da capacidade antioxidante ter diminuído nas formulações de pães assados enriquecidos com a semente e casca com semente, a capacidade antioxidante foi maior em relação ao pão controle, aumentando conforme a adição do extrato.

A figura 5 traz a comparação da concentração de compostos fenólicos e da CA presente nos pães assados. O gráfico da análise de fenólicos no pão assado (Figura 5A) mostra um aumento significativo de fenólicos em relação à concentração inferior, exceto nas formulações 25% ESU, 75% ECSU, 100% ECU e ESU. Ao analisar a diferença entre as formulações dos diferentes extratos, observa-se que as concentrações 75% e 100% do pão ESU tiveram maior presença de compostos fenólicos. O gráfico da análise ABTS no pão assado (Figura 5B) mostra o aumento do PA em relação a % inferior, com exceção das concentrações 75% ESU e ECSU, 100% ECU e ESU.

Ao comparar a diferença entre os pães com diferentes extratos o ECU e ESU demonstraram maior PA nas concentrações 25% e 75% em relação ao ECSU, porém o ESU na concentração 50% foi maior que as outras formulações. O gráfico da análise FRAP no pão assado (Figura 5C) indica o aumento significativo da CA em relação aos pães com concentração inferior do extrato, exceto nas concentrações 25% ESU e 100% ECSU. Ao conferir a diferença da CA entre os pães com diferentes extratos a formulação ECU demonstrou-se superior em todas as concentrações.

Figura 5. Comparação da concentração de compostos fenólicos e de antioxidantes presentes nos pães assados pelos métodos ABTS e FRAP nas diferentes concentrações do ECU, ESU e ECSU (0%, 25%, 75%, 100%). (*) Diferença estatística entre o pão com porcentagem inferior de substituição do extrato. (•) Diferença estatística entre ECU e ESU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, (■) diferença estatística entre ECU e ECSU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, (▲) diferença estatística entre ESU e ECSU no mesmo nível de concentração do extrato no pão, para p<0,05.



Fonte: Autoras (2021)

Conforme descrito anteriormente, a formação de complexos de proteína-fenólicos pode ter uma influência significativa na estrutura da proteína, solubilidade, estabilidade térmica e ponto isoelétrico. Além disso, segundo Sęczyk *et al.* (2019), as interações dos fenólicos com as proteínas dos alimentos parecem ser um fator importante que influencia a qualidade funcional dos fenólicos e dos alimentos ricos em proteínas, devendo ser levadas em consideração durante o desenvolvimento de produtos funcionais. No entanto, devido à complexidade estrutural das proteínas, à diversidade de compostos fenólicos na natureza, à

multiplicidade de fatores que afetam suas interações e às limitações dos métodos analíticos, esses estudos representam um grande desafio de longo prazo para o âmbito da tecnologia de ciência de alimentos.

Corroborando com os resultados dessa pesquisa, o estudo de Kim *et al.* (2005) analisou os efeitos do aquecimento na atividade antioxidante de extratos de semente de uva, apresentando que os compostos fenólicos e atividade antioxidante aumentaram com o tratamento térmico.

Do mesmo modo, o estudo de Peng *et al.* (2010), que analisou os efeitos da fortificação do extrato de semente de uva na atividade antioxidante e qualidade do pão, mostrou que a atividade antioxidante aumentou conforme o aumento do extrato. Meral e Dogan (2013) mostraram que o conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante, em pães fortificados com semente de uva, aumentaram proporcionalmente ao aumento do extrato. Hayata (2014) relatou um aumento nos compostos fenólicos e atividade antioxidante correspondentes ao aumento do extrato em pães enriquecidos com o bagaço de uva. O estudo de Lima (2015), também reforça esses resultados, uma vez que analisou biscoitos enriquecidos com farinha de semente de uva, relatando um aumento dos compostos fenólicos e atividade antioxidante nos biscoitos enriquecidos com farinha de semente de uva em comparação aos controles. Esses estudos fortalecem os resultados encontrados neste trabalho.

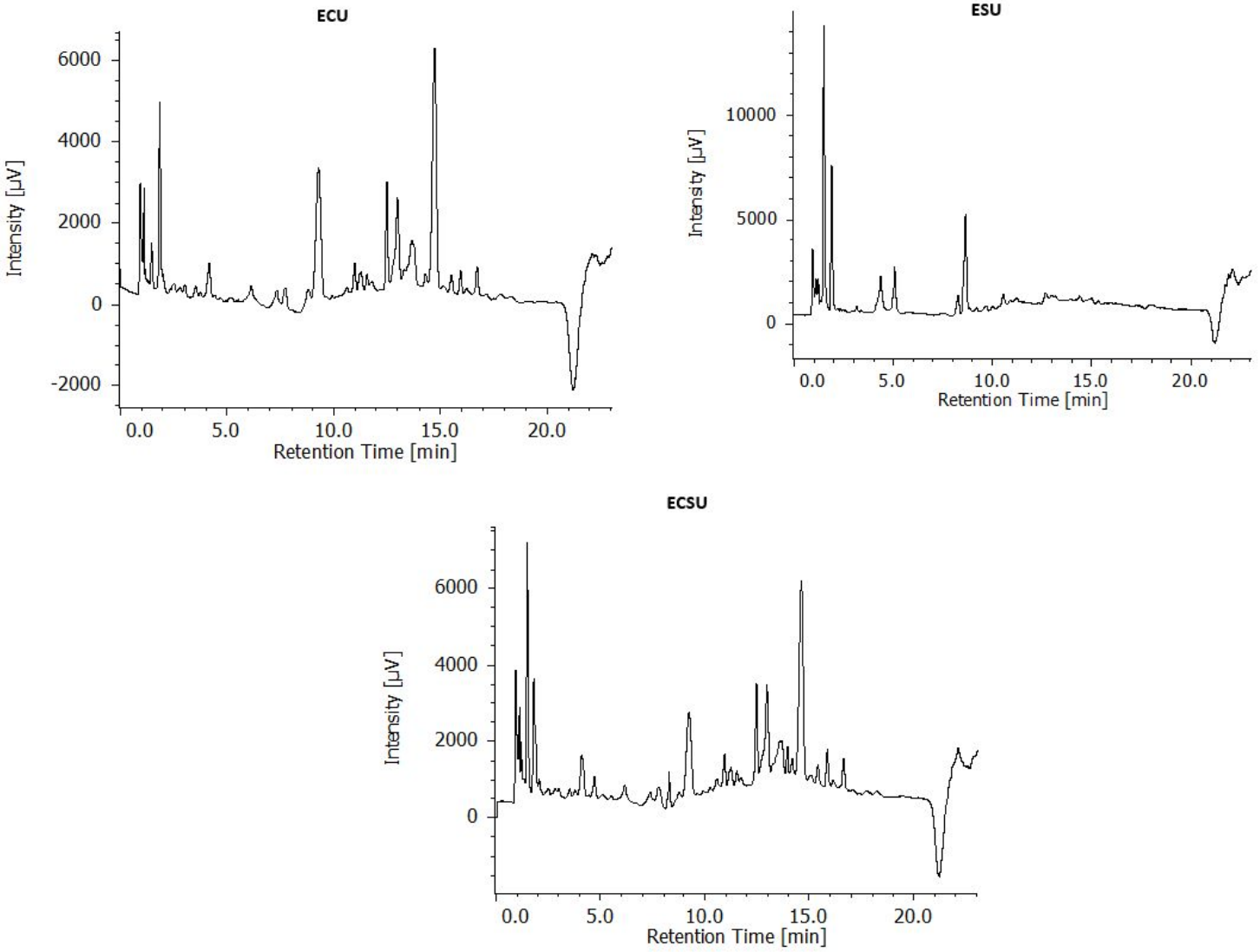
3.2. Cromatograma

Ao observar a figura 6 da cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos do resíduo da uva foi possível verificar picos de compostos. O resíduo da uva, possui em sua composição, principalmente, casca e sementes, que contém flavonóides como catequina, epicatequina, procianidinas e antocianinas, ácidos fenólicos e resveratrol (SOARES *et al*., 2008). Os principais compostos presentes na casca da uva são flavanois, ácidos fenólicos e flavonois como rutina, quercetina e antocianidinas. A semente possui como compostos principais ácido linoleico, proantocianidinas, catequinas, epicatequinas, ácido gálico e resveratrol (RIBEIRO, 2016).

Ao analisar a figura 7 e comparar a cromatografia líquida de alta eficiência dos pães cru e assado enriquecidos com a casca da uva, pode-se perceber que os picos dos compostos permanecem após a cocção do pão, mostrando que não

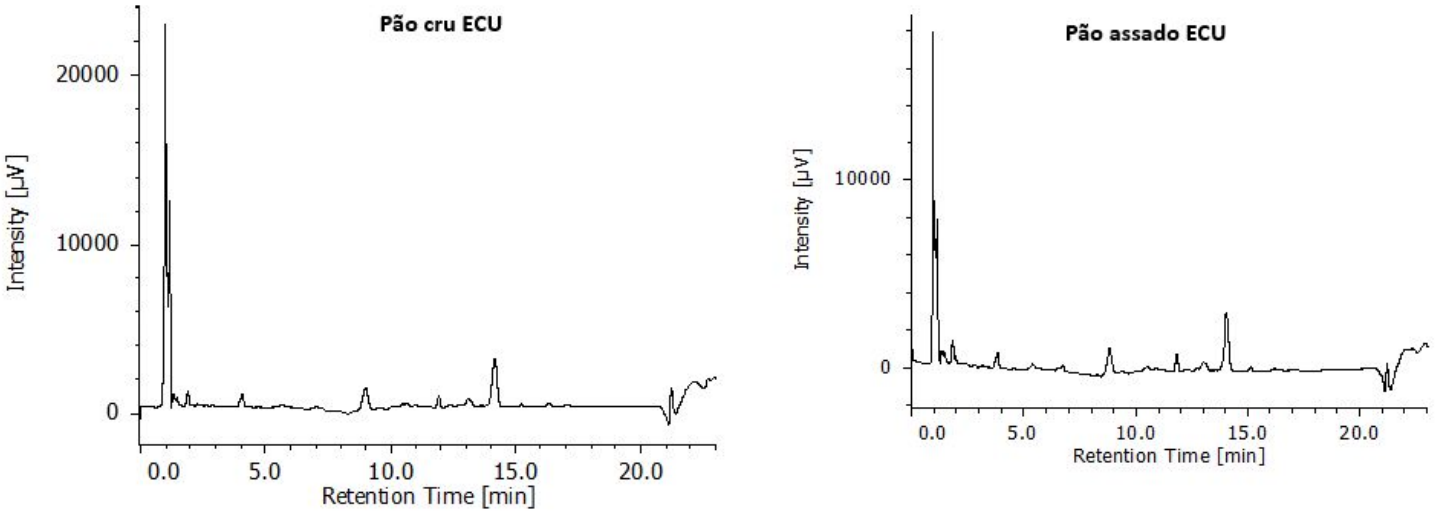
houve degradação dos mesmos. Faz-se necessária uma análise mais detalhada para a identificação desses compostos nos respectivos picos.

Figura 6. Cromatogramas representativos das amostras do ECU, ESU e ECSU.



Fonte: Autoras (2021)

Figura 7. Cromatogramas representativos das amostras de pão cru e assado enriquecidos com ECU.



Fonte: Autoras (2021)

3.3. Coloração dos pães

A cor dos pães elaborados foi influenciada pela adição dos extratos dos componentes do bagaço da uva, uma vez que o bagaço da uva possui compostos fenólicos como catequina e epicatequina (MERAL & DOĞAN, 2013). Segundo nossa percepção, confirma-se esse fato com os pães ECU, pois a intensidade da cor roxa aumenta conforme a adição da concentração do extrato.

A pigmentação roxa dos pães enriquecidos com a casca da uva deve-se às antocianinas, compostos fenólicos presentes em grande quantidade em uvas vermelhas (ŠPORIN *et al.*, 2017), mostrando que não foram degradadas após a cocção. Não se percebe a mesma cor e intensidade nos pães com o ESU, nota-se uma cor mais clara e amarronzada, pois a semente não contém antocianinas, que dá a característica da cor. A mudança e intensidade da cor dos pães preparados com o ESU podem estar relacionadas à oxidação de monofenóis a difenóis e à reações enzimáticas (ŠPORIN *et al.*, 2017; PEČIVOVÁ *et al*., 2014). Os pães ECSU são uma combinação das duas características, notando-se a mistura das duas cores.

O aumento da intensidade e da cor à medida do aumento da concentração do extrato pode estar relacionado à formação de açúcares redutores e a reação de Maillard (GÜL & ÖDEŞ, 2020). A coloração dos pães mostra que os polifenóis,

presentes no bagaço da uva, foram transferidos ao pão mesmo após a exposição à temperatura (SMITH & YU, 2015).

É necessário fazer futuras investigações físico-químicas dos pães para poder analisar de uma maneira eficiente estas mudanças, uma vez que podem ser exploradas para elaborar pães mais atrativos visualmente e também realizar a análise sensorial para avaliar a aceitabilidade dos consumidores com base em aparência, consistência, aroma e sabor.

Figura 8. Pães assados enriquecidos com ECU

Fonte: Autoras (2021)

Figura 9. Pães assados enriquecidos com ESU

Fonte: Autoras (2021)

Figura 10. Pães assados enriquecidos com ECSU

Fonte: Autoras (2021)

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados adquiridos neste estudo, conclui-se que os compostos fenólicos e capacidade antioxidante aumentam após o processamento térmico dos pães enriquecidos com o bagaço da uva, exceto os pães enriquecidos com ESU e ECSU analisados pelo método FRAP. Portanto, a adição do extrato do bagaço da uva agrega valor ao pão elaborado, produzindo um alimento funcional com grande potencial de fornecer benefícios à saúde e concomitantemente dá-se um destino ao resíduo produzido pelas vinícolas, auxiliando na redução do impacto ambiental.

É importante ressaltar que nem todos os dados obtidos tiveram uma diferença estatisticamente significativa, este fato podendo ser explicado por razão da não homogeneização correta da massa, a variação natural dos métodos de análise e da reatividade complexa dos compostos. Assim, em razão da atual pandemia, não foi possível realizar as análises novamente e alguns pães dos métodos do FRAP e ABTS ficaram fora da curva de calibração.

Pães fora da curva do método FRAP: ECU: 0% cru e 100% assado; ESU: 0% cru, 25% assado e 100% cru; ECSU: 0% cru e 25% assado. Pães fora da curva do método ABTS: ECU: 50% assado, 75% cru e assado, 100% cru e assado; ESU: 50% cru e assado, 75% cru e assado, 100% cru e assado; ECSU: 50% cru e assado, 75% cru e assado, 100% cru e assado.

É interessante aprofundar os estudos sobre esse tema, visto que os pães apresentam ser um alimento funcional com potencial para trazer benefícios à saúde, podendo serem feitas análise sensorial, análises físico-químicas, vida de prateleira dos pães e identificação dos compostos por cromatografia líquida de alta eficiência.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T. *et al.* Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinifera L. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394–400, 2007.

AL-DUAIS, M. *et al.* Antioxidant capacity and total phenolics of Cyphostemma digitatum before and after processing: Use of different assays. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 5, p. 813–821, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

ATANACKOVIĆ, M. *et al.* Influence of winemaking techniques on the resveratrol content, total phenolic content and antioxidant potential of red wines. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 513–518, 2012.

BENNEMANN, G. D. *et al.* Bioactive compounds and antiradical activity in grape pomace flours from different cultivars dehydrated in a freeze dryer and in an oven. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

BORGES, J. T. DA S. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 83–96, 2011.

CONTE, P. *et al.* Techno-functional and nutritional performance of commercial breads available in Europe. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 7, p. 621–633, 2016.

COSTA, F. S. Análise Mensal de Uva Industrial -Dezembro 2019- Janeiro 2020. **Conab**, v. im, n. gráfico 2, 2019.

COUTO, L.C; SCÁRDUA, F. P. Taninos vegetais ou polifenóis. 2010. Ministério da educação; Universidade Federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri; Departamento de engenharia florestal.

FREITAS, L. DOS S. Desenvolvimento De Procedimentos De Extração Do Óleo De Semente De Uva E Caracterização Química Dos Compostos Extraídos. **Unoesc & Ciência**, p. 205, 2007.

GÜL, H.; ÖDEŞ, N. The effects of grape seed flour and glucose oxidase supplementation on the some quality attributes of bread. **International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences**, v. 1, p. 14–20, 2020.

HASLER, C. M.; BROWN, A. C. Position of the American Dietetic Association: functional foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 109, n. 4, p. 735–746, 2009.

HUBER, K. Evidências da interação entre proteínas e taninos de feijão comum (Phaseolus vulgaris, L.) e seus efeitos na digestibilidade proteica. 107, 2012.

KIM, S. Y. *et al.* Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 472–479, 2006.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. DA. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659–664, 2005.

MARGRAF, T. Avaliação de diferentes métodos analíticos e efeitos da origem geográfica, varietal e cultivo agronômico na composição química e atividade antioxidante de sucos de uva. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

MERAL, R.; DOĞAN, I. S. Grape seed as a functional food ingredient in bread-making. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 372–379, 2013

MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892–896, 2005.

MÜLLER, L. *et al.* Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 992–999, 2010.

OZDAL, T.; CAPANOGLU, E.; ALTAY, F. A review on protein-phenolic interactions and associated changes. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 954–970, 2013.

PEČIVOVÁ, P. B. *et al.* Effect of addition of grape seed flour on chemical, textural and sensory properties of bread dough. **Mitteilungen Klosterneuburg**, v. 64, n. 3, p. 114–119, 2014.

PENG, X. *et al.* The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 49–53, 2010.

PEREIRA, G. *et al.* Novas cultivares brasileiras de uvas para elaboração de suco no Semiárido Brasileiro: desempenho agronômico e qualidade do suco. v. 2, 2013.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

RAHAIE, S. *et al.* Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 2896–2906, 2014.

RIBEIRO, L. F. Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante in vitro e in vivo em bagaços de uva (Vitis vinífera e Vitis labrusca). Curitiba, 2016.

ROCHA, A.M *et al.* Uvas : Formas De Uso , Consumo E Atividades Biológicas - Uma Revisão. **Acta Elit Salutis- AES**, v. 1, 2019.

ROCKENBACH, I. I. *et al.* 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). **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158–163, 2007.

SECZYK, L. *et al.* Protein–phenolic interactions as a factor affecting the physicochemical properties of white bean proteins. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 1–24, 2019.

SHINAGAWA, F. B. Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (Vitis vinifera L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos, Tese de Doutorado. p. 165, 2015.

SILVA, J. B. M. D. Extração do óleo de semente de uva por diferentes métodos e sua alteração durante o armazenamento. 2019.

SILVA, M. L. C. *et al.* Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SINGLETON, V.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. Analysis of Total Phenols and others Oxidantion Substrates and Oxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology** 299, 152, 1999.

SMITH, I. N.; YU, J. Nutritional and Sensory Quality of Bread Containing Different Quantities of Grape Pomace from Different Grape Cultivars. **EC Nutrition**, v. 2, n. August, p. 291–301, 2015.

SOARES, M. *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59–64, 2008.

ŠPORIN, M. *et al.* Quality characteristics of wheat flour dough and bread containing grape pomace flour. **Food Science and Technology International**, v. 24, n. 3, p. 251–263, 2018.

ZOPELLARO, S. R.; DA SILVA, S. Z.; LOVATO, F. R. Compostos Fenólicos Totais E Atividade Antioxidante Da Farinha Do Resíduo Da Uva. **Fag Journal of Health (Fjh)**, v. 1, n. 2, p. 154–163, 2019.