

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS  
ALIMENTOS

Karine Inês Bolson Moro

**REAPROVEITAMENTO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UVA  
ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO POR MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO  
E GRAVIDADE SEGUIDA DE MICROENCAPSULAÇÃO**

Santa Maria, RS  
2021



**Karine Inês Bolson Moro**

**REAPROVEITAMENTO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UVA ATRAVÉS DA  
EXTRAÇÃO POR MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE SEGUIDA  
DE MICROENCAPSULAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Neidi Garcia Penna

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Leila Picolli da Silva

Santa Maria, RS  
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Moro, Karine Inês Bolson

Reaproveitamento de polifenóis do bagaço de uva através da extração por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade seguida de microencapsulação / Karine Inês Bolson Moro.- 2021.

187 p.; 30 cm

Orientadora: Neidi Garcia Penna

Coorientadora: Leila Picolli da Silva

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2021

1. Resíduo agroindustrial. 2. Subproduto da vinificação. 3. Bagaço de uva. 4. Micro-ondas de Hidrodifusão e Gravidade. 5. Secagem por Pulverização I. Penna, Neidi Garcia II. da Silva, Leila Picolli III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, KARINE INÊS BOLSON MORO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Karine Inês Bolson Moro**

**REAPROVEITAMENTO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UVA ATRAVÉS DA  
EXTRAÇÃO POR MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE SEGUIDA  
DE MICROENCAPSULAÇÃO**

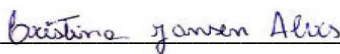
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Aprovada em 30 de setembro de 2021:



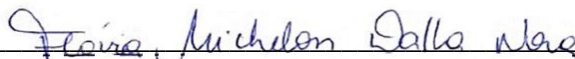
---

**Neidi Garcia Penna, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**  
(Presidente/ Orientadora)



---

**Cristina Jansen Alves, Dr<sup>a</sup> (IFSUL-CaVG)**



---

**Flávia Michelin Dalla Nora, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**



---

**Mariana de Araújo Etchepare, Dr<sup>a</sup> (Universidade Positivo)**



---

**Tatiana Emanuelli, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2021



## DEDICATÓRIA

*Dedico aos meus pais, Admir e Mareli e as minhas irmãs,  
Queli e Mariane, por serem minha base.*





## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria – UFSM e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos - PPGCTA, pela contribuição em minha formação profissional. Agradeço aos professores e servidores vinculados ao Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – DTCA que participaram direta ou indiretamente da minha vida acadêmica. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudos concedida.

À Prof. Dra. Neidi Garcia Penna, pela orientação, auxílio, amizade e incentivo ao meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço e levo comigo sua amizade, confiança e incentivo. À Prof. Dra. Leila Picolli da Silva pela coorientação e suporte científico, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional. Agradeço por sua confiança e incentivo junto ao Setor de Piscicultura. Ao Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin, pelo auxílio e suporte científico. À banca avaliadora, pelas valiosas contribuições.

Aos amigos do Setor de Piscicultura, estagiários, professores, colegas de Pós-Graduação da Zootecnia e Ciência e Tecnologia dos Alimentos, pelos momentos de aprendizado e descontração compartilhados. Em especial, gostaria de agradecer à Ana Betine Bender pela amizade, companheirismo, auxílio e incentivo para todos os momentos, à Jessica Righi pela amizade construída, pelo companheirismo, auxílio e incentivo e à Caroline Speroni, por incentivar este projeto, pela amizade e auxílio.

À Vinícola Velho Amâncio e a Vinícola Guatambu Estância do Vinho pela doação do bagaço de uva para a execução deste trabalho.

Ao Laboratório 109 do Núcleo de Tecnologia de Alimentos - NTA, pela disponibilidade de equipamentos. Muito obrigada Prof. Dr. Juliano e Daniele Ferreira pelo suporte científico. À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP pela realização das análises de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e minerais. Em especial ao Prof. Dr. Severino M. de Alencar pelo suporte científico e à Priscilla Melo pela amizade, apoio e conhecimento compartilhado.

Agradeço aos meus pais, Admir Luiz Moro e Mareli Bolson Moro, pelo amor, incentivo e apoio nas minhas decisões e pela compreensão nos momentos de ausência. Vocês são os alicerces da minha formação. Às minhas irmãs Queli e Mariane, pelo amor, companheirismo, incentivo e apoio em todos os momentos. À minha família, meu eterno agradecimento.

Ao meu noivo Frederico Hickmann pelo amor, companheirismo, incentivo, compreensão, paciência e ajuda. Obrigada por ser minha base nos momentos difíceis e por dar brilho aos meus dias cinzas. A você todo o meu amor.

Ao meu primo, amigo e irmão Anderson Moro, por ser inspiração durante minha formação acadêmica. A você minha gratidão e admiração.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu carinho e sincero agradecimento.

E à Deus, pelo dom da vida e por colocar pessoas tão especiais em meu caminho.

*“ Aprender é a única coisa que a mente nunca  
se cansa, nunca tem medo e nunca se  
arrepende. ”*

*Leonardo da Vinci*



## RESUMO

### REAPROVEITAMENTO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UVA ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO POR MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE SEGUIDA DE MICROENCAPSULAÇÃO

AUTORA: KARINE INÊS BOLSON MORO  
ORIENTADORA: NEIDI GARCIA PENNA

O bagaço de uva, corresponde ao principal subproduto gerado na cadeia vitivinícola, obtido após a prensagem das uvas na produção de vinho branco e/ou após a etapa de fermentação na vinificação em tinto. Representa uma fonte rica em polifenóis, com efeitos fisiológicos, diretamente ligados às suas propriedades tecnológicas, antioxidantes e antimicrobianas. Tecnologias extrativas que atendam aos princípios da “química verde”, vêm sendo empregadas para extrair os polifenóis de resíduos agroindustriais de forma inovadora, eficiente, econômica e ambientalmente menos agressiva. Essas técnicas apresentam benefícios como redução no tempo de extração, número de operações unitárias, consumo de energia, impactos ambientais, custos econômicos, quantidade de solventes e geração de resíduos. Somado aos métodos de extração verde, as tecnologias de microencapsulação tornam-se necessárias para preservar, disponibilizar e garantir a integridade dos extratos. Diante disto, os objetivos do presente estudo foram determinar a melhor condição de extração para o bagaço de uva, frente a tecnologia extrativa por Micro-ondas de Hidrodifusão e Gravidade (MHG), visando melhor rendimento, conteúdo fenólico e atividade antioxidante, e, estabelecer condições de armazenamento, funcionalidade e bioatividade para o extrato através de seu aprisionamento em secagem por pulverização. Foram avaliados os efeitos de diferentes condições extrativas do bagaço de uva, propriedades físico-químicas, conteúdo fenólico e atividade antioxidante. Uma potência de  $2 \text{ W g}^{-1}$  no aparelho MHG foi definida como ideal para o bagaço de uva, possibilitando uma extração eficiente e robusta devido aos elevados índices de conteúdo fenólico e atividade antioxidante encontrados nos extratos. Além disso, propriedades físico-químicas, tecnológicas e antioxidantes significativas foram encontradas no resíduo remanescente da extração, o coproduto. Desta forma, o extrato com os melhores índices fenólicos e antioxidantes foi microencapsulado. Características físico-químicas, estruturais, tecnológicas e antioxidantes, incluindo estabilidade de compostos antociânicos e condições gastrointestinal simuladas *in vitro* foram avaliadas. As microcápsulas produzidas apresentaram excelente retenção dos compostos devido à alta eficiência de encapsulação obtida e ainda, rendimento de processo considerável. Estruturalmente as microcápsulas apresentaram formas lisas, esféricas e ausência de trincas ou fissuras. Além do mais, as microcápsulas apresentaram tamanho de partícula imperceptível sensorialmente, além de degradação térmica lenta, contribuindo para a eficiência do processo. A análise das microcápsulas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier revelaram alterações nas bandas de absorção típicas de polifenóis. O estudo de estabilidade durante o armazenamento demonstrou que as combinações de agentes carreadores apresentaram estabilidade de compostos antociânicos frente ao armazenamento e proteção dos compostos antociânicos no sistema gastrointestinal simulado. Portanto, os resultados encontrados sugerem que a associação de tecnologia extrativa verde a técnica de microencapsulação possibilita a obtenção de produtos de qualidade, com características tecnológicas e funcionais interessantes, além de garantir sustentabilidade da cadeia vinícola. Deste modo, alinhada com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, os ODS, da Agenda 2030 da ONU (Organização das Nações Unidas).

**Palavras-chave:** Resíduo agroindustrial. Bagaço de uva. MHG. Secagem por pulverização. Sustentabilidade.



## ABSTRACT

### RECOVER OF POLYPHENOLS FROM GRAPE POMACE THROUGH THE MICROWAVE HYDRODIFFUSION AND GRAVITY EXTRACTION METHOD FOLLOWED BY MICROENCAPSULATION

AUTHOR: KARINE INÊS BOLSON MORO

ADVISOR: NEIDI GARCIA PENNA

Grape pomace corresponds to the main by-product generated in the wine chain, obtained after the pressing of the grapes in the production of white wine and/or after the fermentation step in the red winemaking. It represents a rich source of polyphenols, with physiological effects, directly linked to its technological, antioxidant and antimicrobial properties. Extractive technologies that meet the principles of “green chemistry” have been used to extract polyphenols from agro-industrial residues in an innovative, efficient, economical and environmentally less aggressive way. These techniques have benefits such as reduced extraction time, number of unit operations, energy consumption, environmental impacts, economic costs, quantity of solvents and waste generation. In addition to green extraction methods, microencapsulation technologies are necessary to preserve, make available and ensure the integrity of extracts. Therefore, the objectives of this study were to determine the best extraction condition for grape pomace, using the extractive technology Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG), aiming yield, phenolic content and antioxidant activity, and to establish storage conditions, functionality and bioactivity for the extract through its entrapment in spray drying. The power of 2 W g<sup>-1</sup> in the MHG device was defined as ideal for grape pomace, enabling an efficient extraction due to the high levels of phenolic content and antioxidant activity found in the extracts. Furthermore, significant physicochemical, technological and antioxidant properties were established in the remaining extraction residue, the co-product. Thus, the extract with the best phenolic and antioxidant was microencapsulated. Physicochemical, structural, technological and antioxidant characteristics, including stability of anthocyanin compounds and simulated *in vitro* gastrointestinal conditions were evaluated. The microcapsules produced showed excellent retention of compounds due to the high encapsulation efficiency obtained and considerable process yield. Structurally, the microcapsules had smooth spherical shapes and no cracks or fissures. Furthermore, the microcapsules showed sensory imperceptible particle size, in addition to slow thermal degradation, contributing to the efficiency of the process. Analysis of the microcapsules by Fourier transform infrared spectroscopy revealed changes in the absorption bands typical of polyphenols. The storage stability study demonstrated that the combinations of carrier agents showed stability of anthocyanic compounds against the storage and protection of anthocyanic compounds in the simulated gastrointestinal system. Therefore, the results found suggest that the association of green extractive technology with the microencapsulation technique enables the obtaining of quality products, with interesting technological and functional characteristics ensuring the sustainability of the wine chain. Thus, being in line with the Objectives of Sustainable Development, the SDGs, of the 2030 Agenda of the UN (United Nations).

**Keywords:** Agro-industrial waste. Grape pomace. MHG. Spray drying. Sustainability.





## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Regiões vitivinícolas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. ....	26
Figura 2 - Uvas <i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet Sauvignon e cv. Merlot.....	27
Figura 3 - Bagaço de uva obtido após o processo de fermentação e prensagem na vinificação em tinto. ....	29
Figura 4 – Micro-ondas de hidrodifusão e gravidade e suas aplicações em diferentes matrizes vegetais nos últimos anos (2008 a 2021).....	35
Figura 5 - Diagrama esquemático do aparelho MHG.....	37
Figura 6 - Representação esquemática do processo de secagem por pulverização. ....	43
Figura 7 - Amostras do bagaço de uva das duas regiões vitivinícola do estudo. ....	49

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição do tratamento padrão (S) e dos tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> aplicados ao extrato do bagaço de uva obtido por Micro-ondas de Hidrodifusão e Gravidade. .... 57

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	23
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	25
2.1. VITIVINICULTURA.....	25
2.2. BAGAÇO DE UVA .....	28
2.3. POLIFENÓIS .....	30
2.4. EXTRAÇÃO VERDE DE PRODUTOS NATURAIS .....	32
2.5. MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE .....	36
2.6. MICROENCAPSULAÇÃO .....	40
2.7. SECAGEM POR PULVERIZAÇÃO .....	42
2.8. AGENTES ENCAPSULANTES .....	43
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	47
3.1. OBJETIVO GERAL.....	47
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	47
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	49
4.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	49
<b>4.1.1. Obtenção do bagaço de uva</b> .....	49
4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	49
<b>4.2.1. Composição centesimal e conteúdo de minerais</b> .....	50
<b>4.2.2. Composição físico-química</b> .....	50
<b>4.2.3. Compostos fenólicos e atividade antioxidante</b> .....	50
4.2.3.1. <i>Obtenção do extrato</i> .....	50
4.2.3.2. <i>Determinação do conteúdo de fenólicos totais</i> .....	51
4.2.3.3. <i>Determinação das antocianinas monoméricas totais</i> .....	51
4.2.3.4. <i>Determinação da atividade antioxidante</i> .....	51
4.3. MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE .....	52
<b>4.3.1. Testes Preliminares</b> .....	52
<b>4.3.2. Obtenção do extrato</b> .....	52
<b>4.3.3. Caracterização do extrato</b> .....	53
4.3.3.1. <i>Determinação do conteúdo de fenólicos totais</i> .....	53
4.3.3.2. <i>Identificação e quantificação dos polifenóis por cromatografia líquida de alta eficiência</i> .....	54
4.3.3.3. <i>Antocianinas monoméricas totais</i> .....	54
4.3.3.4. <i>Atividade antioxidante</i> .....	55
<b>4.3.4. Caracterização do coproduto</b> .....	55
4.3.4.1. <i>Composição centesimal e conteúdo de minerais</i> .....	55

4.3.4.2. Cor .....	55
4.3.4.3. Composição físico-química.....	56
4.3.4.4. Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante.....	56
4.3.4.5. Atividade de água.....	56
4.4. MICROENCAPSULAÇÃO .....	56
<b>4.4.1. Produção das microcápsulas em secagem por pulverização .....</b>	<b>56</b>
<b>4.4.2. Caracterização das microcápsulas .....</b>	<b>57</b>
4.4.2.1. Determinação do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante.....	57
4.4.2.2. Tamanho médio das microcápsulas .....	58
4.4.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEVs).....	58
4.4.2.4. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) .....	58
4.4.2.5. Eficiência e rendimento de encapsulação.....	59
4.4.2.6. Teor de umidade e atividade de água .....	59
4.4.2.7. Tempo de dissolução.....	60
4.4.2.8. Solubilidade .....	60
4.4.2.9. Higroscopicidade .....	60
4.4.2.10. Cor .....	61
4.4.2.11. Análise termogravimétrica (TGA) .....	61
4.4.2.12. Teste de estabilidade frente ao armazenamento .....	61
4.4.2.12.1. Estabilidade de compostos antociânicos .....	61
4.4.2.13. Avaliação em condições gastrointestinais simuladas .....	62
<b>5 DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>65</b>
5.1. ARTIGO 1 – Green extraction methods and microencapsulation technologies of phenolic compounds from grape pomace: A review .....	65
5.2. ARTIGO 2 - Recovery of phenolic compounds from grape pomace ( <i>Vitis vinifera</i> L.) by microwave hydrodiffusion and gravity .....	93
5.3. MANUSCRITO 1 - Efeito da combinação de diferentes agentes carreadores na microencapsulação de polifenóis do bagaço de uva ( <i>Vitis vinifera</i> L. ‘Merlot’) usando o método de secagem por pulverização .....	111
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>167</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>173</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>175</b>

## APRESENTAÇÃO

Essa tese segue as normas estabelecidas na Estrutura e Apresentação de Monografias, Dissertações e Teses – MDT da UFSM (UFSM, 2015). Os resultados estão apresentados na forma de dois artigos científicos e um manuscrito. Um dos artigos é uma revisão bibliográfica e está publicado no periódico Food and Bioprocess Technology. O outro artigo, com resultados da pesquisa, está publicado no periódico LWT - Food Science and Technology. O manuscrito, também com resultados da pesquisa, está em fase de preparação e encontra-se configurado de acordo com as normas exigidas pelo periódico Food Hydrocolloids. Os artigos bem como o manuscrito se encontram no item **DESENVOLVIMENTO**. Ao final dessa tese, encontram-se os itens **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÃO**, apresentando compilações de interpretações e comentários a respeito dos resultados apresentados nos artigos científicos. As **REFERÊNCIAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO**, **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, **MATERIAIS E MÉTODOS** e **DISCUSSÃO** dessa tese.



## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a comunidade acadêmica buscou difundir a importância do reaproveitamento de resíduos agroindustriais da cadeia vitivinícola, criando bioprodutos, biocombustíveis ou ingredientes alimentares com alto valor agregado (BENDER et al., 2020; MÄKELÄ et al., 2017; MUHLACK; POTUMARTHI; JEFFERY, 2018; PEDRAS et al., 2017; PEIXOTO et al., 2018; SILVA et al., 2018). Além disso, vem aliando processos de valorização destes resíduos à técnicas sustentáveis, aplicando os princípios da “química verde” (AL BITTAR et al., 2013; CALDAS et al., 2018; CASAZZA et al., 2010; GOULA; THYMIATIS; KADERIDES, 2016; MORO et al., 2021b). O aproveitamento de resíduos da indústria de alimentos, através da implantação de novos processos integrados, permite aliar a produtividade com a eficiência ambiental (GRUZ et al., 2013; MORO et al., 2021a). Além do mais, nas últimas décadas, os consumidores vêm buscando cada vez mais por alimentos que sejam seguros, nutritivos e que possuam propriedades naturais (CHEMAT et al., 2019).

A uva (*Vitis* sp.) é uma das frutas mais cultivadas no mundo, com uma produção superior a 75 milhões de toneladas por ano (OIV, 2020). Representa um produto rico em carboidratos, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e polifenóis (BENDER et al., 2020; PINTAC' et al., 2018). Aproximadamente 80% da produção mundial de uva destina-se à fabricação de vinhos e derivados e, conseqüentemente, grandes volumes de bagaço de uva são gerados (BERES et al., 2017; GRUZ et al., 2013). Os subprodutos gerados pela indústria vitivinícola são boas fontes de compostos bioativos e sua relação positiva com a saúde humana vem sendo estabelecida pela comunidade científica (YAMASHITA et al., 2017). Os principais resíduos gerados no setor de vitivinicultura, são separados durante as etapas de esmagamento e prensagem das uvas (MELO et al., 2015), sendo o bagaço o principal subproduto da vinificação, representando aproximadamente 30% da quantidade total de uvas vinificadas (BENDER et al., 2016; MORO et al., 2021a).

O bagaço de uva é constituído majoritariamente de cascas, sementes e resíduos de polpa (BENDER et al., 2020; BRENES et al., 2016; SILVA et al., 2018). A reutilização deste subproduto tem grande impacto na redução de resíduos (BERES et al., 2017; MELO et al., 2011). Devido ser rico em fibras e possuir altos níveis de polifenóis (antocianinas, flavonóis, flavanóis, resveratrol e ácidos fenólicos), oriundos de metabólitos secundários da planta, (MELO et al., 2015) possuem propriedades antioxidantes e de eliminação de radicais, com potenciais benefícios à saúde (CALDAS et al., 2018; GARRIDO et al., 2019), comprovando que a reutilização do bagaço de uva permite aliar ganhos ambientais, econômicos e sociais.

Na busca pela elaboração de produtos com caráter natural, esforços vêm sendo feitos para dimensionar, estruturar e difundir soluções tecnológicas, para substituir ou reduzir o uso excessivos de solventes orgânicos, energia e tempo (MORO et al., 2021a; ZILL-E-HUMA et al., 2011a). Neste sentido, métodos mais rápidos e automatizados têm sido utilizados. O processo Micro-ondas de Hidrodifusão e Gravidade (MHG) é uma tecnologia que combina micro-ondas e gravidade e, desta maneira, apresenta enorme potencial para diversas aplicações extrativas. O MHG representa uma tecnologia eficiente, econômica e limpa, pois requer menos energia e não demanda de solventes (MORO et al., 2021a). Estes novos métodos trazem vantagens em comparação com os métodos convencionais pois, requerem períodos de extração mais curtos e consomem menos solventes, por trabalharem em temperaturas elevadas e/ou pressões em atmosferas inertes (SØLTOFT et al., 2009; ZILL-E-HUMA et al., 2011a).

Apesar dos efeitos benéficos de extrações que seguem os princípios da “química verde”, os polifenóis são facilmente oxidados e sensíveis ao calor e à luz, o que limita sua aplicação na indústria de alimentos (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; OZKAN et al., 2019). Neste contexto, a microencapsulação é uma técnica confiável que pode superar esses desafios, pois é capaz de melhorar o tempo de retenção do nutriente no alimento, permitir a liberação controlada e direcionada, preservar a estabilidade dos polifenóis durante o processamento e armazenamento, prevenir interações indesejáveis com a matriz alimentar, retardar os processos de degradação, aumentar a biodisponibilidade e manter a funcionalidade do componente bioativo (AGUIAR et al., 2017; BALLESTEROS et al., 2017; MORO et al., 2021a). Portanto, o tratamento e destino do bagaço de uva representa um desafio econômico e ambiental para a indústria vinícola, porém, pode se tornar fonte nutricional e econômica.



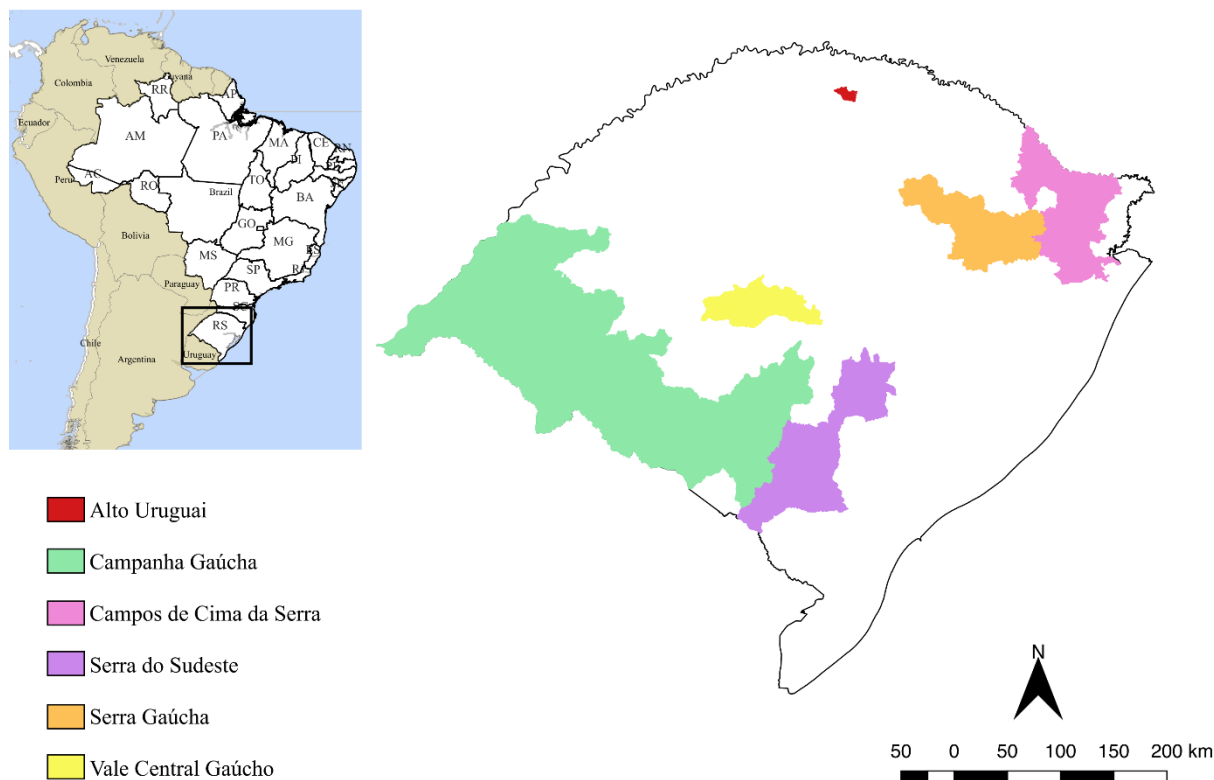
## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. VITIVINICULTURA

A uva (*Vitis vinifera* L.) é uma das culturas frutíferas mais cultivada no mundo, com grande representatividade na Europa, Ásia e América (PEDRAS et al., 2017; SILVA et al., 2018). No Brasil, a primeira videira de *Vitis vinifera* L. foi introduzida pelos portugueses, em 1532 na região Sudeste do país. No Rio Grande do Sul, as primeiras videiras foram introduzidas em 1626 pelos padres jesuítas e posteriormente cultivares de *Vitis vinifera* L. foram trazidas por imigrantes alemães. No entanto, a vitivinicultura gaúcha se consolidou a partir de 1875 com a chegada dos imigrantes italianos à região da Serra Gaúcha e com o cultivo de uvas americanas (LEÃO, 2010). Atualmente, a área de produção vitivinícola no Brasil soma 82 mil hectares e o país destaca-se como o quinto maior produtor de vinhos no Hemisfério Sul (IBRAVIN, 2020). A produção está dividida entre seis regiões, sendo que o Rio Grande do Sul concentra 64,3% desta área (MELLO, 2017).

A vitivinicultura, no estado do Rio Grande do Sul, está subdividida em 27 microrregiões, sendo que a principal região produtora de uvas é a microrregião de Caxias do Sul, na Serra Gaúcha, responsável por 80% de toda a área ocupada com videiras no estado (MELLO et al., 2017a). A necessidade de expansão na produção de vinhos no estado levou o deslocamento da produção para a Campanha Gaúcha, Serra do Sudeste e Campos de Cima da Serra, expandindo-se gradativamente para outras microrregiões como o Vale Central Gaúcho, e a região do Alto Uruguai (Figura 1) (MANFIO, 2019). Em relação à produção de uvas do estado, em 2020, 502 mil toneladas foram processadas e, principalmente, utilizadas para a elaboração de vinhos, sucos e derivados (ABE, 2021).

Figura 1 - Regiões vitivinícolas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.



Fonte: Autoria pessoal.

Dentre as cultivares *Vitis vinifera* L. cultivadas no estado para a elaboração de vinhos finos e espumantes, destacam-se as uvas tintas. Cabernet Sauvignon, Merlot e Pinot Noir são as três principais cultivares tintas produzidas no Rio Grande do Sul (MELLO et al., 2017b).

Liderando a área cultivada no estado, a cultivar Cabernet Sauvignon destaca-se pela fácil adaptação a distintos *terroirs* e também pela qualidade dos vinhos originados a partir dela (Figura 2). Um dos maiores diferenciais desta cultivar, em relação as outras uvas viníferas, está em sua casca particularmente mais espessa, característica responsável por proteger a uva de variações climáticas. Além disso, a casca é rica em taninos, que pode acometer perdas sensoriais e de qualidade aos vinhos. Entretanto, a colheita tardia pode amenizar o caráter tânico nos vinhos atribuído a casca. Desta forma, os taninos, embora ainda presentes, estão suavizados e podem ser facilmente equilibrados ao longo do processo de vinificação. Assim, pode-se obter um bom vinho, com complexidade e bem balanceado, demonstrando todo o potencial do *terroir* (SIMÕES, 2018a). A cultivar Merlot, marcou o início da produção de vinhos tintos finos varietais brasileiros (Figura 2). Atualmente, ocupa o segundo lugar em volume de produção entre as cultivares *Vitis vinifera* L. tintas. Com coloração roxo-escura, apresenta aromas

delicados e frutados, evidenciando frutas frescas e mais ácidas, como morango ou framboesas, os vinhos possuem taninos firmes e uma acidez marcante, porém não agressiva. Os vinhos varietais, isto é, feitos exclusivamente com Merlot, geralmente são macios e fáceis de beber. Algumas vinícolas nacionais também utilizam a uva para a elaboração de espumantes, geralmente combinados com outras castas, como Pinot Noir e Chardonnay (SIMÕES, 2018b).

Figura 2 - Uvas *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon e cv. Merlot.



Fonte: Vinícola Velho Amâncio.

Diante da produção crescente de vinhos, há um aumento na geração de resíduos oriundos do beneficiamento, com destaque para o bagaço de uva. O bagaço de uva é o principal resíduo orgânico sólido da cadeia vitivinícola, e representa de 20% a 30% do volume total das uvas vinificadas, constituído majoritariamente de cascas, sementes e resíduos de polpa (BENDER et al., 2020; BRENES et al., 2016; SILVA et al., 2018). O tratamento e a disposição deste subproduto da cadeia vitivinícola, representa um desafio econômico e ambiental (MÄKELÄ et al., 2017) e apenas 3% desses resíduos são valorizados ou aproveitados (GARRIDO et al., 2019; MONRAD et al., 2010). Uma pequena quantidade é reutilizada na produção de “grappa” e o restante da produção é desperdiçado ou subutilizado para adubação do solo e/ou como complemento de ração animal (BRENES et al., 2016; DREVELEGKA; GOULA, 2020;

GARRIDO et al., 2019). Entretanto, a reutilização deste subproduto tem grande impacto na redução de resíduos gerados (BERES et al., 2017; MELO et al., 2011), permitindo aliar ganhos ambientais, econômicos e sociais.

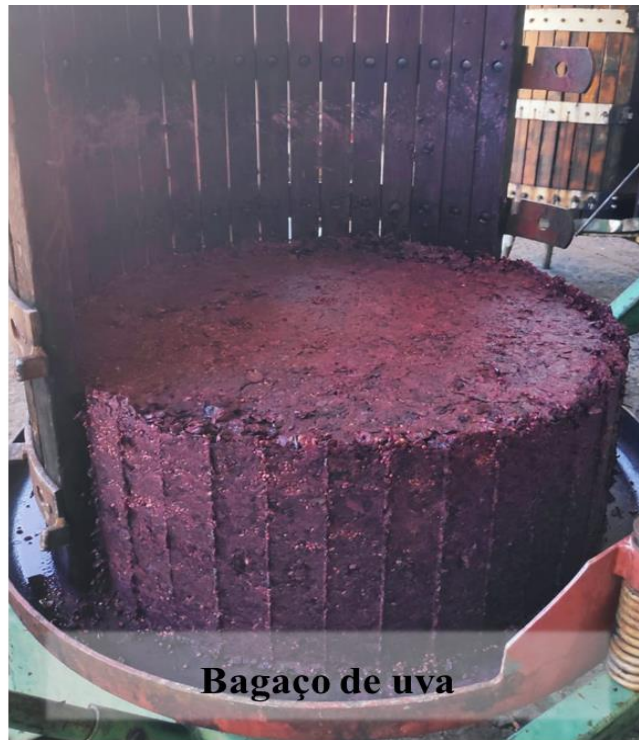
Mesmo após a elaboração do vinho, com extração de compostos antioxidantes de interesse, tais como antocianinas e flavonóides, quantidades significativas destes permanecem no resíduo. Portanto, o reaproveitamento do principal subproduto da vinificação pode contribuir para a sustentabilidade da cadeia vitivinícola (RONDEAU et al., 2013). Além disso, nos últimos anos os consumidores vêm demonstrando novos hábitos, e a necessidade de substituição de compostos sintéticos por naturais vem ganhando espaço nas indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêuticas. Existe uma vasta gama de aplicações para o bagaço de uva, como alimentos funcionais (fibras alimentares e polifenóis), cosméticos (óleo de semente de uva e antioxidantes), produtos farmacêuticos e suplementos (BERES et al., 2017).

## 2.2. BAGAÇO DE UVA

O bagaço de uva, é constituído principalmente de cascas, sementes e resíduos de polpa, além de outros componentes, entre os constituintes primários, como ácidos orgânicos e polifenóis (MORO et al., 2021a; MUHLACK; POTUMARTHI; JEFFERY, 2018). Corresponde ao principal subproduto sólido da cadeia vitivinícola gerado após a prensagem das uvas na produção de vinho branco e/ou após a fase de fermentação e prensagem na vinificação em tinto (Figura 3) (BARCIA et al., 2014; BENDER et al., 2020). Nas últimas décadas, este subproduto vem sendo objeto de estudos na área de alimentos. Diversos trabalhos têm demonstrado o potencial de reaproveitamento de polifenóis e fibras alimentares (BENDER et al., 2020; CALDAS et al., 2018; DREVELEGKA; GOULA, 2020; MORO et al., 2021b) e atividades biológicas benéficas, por exemplo, atividades anti-inflamatórias (MAURER et al., 2019), antiproliferativas (JARA-PALACIOS et al., 2015; MARTINS; MACEDO; MACEDO, 2020) e antimicrobianas (SILVA et al., 2018).

A composição química do bagaço de uva é influenciada pela variedade de uva (branca ou tinto), as partes do tecido utilizado (casca ou semente) e as condições da vinificação (contato ou não com a casca durante o processo fermentativo). Além destes fatores, há influência de fatores edafoclimáticos e de práticas enológicas da região e ainda ao estado sanitário das uvas no momento da colheita (BRENES et al., 2016; RONDEAU et al., 2013).

Figura 3 - Bagaço de uva obtido após o processo de fermentação e prensagem na vinificação em tinto.



Fonte: Autoria pessoal.

O bagaço de uva seco é composto, principalmente, de fibra alimentar, em concentrações que variam entre 43 a 75%. Esta é constituída de polissacarídeos de parede celular e lignina (GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017; KAMMERER; SCHIEBER; CARLE, 2005) sendo que a casca é a fração com maiores quantidades deste componente (50-60%) (DENG; PENNER; ZHAO, 2011). Em relação a sua composição monossacarídica, o bagaço de uva apresenta 30% de polissacarídeos neutros (celulose, xiloglicana, arabinana, galactana, xilana e manana), 20% de substâncias pécticas ácidas, 15% de proantocianidinas insolúveis, lignina, proteínas e fenóis estruturais, estes ligados a estrutura de carboidrato-lignina (CHAMORRO et al., 2012; GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017; KAMMERER; SCHIEBER; CARLE, 2005; MORO et al., 2021a).

Configura uma fonte valiosa de fitoquímicos, incluindo uma variedade de polifenóis, pigmentos e antioxidantes, despertando interesse da comunidade acadêmica pela extração e caracterização de tais compostos (BARCIA et al., 2014; DREVELEGKA; GOULA, 2020; FERRI et al., 2016; GARRIDO et al., 2019; MARTINS; MACEDO; MACEDO, 2020; PEIXOTO et al., 2018; POVEDA et al., 2018; SILVA et al., 2018). Logo, o bagaço de uva pode

potencializar os efeitos biológicos de alimentos, o que o torna especialmente relevante como fonte de compostos bioativos e vem ao encontro da busca dos consumidores por produtos naturais e saudáveis.

A composição química das uvas não sofre alterações durante as etapas de esmagamento e prensagem, no processo de vinificação. Estas ocorrem, especialmente, durante a fermentação na elaboração dos vinhos tintos e correspondem às alterações na composição dos carboidratos. Entretanto, estas não induzem mudanças químicas no conteúdo de compostos bioativos, visto que tanto no bagaço de uva tinta quanto no bagaço de uva branca, mantém-se quantidade significativa de compostos bioativos. Estima-se que, aproximadamente, 70% do conteúdo de polifenóis permanecem no bagaço após o processamento (BERES et al., 2017; DWYER; HOSSEINIAN; ROD, 2014; GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2010). Por se tratar de uma fonte rica em polifenóis e pela expressiva quantidade gerada, esse resíduo pode ser reutilizado como substituto de aditivos ou novos ingredientes nas indústrias de alimentos, o que torna este setor uma fonte promissora de substâncias bioativas naturais (CALDAS et al., 2018; MELO et al., 2011, 2015).

### 2.3. POLIFENÓIS

O termo fenóis (ou fenólicos) abrange um grupo de metabólitos secundários de plantas que contem anéis aromáticos (MUHLACK; POTUMARTHI; JEFFERY, 2018). Os polifenóis têm uma grande diversidade estrutural, possuem um anel aromático, com um ou mais substituintes hidroxila associados com a estrutura do anel e variam de um fenol único até compostos altamente polimerizados (ZHU; ZHANG; LU, 2012). Polifenóis poliméricos (proantocianidinas) presentes na casca e nas sementes de uvas, frequentemente são descritos como taninos (ou taninos condensados) enquanto que os flavonóides monoméricos, presentes na casca das uvas tintas, são conhecidos como antocianinas (MUHLACK; POTUMARTHI; JEFFERY, 2018).

Os polifenóis presentes nas uvas podem ser classificados em ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos), flavonóides (catequinas, flavonóis e antocianinas) e em proantocianidinas (PEIXOTO et al., 2018; REBELLO et al., 2013; SINGH et al., 2016). Com destaque à antocianinas, catequinas, flavonóis, estilbenos e ácidos fenólicos, sendo que os mais abundantes são as antocianinas e os flavonóis concentrados nas cascas e nas sementes, respectivamente (MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007; TEIXEIRA et al., 2014). Estes compostos apresentam vários efeitos fisiológicos como atividade antioxidante,

antialérgico, anti-inflamatório, antimicrobiano, antitrombótico, anti-carcinogênico e cardioprotetor (SILVA et al., 2018). As propriedades antioxidantes e funcionais do bagaço de uva podem conferir proteção contra danos oxidativos pois, ao interagir com os radicais livres, inibem as reações de oxidação (RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019), estimulam o sistema neural (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016) e metabolismo intestinal (BENDER et al., 2020).

As antocianinas, que representam os pigmentos vegetais da cor vermelha, estão entre os principais polifenóis encontrados no bagaço de uva de cultivares tintas (BERES et al., 2017; IGNAT; VOLF; POPA, 2011; SOUZA et al., 2015). As antocianinas são reconhecidas como substâncias antioxidantes (ROCKENBACH et al., 2011) e antimicrobianas (CALDAS et al., 2018), podem eliminar espécies reativas de oxigênio e eletrólitos, inibir a nitrosação, quelar metais e modular as atividades de algumas enzimas (SOUZA et al., 2015). São compostos solúveis em água e suscetíveis à ação do pH, luz, presença de oxigênio, enzimas, ácido ascórbico, dióxido de enxofre ou sulfito, íon metálicos e copigmentos (BERES et al., 2017). Sua instabilidade dificulta sua utilização no setor alimentício, tornando-se objeto de estudos devido ao seu grande potencial na indústria de alimentos, e por seus benefícios para a saúde (SOUZA et al., 2015). As principais antocianinas encontradas no bagaço de uva são cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e 3-*O*-glicosídeos de malvidina (BURIN et al., 2011; MELO et al., 2015).

Os ácidos fenólicos são divididos em ácidos hidroxicinâmicos (ácido gálico, cafeico, ferúlico, *p*-cumárico, clorogênico e sinápico e compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três carbonos) e ácidos hidroxibenzóicos (*p*-hidroxibenzóicos, ácidos protocatecúico, siríngico e vanílico) (BERES et al., 2017; YU; AHMEDNA, 2013). Os ácidos hidroxicinâmicos são mais abundantes nos resíduos vitivinícolas, e o genótipo de uva influencia nas concentrações dos polifenóis (TEIXEIRA et al., 2014). Esses ácidos são raros na forma livre porém comuns em alimentos submetidos ao congelamento, esterilização ou fermentação (YU; AHMEDNA, 2013).

Os flavan-3-ols (proantocianidinas e catequinas) são o grupo mais complexo dos flavonóides e são facilmente encontrados em frutas e legumes (BERES et al., 2017). Estes compostos atuam em parâmetros de qualidade dos produtos vinícolas como: adstringência, amargor, acidez, doçura, viscosidade, aroma, formação de cor e estrutura dos vinhos (TEIXEIRA et al., 2014). Os flavan-3-ols se condensam facilmente em procianidinas oligoméricas e compostos poliméricos, conhecidos como taninos condensados. Os subprodutos vinícolas de cultivares tintas e brancas apresentam diferentes concentrações de flavan-3-ols,

catequinas, galocatequinas e proantocianidinas e são frequentemente encontradas nas cascas, enquanto as sementes contêm catequinas e procianidinas (BERES et al., 2017).

Os estilbenos são fitoalexinas, ou seja, compostos produzidos por plantas em resposta ao estresse (BERES et al., 2017) e são constituídos por dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de etileno (TEIXEIRA et al., 2014). Podem ser encontrados em subprodutos da cadeia vitivinícola (casca), mas também em caules e sementes. O resveratrol é o estilbeno mais comum encontrado na uva, vinho e no resíduo da vinificação. O teor de estilbenos varia entre uvas tintas e brancas e em função de fatores bióticos e abióticos e método de beneficiamento.

Os flavonóis são os flavonóides geralmente presentes nas sementes (56 a 65% de flavonol total), podem ser incolores ou amarelos, e representados pela miricetina, quercetina e kaempferol (FRAGA, 2009). Os resíduos vitivinícolas de cultivares tintas possuem maior concentração de flavonóis em comparação à cultivares brancas (TEIXEIRA et al., 2014). Os flavonóis estão associados à co-pigmentação, conferindo estabilidade de cor das antocianinas nas uvas e, conseqüentemente, em seus subprodutos (BERES et al., 2017).

O conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante do bagaço de uva (polpa, cascas e sementes), foram amplamente investigados nos últimos anos. Considerando a variedade de estruturas de polifenóis encontradas nas uvas é fundamental adequar métodos de extração à matriz alimentar (MEDOUNI-ADRAR et al., 2015). Contudo, a recuperação de polifenóis a partir do bagaço de uva ainda é onerosa, demanda muito tempo e é ambientalmente agressivo. Deste modo os métodos de extração verde aplicados ao bagaço de uva se apresentam como alternativa para agregar valor e possibilitar seu uso como fonte de biomoléculas para aplicações na indústria alimentícia. Além do mais, a associação das técnicas de microencapsulação a estes compostos pode apresentar efeitos prolongados e controlados sob o organismo humano, manutenção e aplicação a nível industrial.

#### 2.4. EXTRAÇÃO VERDE DE PRODUTOS NATURAIS

A extração verde é fundamentada na descoberta de processos de extração que reduzem o consumo de energia, permitem o uso de solventes alternativos e garantem extratos e/ou produtos seguros e de qualidade (CHEMAT et al., 2019). Extratos naturais incluem metabólitos primários e secundários (proteínas, gorduras e óleos, fibras alimentares, açúcares, antioxidantes, óleos e aromas essenciais e corantes) de plantas. Eles são de grande interesse para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos, pois são totalmente aceitos pelos



consumidores como aditivos atóxicos e seguros (CHEMAT et al., 2019; FERREIRA et al., 2020).

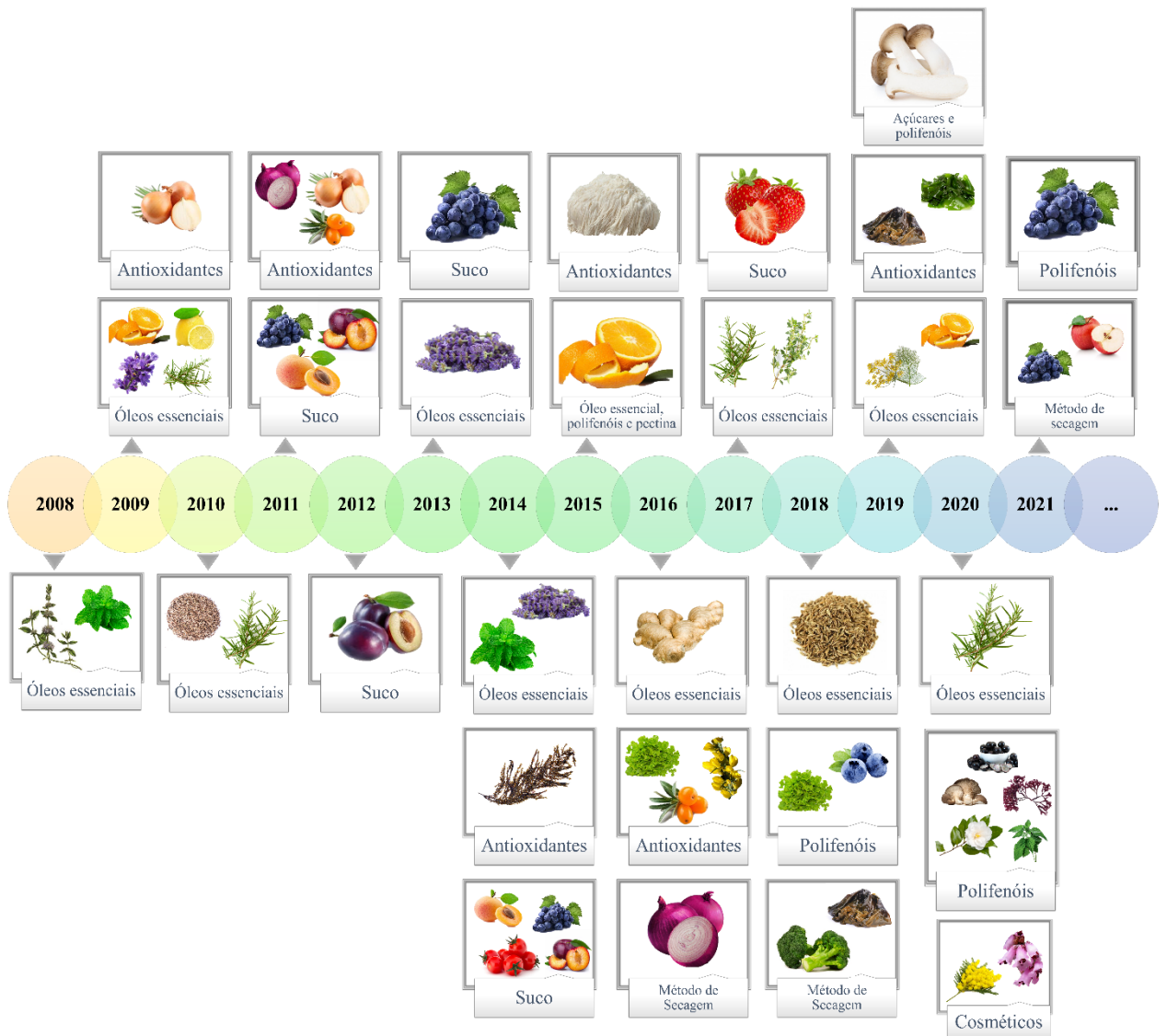
Convencionalmente, esses extratos são obtidos usando a extração sólido-líquido, processo de extração que é composto de várias operações unitárias, como pré-tratamento do material vegetal (secagem e trituração) e pós-tratamento do extrato líquido (filtração, concentração e purificação) (CHEMAT et al., 2019). A extração pode ser realizada por vários métodos, desde o uso de diferentes solventes orgânicos (acetona, metanol, etanol, hexano, entre outros) até metodologias convencionais, como destilação a vapor, hidro-destilação, Soxhlet e maceração (LÓPEZ-HORTAS et al., 2016), que apresentam baixa eficiência, alto consumo de energia e tempo (FERREIRA et al., 2020). O principal problema associado aos métodos convencionais de extração relaciona-se com a perda ou contaminação de compostos alvo que são termicamente sensíveis e vulneráveis a alterações químicas. Além disso, o produto resultante nem sempre é seguro, pois pode conter solventes residuais, contaminantes da matéria-prima ou compostos degradados (CHEMAT et al., 2019; LI et al., 2013). Estima-se que o procedimento convencional de extração de solvente representa apenas 80% do tempo total de processamento, mas também 90% da energia necessária e mais de 99% do solvente usado em todo o procedimento de análise (CHEMAT et al., 2015).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novas técnicas que atendem às necessidades de informações e, ao mesmo tempo, reduzam o impacto ambiental dos processos de extração e análises vem sendo difundidas pelos pesquisadores. Impulsionados por esses objetivos, os avanços da extração verde resultaram em várias técnicas. Neste contexto, ao bagaço de uva vem sendo empregadas técnicas de extração de fluido supercrítico (CASAS et al., 2010; DA PORTO; NATOLINO, 2017; DA PORTO; NATOLINO; DECORTI, 2015); extração assistida por micro-ondas (BRAHIM; GAMBIER; BROSSE, 2014; GARRIDO et al., 2019; MEDOUNI-ADRAR et al., 2015); extração de campo elétrico pulsado (BARBA et al., 2015; BRIANCEAU et al., 2015; DELSART et al., 2014); extração assistida por ultrassom (CALDAS et al., 2018; DA PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013; GOULA; THYMIATIS; KADERIDES, 2016; POVEDA et al., 2018); extração por aquecimento ôhmico pulsado (EL DARRA et al., 2013); descargas elétricas de alta tensão (BARBA et al., 2015; BOUSSETTA et al., 2012); processamento de alta pressão (CASAZZA et al., 2010, 2012) e a extração acelerada de solventes (RAJHA et al., 2014); com intuito de recuperar e identificar os compostos presentes neste subproduto.

A extração assistida por micro-ondas é uma técnica inovadora que se mostrou eficiente na recuperação de óleos essenciais e polifenóis (CALINESCU et al., 2017; FERREIRA et al.,

2020; PÉRINO et al., 2016). O aquecimento rápido produzido pelas micro-ondas com excelente controle de temperatura evita gradientes e, conseqüentemente, a degradação térmica dos compostos de interesse. Uma das aplicações mais inovadoras da extração por micro-ondas sem solvente foi o processo MHG, desenvolvido para matrizes vegetais visando ainda mais os limites do micro-ondas rumo a um processo mais verde. Além disso, pode ser aplicado à extração verde de produtos de acordo com o conceito de biorrefinaria, oferecendo vantagens operacionais derivadas da redução de solventes, energia, resíduos e tempo (LÓPEZ-HORTAS et al., 2016; MORO et al., 2021a). A extração e a recuperação são realizadas em um único estágio, envolvendo a aplicação de irradiação por micro-ondas e gravidade da terra. Trata-se de uma operação simples que não demanda o uso de solventes e que permite a obtenção extratos seguros e de qualidade (BOUSBIA et al., 2009a, 2009b; MORO et al., 2021a). Uma larga escala de compostos (por exemplo, óleos essenciais, antioxidantes, pigmentos, aromas, sucos e outros compostos orgânicos) foram separados de forma eficiente através desta técnica. O MHG representa uma tecnologia inovadora que atende os princípios da “química verde” e vem sendo aplicada em diferentes materiais vegetais ao longo dos últimos anos (Figura 4).

Figura 4 – Micro-ondas de hidrodifusão e gravidade e suas aplicações em diferentes matrizes vegetais nos últimos anos (2008 a 2021).



Fonte: Autoria pessoal.

2008: Hortelã (*Mentha spicata* L.) e Poejo (*Mentha pulegium* L.) (VIAN et al., 2008).

2009: Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (BOUSBIA et al., 2009b), Flores de lavanda (*Lavandula angustifolia* M.) (FARHAT et al., 2009), Casca de citrus (*Citrus limon* G. e *Citrus sinensis* L.) (BOUSBIA et al., 2009a) e Cebola amarela (*Allium cepa* L.) (ZILL-E-HUMA et al., 2009).

2010: Sementes de cominho (*Carum. caervi* L.) (FARHAT et al., 2010) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (OKOH; SADIMENKO; AFOLAYAN, 2010).

2011: Ameixa (*Prunus domestica* L., cv. President), Uva (*Vitis vinifera* L., cv. Muscat de Hambourg), Damasco (*Prunus ameniaca* L.) (CENDRES et al., 2011), Subprodutos de cebola amarela (*Allium cepa* L.) (ZILL-E-HUMA et al., 2011a), Cebola vermelha (*Allium cepa* L.) (ZILL-E-HUMA et al., 2011b) e Espinheiro marítimo (*Hippophae rhamnoides* L.) (PÉRINO-ISSARTIER et al., 2011).

2012: Ameixa (*Prunus domestica* L., cv. Najbolia) (CENDRES et al., 2012).

2013: Lavandin (*Lavandula intermedia*, cv. Grosso) (PÉRINO-ISSARTIER et al., 2013) e Bagaço de suco de uva (*Vitis vinifera* L., cv. Alphonse Lavallée) (AL BITTAR et al., 2013).

2014: Damasco (*Prunus ameniaca* L., A3844), Uva (*Vitis vinifera* L., cv. Muscat), Tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* L., cv. Doces 100F1), Ameixa (*Prunus domestica* L., cv. President) (CENDRES et al., 2014), Hortelã

(*Mentha spicata* L.) (CĂLINESCU et al., 2014), Lavanda (*Lavandula angustifolia* M.) (BINELLO et al., 2014) e Algas marrons (*Sargassum muticum*) (PÉREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2014).  
 2015: Cogumelo Juba de Leão (*Hericium erinaceus*) (PARADA et al., 2015) e Casca de laranja (*Citrus sinensis* L.) (BOUKROUFA et al., 2015).  
 2016: Espinheiro marítimo (*Hippophae rhamnoides* L.) (ASOFIEI et al., 2016), Flores de tojo (*Ulex europaeus* L.) (LÓPEZ-HORTAS et al., 2016), Alface (*Lettuce sativa*) (PÉRINO et al., 2016), Subprodutos de gengibre (JACOTET-NAVARRO et al., 2016) e Cebola vermelha (*Allium cepa* L.) (KHAN et al., 2016).  
 2017: Tomilho (*Thymus officinalis* L.), Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (CALINESCU et al., 2017) e Morango (*Fragaria x ananassa*, cv., Clery) (TURK et al., 2017).  
 2018: Mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) (RAVI et al., 2018), alga marrom (*Laminaria ochroleuca*) (LÓPEZ-HORTAS et al., 2018), Alface (*Lactuca Sativa* L.) (ANGOY et al., 2018), brócolis (FERREIRA et al., 2018) e sementes de cominho da Tunísia (*Cuminum cyminum* L.) (BENMOUSSA et al., 2018).  
 2019: Algas marrons (*Laminaria ochroleuca* e *Undaria pinatifida*) (LÓPEZ-HORTAS; DOMÍNGUEZ; TORRES, 2019), cogumelos (*Pleurotus eryngii*) (RODRÍGUEZ-SEOANE et al., 2019), Semente de funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) (BENMOUSSA et al., 2019), casca de laranja (RAZZAGHI et al., 2019).  
 2020: Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (FERREIRA et al., 2020), Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) (HECK et al., 2020), cogumelo ostra (CHOUHAN et al., 2020), algas vermelhas (*Mastocarpus stellatus*) (BARRAL-MARTÍNEZ et al., 2020), Folhas (*Camellia sinensis*) (SANZ et al., 2020), Flores de *Acacia dealbata* e de *Erica australis* L. (LÓPEZ-HORTAS et al., 2020a, 2020b).  
 2021: Uva (*Vitis vinifera* L., cv. 'BRS Vitória') (FARIAS et al., 2021), Bagaço de maçã (FERNANDES et al., 2021) e Bagaço de uva (*Vitis vinifera* L.) (MORO et al., 2021b).

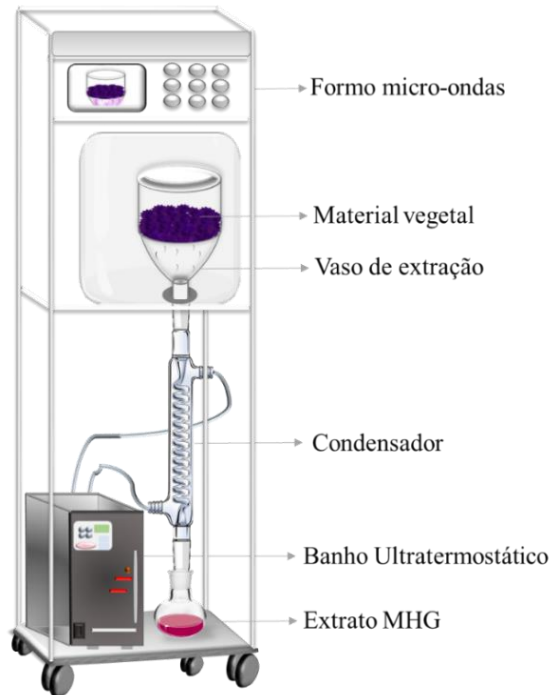
## 2.5. MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE

A técnica MHG foi desenvolvida em 2008 por Chemat; Vian; Visinoni (2008) e ajusta-se às técnicas de extração verde, por ser um método de extração sem solventes que combina o aquecimento por micro-ondas com a gravidade da terra à pressão atmosférica (ASOFIEI et al., 2016; LI et al., 2013). O sistema MHG foi concebido para aplicações em escala industrial e laboratorial na extração de pigmentos, componentes aromáticos e antioxidantes de materiais vegetais com um mínimo de 60% de umidade inicial (FARHAT et al., 2010; LI et al., 2013), sendo considerada uma tecnologia eficiente, econômica e ambientalmente correta (BOUKROUFA et al., 2015; MORO et al., 2021a; RAVI et al., 2018; ZILL-E-HUMA et al., 2011a).

O princípio da técnica consiste em adicionar o material vegetal em um reator de micro-ondas, sem adicionar nenhum solvente (CHEMAT et al., 2015). A técnica explora o aquecimento dielétrico da água e moléculas “*in situ*” presente nas células, aquecendo o material vegetal imediatamente. O aumento da temperatura e pressão dentro das células promove o alongamento da estrutura levando a ruptura física da membrana e da parede celular (MORO et al., 2021a). Esse fenômeno físico, conhecido como hidrodifusão, possibilita que o extrato carregado de compostos fitoquímicos e água das células se difunda do material vegetal e seja carregado por gravidade e, em seguida, o extrato entra no sistema de resfriamento fora do forno

de micro-ondas através de um disco perfurado de material *Pyrex*, onde é coletado em um balão específico (Figura 5) (CENDRES et al., 2011; CHEMAT et al., 2015, 2019).

Figura 5 - Diagrama esquemático do aparelho MHG.



Fonte: Autoria pessoal.

A viabilidade da técnica MHG vem sendo investigada em diferentes matrizes, como mostra a Figura 4. Esse procedimento foi aplicado em produtos de origem vegetal, como plantas aromáticas e cítricas, para extração de óleo essencial, a partir de folhas de alecrim (BOUSBIA et al., 2009b; CALINESCU et al., 2017; FERREIRA et al., 2020), hortelã, poejo (VIAN et al., 2008), lavandin grosso (PÉRINO-ISSARTIER et al., 2013), sálvia (BINELLO et al., 2014) e flores de lavanda (FARHAT et al., 2009), como também em subprodutos, como cebola e bagaço de uva e em macroalgas marinhas, para a obtenção de compostos polifenólicos (AL BITTAR et al., 2013; BOUKROUFA et al., 2015; FERREIRA et al., 2020; MORO et al., 2021b; PÉREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2014; ZILL-E-HUMA et al., 2011a), sendo também testada no processo de secagem de cebolas, algas, brócolis, uvas e bagaço de maçã (FARIAS et al., 2021; FERNANDES et al., 2021; FERREIRA et al., 2018; KHAN et al., 2016; LÓPEZ-HORTAS et al., 2018), na elaboração de sucos de frutas a partir de uva, ameixa, damasco e morangos (AL BITTAR et al., 2013; CENDRES et al., 2011, 2012; TURK et al., 2017) e mais recentemente

na extração de compostos bioativos para fins cosméticos (LÓPEZ-HORTAS et al., 2020a, 2020b).

Na última década os polifenóis vem sendo investigados de forma substancial através da técnica MHG, sendo aplicada em extrações de escala industrial e laboratorial de diferentes matrizes vegetais como: cebola (ZILL-E-HUMA et al., 2009), algas marrons (PÉREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2014), cogumelos (PARADA et al., 2015), alface (PÉRINO et al., 2016), flores de tojo (LÓPEZ-HORTAS et al., 2016), tomilho (CALINESCU et al., 2017), mirtilo (RAVI et al., 2018) e alecrim (FERREIRA et al., 2020). Essa técnica inovadora também vem sendo aplicada à extração de compostos antioxidantes de subprodutos.

Zill-e-Huma et al. (2009, 2011b) investigaram a técnica MHG para extrair flavonóis de cebolas. Um poder de irradiação de 500 W para 500 g de material vegetal foi escolhido como ideal pois em apenas 23 minutos foi possível obter um extrato valioso, mantendo suas propriedades organolépticas e com maior conteúdo fenólico (58,2 mg GAE g<sup>-1</sup> matéria seca). Os autores evidenciaram ainda que juntamente com os flavonóis (glicosídeos de quercetina), existem outros componentes nas cebolas responsáveis por sua atividade antioxidante, e o MHG demonstrou seu papel notável no campo de extração extraindo-os. Observaram também, que as micro-ondas induzem rupturas de vacúolos e paredes celulares, promovendo a eficácia do método.

O MHG também foi aplicado a subprodutos de espinheiro marítimo (*Hippophae rhamnoides*), com o intuito de extrair antioxidantes específicos (PÉRINO-ISSARTIER et al., 2011). Com potência otimizada em 400 W, o MHG apresentou vantagens importantes como menor tempo de extração (15 minutos), recurso renovável (sem solvente) e extração de flavonóides valiosos, tais como, isoranetina, isoranetina 3-O-glucosídeo, isoranetina 3-O-rutinosídeo e quercetina 3-O-glucosídeo. O extrato mostrou ainda um conteúdo fenólico muito maior (1147 mg GAE g<sup>-1</sup>) contra a extração convencional por solvente (741 mg GAE g<sup>-1</sup>), e maior atividade antioxidante frente ao radical livre 2,2-difenil-a-picrilhidrazil (DPPH).

Este método também foi usado em etapas sequenciais para recuperação de frações. Boukroufa et al. (2015) desenvolveram um novo conceito baseado na biorrefinaria de resíduos de cascas de laranja, com o objetivo de obter óleo essencial, polifenóis e pectina através de técnicas isentas de solventes (MHG e ultrassom). Os autores não observaram alterações significativas no rendimento de extração do óleo essencial ao comparar a técnica MHG à extração por destilação a vapor. Após a extração do óleo essencial, a água residual do material vegetal obtida após a extração MHG foi utilizada como solvente para a extração de polifenóis e pectina dos resíduos do MHG. Os autores evidenciaram que sob condições otimizadas de

potência ( $0,956 \text{ W cm}^{-2}$ ) e temperatura ( $59,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ), o ultrassom resultou em um rendimento de polifenol de  $50 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  matéria seca). A pectina extraída através da técnica MHG forneceu um rendimento máximo de 24,2% para potência de 500 W em apenas 3 minutos ao ser comparada com a extração convencional. Os autores concluíram que a combinação do MHG, ultrassom e água reciclada “*in situ*” das cascas de laranja permitiu obter compostos de alto valor agregado em um ciclo fechado usando apenas recursos naturais fornecidos pelo próprio material vegetal, o que intensifica o processo em termos de tempo e energia, redução de efluentes e ambientalmente correto.

O subproduto do suco de uva integral foi investigado por Al Bittar et al. (2013), na tentativa de desenvolver um suco de uva enriquecido com polifenóis. O bagaço de uva foi submetido ao MHG a uma potência otimizada de  $1 \text{ W g}^{-1}$ . O extrato obtido foi adicionado ao suco de uva tradicional e analisado quanto ao perfil de antocianinas monoméricas totais e conteúdo fenólico total. O extrato obtido por MHG apresentou maior conteúdo de antocianinas ( $4,4 \text{ mg malvidina-3-glicosídeo g}^{-1}$ ) e polifenóis ( $21,1 \text{ mg GAE g}^{-1}$ ), ademais o suco enriquecido com polifenóis apresentou os maiores valores de conteúdo fenólico total ( $6,7 \text{ mg GAE g}^{-1}$ ) e antocianinas monoméricas totais ( $3,9 \text{ mg malvidina-3-glicosídeo g}^{-1}$ ) ao ser comparado com o suco tradicional ( $2,9 \text{ mg GAE g}^{-1}$  e  $3,6 \text{ mg malvidina-3-glicosídeo g}^{-1}$ , respectivamente). Os autores comprovam a eficiência do MHG na extração de polifenóis e antocianinas de subprodutos da uva e atribuíram ao suco de uva suplementado com o extrato MHG uma cor mais atraente e maior teor de polifenóis, mantendo as características sensoriais do produto.

O MHG representa uma abordagem eficiente, econômica e ambientalmente correta, pois requer menos energia e nenhum solvente para operação. Entretanto, a técnica também foi investigada com finalidade de reduzir possíveis processos de degradação. Zill-e-Huma et al. (2011) evidenciaram uma necessidade intensiva de melhorar a técnica de extração com MHG e exploraram em seus estudos a aplicação do sistema de vácuo na técnica de micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (VMHG, do inglês, *Vacuum Microwave Hydrodiffusion and Gravity*) em subprodutos de cebola. A bomba de vácuo montada entre o condensador e o frasco utilizado para coletar o extrato, possibilitou um aumento de 57% na recuperação do conteúdo total de quercetina em comparação com o MHG, obtendo-se um extrato com propriedades antioxidantes mais relevantes. O estudo citológico destes subprodutos após o processo VMHG também revelou a eficiência deste método para melhorar a desintegração da estrutura celular, o que possibilitou o aumento da recuperação do conteúdo celular.

Evidencia-se a potencialidade do método MHG, como forma de promover e intensificar a valorização de materiais vegetais e subprodutos de forma rápida, eficiente e amigável ao meio

ambiente. O bagaço de uva, refere-se a um expressivo resíduo gerado pela cadeia vitivinícola, com potencial para reaproveitamento e ganhos econômicos. A utilização de técnicas rápidas e eficientes para diminuir este problema enfrentado pela indústria pode ser bastante promissora, com possibilidade de agregação de valor e desenvolvimento de produtos naturais, através de um resíduo rico ainda subaproveitado. Entretanto, apesar dos efeitos benéficos de extrações que seguem os princípios da “química verde”, os polifenóis são facilmente oxidados e sensíveis ao calor e à luz, o que limita sua aplicação na indústria de alimentos (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; OZKAN et al., 2019). Neste contexto, a microencapsulação é uma técnica confiável que pode superar esses desafios, pois é capaz de melhorar o tempo de retenção do nutriente no alimento, permitir a liberação controlada e direcionada, preservar a estabilidade dos polifenóis durante o processamento e armazenamento, prevenir interações indesejáveis com matriz alimentar, retardar os processos de degradação, mascarar mau gosto ou cheiro, aumentar a biodisponibilidade e manter a funcionalidade do componente bioativo (AGUIAR et al., 2017; BALLESTEROS et al., 2017).

## 2.6. MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é um processo no qual pequenas quantidades de matéria sólida, líquida ou gasosa são revestidas por uma fina camada polimérica, formando cápsulas de pequeno tamanho, que protegem o composto encapsulado das condições ambientais adversas (DUBEY; SHAMI; BHASKER RAO, 2009; JYOTHI SRI et al., 2012; POSHADRI; KUNA, 2010). A finalidade básica da microencapsulação na indústria de alimentos é, portanto, proteger os ingredientes encapsulados contra oxidação química e/ou de fatores do ambiente. O material encapsulado é denominado de agente ativo, de recheio ou de núcleo (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016), enquanto o material de encapsulamento pode ser referido como membrana, agente carreador, material transportador, revestimento ou material de parede (DHAKAL; HE, 2020).

Dhakal; He (2020) afirmam que para indústria de alimentos a microencapsulação tem por objetivo preservar componentes valiosos e sensíveis, protegendo-os de condições ambientais adversas, prolongando o prazo de validade e garantindo a entrega do material encapsulado no local de destino no tempo desejado. Além disso, a microencapsulação tem o potencial de proteger compostos sensíveis, preservar sabores e aromas desejáveis ou mascarar a aparência desagradável (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019; ROSA et al., 2019). Sendo que, nos últimos anos, vem sendo



amplamente explorada como alternativa de manutenção e valorização de extratos fenólicos oriundos de subprodutos da indústria de alimentos, com o objetivo de prolongar e potencializar a ação benéfica destes extratos (AIZPURUA-OLAIZOLA et al., 2016; MAHDAVI et al., 2016; MORENO; COCERO; RODRÍGUEZ-ROJO, 2018; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018; ROSA et al., 2021; TSALI; GOULA, 2018). Neste contexto, a microencapsulação permite aumentar a estabilidade e biodisponibilidade dos produtos (KUCK; NOREÑA, 2016; MORO et al., 2021a), e ainda promover sua liberação em condições específicas (MAHDAVI et al., 2016). Além disso, permite aumentar o prazo de validade dos compostos encapsulados, visto que, o material de revestimento protege o composto fenólico das reações de degradação e, controla a liberação destes compostos (AIZPURUA-OLAIZOLA et al., 2016).

A microencapsulação de subprodutos da cadeia vitivinícola vem sendo investigada pela comunidade científica, pois trata-se de uma fonte rica em polifenóis que exibem uma ampla gama de efeitos biológicos com propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, anticâncer, antienvhecimento e antidiabéticas (BREZOIU et al., 2019; ROCHA; NOREÑA, 2020; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020). Entretanto, as propriedades que tornam os antioxidantes do bagaço de uva atraentes em uso nutracêuticos, também apresentam limitações quando aplicadas no setor alimentício. A estabilidade dos polifenóis depende de fatores ambientais e químicos, como pH, íons metálicos, exposição à luz, temperatura, oxigênio e atividades enzimáticas (BALLESTEROS et al., 2017; YAMASHITA et al., 2017). Além disso, a aplicação direta destes compostos aos alimentos promovem sabores desagradáveis, baixa disponibilidade, devido à baixa solubilidade em água, e são instáveis em condições alcalinas encontradas nos fluidos biológicos (AIZPURUA-OLAIZOLA et al., 2016; OZKAN et al., 2019). As técnicas de microencapsulação oferecem uma solução para esses problemas, melhorando a estabilidade e a biodisponibilidade dos polifenóis. Estas promovem a manutenção de compostos sensíveis a fatores intrínsecos e extrínsecos do meio (MORO et al., 2021a; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020).

Existem diversas técnicas de microencapsulação, como secagem por pulverização, resfriamento/resfriamento por pulverização, extrusão, revestimento em leito fluidizado, coacervação, aprisionamento de lipossomas, geleificação iônica, polimerização interfacial, complexação de inclusão e liofilização (OZKAN et al., 2019; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020). Entre essas técnicas, a secagem por pulverização é a mais utilizada, pois permite a produção contínua com processos econômicos que podem ser facilmente industrializados em termos de equipamentos e materiais quando comparados a outras técnicas (TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020). A secagem por pulverização é especialmente usada para encapsular

ingredientes alimentares sensíveis ao calor, pois a atomização da mistura líquida em um fluxo de ar quente dura apenas uma fração de segundos, mantendo a temperatura das partículas relativamente baixa sem afetar significativamente sua qualidade (KALUŠEVIĆ et al., 2017).

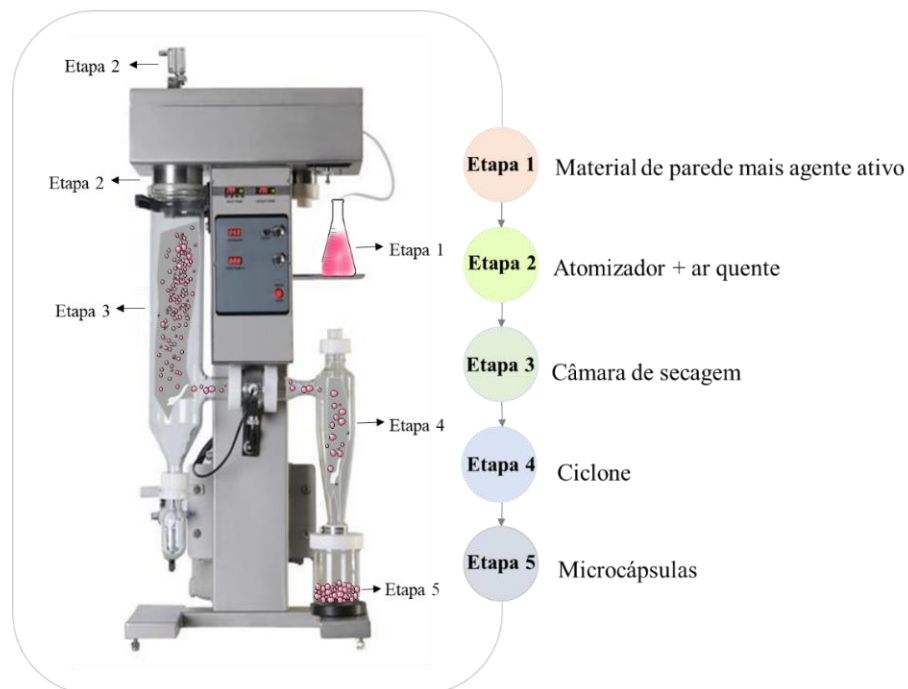
## 2.7. SECAGEM POR PULVERIZAÇÃO

A secagem por pulverização é atualmente o processo mais empregado de microencapsulação sendo amplamente utilizada pelo setor alimentício, por ser um processo contínuo, simples e rápido (NUNES et al., 2015; RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019; TOLUN; ALTINTAS; ARTIK, 2016). Ozkan et al. (2019), relatam que as características das microcápsulas obtidas por este método estão diretamente relacionadas aos fatores de processamento como: temperatura de secagem, vazão do ar de secagem, vazão de alimentação, velocidade do atomizador, tipo de agente transportador e sua concentração. Trata-se de uma técnica flexível, de baixo custo, de fácil expansão, e alta capacidade de processar uma ampla gama de ingredientes (LABUSCHAGNE, 2018; RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019). Este processo possibilita a diminuição da atividade de água, a estabilidade microbiológica, e a diminuição dos processos de degradação, assim como a redução dos custos de armazenamento e transporte (RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019). A principal desvantagem é a formação de partículas com tamanhos e formas não uniformes. Além disso, é limitada a um número restrito de agentes encapsulantes, que devem ser solúveis em água (LABUSCHAGNE, 2018; RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019). O princípio do método consiste na dissolução do núcleo, ou seja, o composto encapsulado, em um agente carreador, formando uma dispersão, que então é atomizada em ar aquecido, promovendo a rápida remoção do solvente, formando assim, partículas na forma de pó instantaneamente que serão separadas do ar de secagem (Figura 6). Trata-se de um método altamente reprodutível e apropriado para aplicações industriais (ROSA et al., 2019; SIMEONI et al., 2014).

A técnica de secagem por pulverização tem sido aplicada em extratos fenólicos provenientes de subprodutos da cadeia vitivinícola como: extrato de semente de uva (DAVIDOV-PARDO; AROZARENA; MARÍN-ARROYO, 2013) e do bagaço de uva (cascas e sementes) (KALUŠEVIĆ et al., 2017; KUCK; NOREÑA, 2016; KUCK; WESOŁOWSKI; NOREÑA, 2017; MORENO; COCERO; RODRÍGUEZ-ROJO, 2018; SOUZA et al., 2014; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020). A microencapsulação do extrato fenólico do bagaço de uva, utilizando goma arábica, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada com agentes encapsulantes foi testada com retenção de fenólicos e antocianinas acima de 80% (KUCK;

NOREÑA, 2016). A microencapsulação do extrato do bagaço de uva contendo polifenóis adquiriu maior estabilidade mesmo exposta à luz e sob diferentes temperaturas (AIZPURUA-OLAIZOLA et al., 2016). Tolun et al. (2020) concluíram que a combinação de maltodextrina e goma arábica resulta em maior estabilidade dos polifenóis quando comparada às microcápsulas obtidas apenas com maltodextrina, mesmo sob umidade relativa de 33%. A partir dos trabalhos já desenvolvidos, a microencapsulação se mostra eficaz na proteção e liberação dos compostos antioxidante (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

Figura 6 - Representação esquemática do processo de secagem por pulverização.



Fonte: Autoria pessoal.

## 2.8. AGENTES ENCAPSULANTES

O primeiro passo para o processo de microencapsulação é a escolha do agente encapsulante, que se baseia nas características físicas e químicas do composto a ser encapsulado (SUAVE et al., 2006). Para obter o encapsulamento desejável, a estabilidade de microcápsulas e as características exigidas no produto final, é necessário realizar uma seleção apropriada do método de encapsulamento e do agente encapsulante por se tratar de uma operação interdependente (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; RIBEIRO; ESTEVINHO;

ROCHA, 2019). Os agentes encapsulantes devem possibilitar liberação satisfatória, ser atóxicos e não apresentar reatividade com o agente ativo (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Os materiais mais utilizados na indústria de alimentos são os polissacarídeos, gomas, celulose, lipídeos e proteínas, além de misturas destes materiais (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; BALLESTEROS et al., 2017; MAHDAVI et al., 2016). A seleção do agente encapsulante baseia-se nas propriedades físico-químicas como a solubilidade, o peso molecular, a cristalinidade, a difusibilidade, a formação de película, a propriedade emulsificante, a baixa viscosidade e a resistência ao trato gastrointestinal (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018).

Os carboidratos são amplamente utilizados como agentes carreadores, devido ao baixo custo (dependendo da disponibilidade) e baixos valores de viscosidade (por exemplo, maltodextrina e goma arábica) (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; LABUSCHAGNE, 2018). As maltodextrinas são um dos polímeros mais utilizados em microencapsulação de sucos e extratos de frutas devido à sua não toxicidade, alta solubilidade e baixa viscosidade, além do mais, são inodoras e de baixo custo (TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020). Dentre as gomas, a goma arábica é a mais utilizada devido as suas propriedades de solubilidade, viscosidade e emulsificação, além da boa retenção de compostos voláteis (LABUSCHAGNE, 2018; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018).

Os amidos são substâncias importantes em processos de microencapsulação, dentre eles o hi-maize vem sendo estudado e caracterizado na microencapsulação de polifenóis. Denominado como amido resistente, possui características desejáveis como agente encapsulante de qualidade alimentar devido à sua cor branca, sabor suave, baixa capacidade de retenção de água e propriedades termo protetoras (NUNES et al., 2018; ROSA et al., 2019). A inulina é uma mistura de polissacarídeos formados por cadeias de frutose unidas por ligações  $\beta$ -(2-1) com uma unidade terminal de glicose, apresenta benefícios fisiológicos para o ser humano e propriedades funcionais (ARAUJO-DÍAZ et al., 2017; LEYVA-PORRAS et al., 2017), além do mais, vem sendo investigada na microencapsulação de sucos e extratos de frutas apresentando resultados promissores (ARAUJO-DÍAZ et al., 2017; ROSA et al., 2021; SAAVEDRA-LEOS et al., 2014). No entanto, apesar das boas propriedades, um agente encapsulante pode dificilmente apresentar todas as características necessárias. Assim, o uso de mistura de matérias de parede é uma alternativa para aumentar ainda mais a eficiência do processo de encapsulamento (KUCK; NOREÑA, 2016).

Nos últimos anos, vários estudos buscaram encapsular polifenóis oriundos de subprodutos vitivinícolas. Neste sentido, misturas de alginato e quitosana, gelatina, maltodextrina, carboximetilcelulose, proteínas, goma arábica, leite em pó desnatado, concentrado do soro de leite, pectina e outras foram utilizadas como agentes carreadores (AIZPURUA-OLAIZOLA et al., 2016; BOONCHU; UTAMA-ANG, 2013; RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019; ROCHA; NOREÑA, 2020; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020; TSALI; GOULA, 2018).

Embora a microencapsulação de polifenóis provenientes de resíduos vitivinícolas seja amplamente investigada pela comunidade acadêmica, visando estabelecer o melhor método de encapsulamento e os materiais de parede mais eficientes, poucos estudos buscam associar os princípios da “química verde” aos processos de microencapsulação. Tsali; Goula (2018), utilizaram o método de extração assistida por micro-ondas (MAE, do inglês, *Microwave Assisted Extraction*) seguido de microencapsulação de secagem por pulverização para valorizar o bagaço de uva, e obtiveram eficiência (92,4%) e rendimento (37,2%) dos extratos obtidos e observaram que o extrato bruto degrada mais rápido que no produto encapsulado. Extratos do bagaço de uva oriundos do método MAE e microencapsulados em secagem por pulverização utilizando isolado de proteína de soro de leite e goma arábica como agentes carreadores permitiu a liberação controlada de compostos bioativos com significativa atividade antioxidante (ROCHA; NOREÑA, 2020). Por outro lado, quando utilizado goma arábica e pectina como agente carreador, as microcápsulas apresentaram maior capacidade de retenção de antocianinas se comparado ao agente carreador isolado de proteína de soro de leite (ROCHA; NOREÑA, 2020). Os fenólicos obtidos do bagaço de uva por extração limpa possuem um grande potencial e demandam de mais atenção da comunidade científica para otimização de sua obtenção para posteriormente ser incorporados pela indústria de alimentos.

Para o processo de microencapsulação ser bem-sucedido, a sua incorporação na indústria de alimentos deve ser levada em consideração. Ao aliarmos produtividade com eficiência alimentar, estamos promovendo um ganho a nível ambiental e possibilitando resgatar compostos ricos em propriedades antioxidantes de um subproduto abundante como o bagaço de uva. Portanto, o primeiro passo é a escolha do método de extração dos compostos, seguido da identificação do núcleo e por fim, a seleção do agente encapsulante e da técnica de microencapsulação que tem como função proteger e disponibilizar os compostos de interesse.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Reaproveitar polifenóis do bagaço de uva através da técnica de extração por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade, seguida de microencapsulação através do processo de secagem por pulverização.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudar tecnologias extrativas que atendam aos princípios da “química verde”, para recuperação de polifenóis do bagaço de uva de forma inovadora, eficiente, econômica e ambientalmente menos agressiva.

- Avaliar o efeito da tecnologia extrativa, por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade, sobre as condições de extração do bagaço de uva. Quantificar o extrato quanto ao conteúdo fenólico total, antocianinas monoméricas totais, atividade antioxidante e investigar a influência do processo de extração, sobre o bagaço de uva remanescente, coproduto, através das propriedades físico-químicas, fenólicas e antioxidantes.

- Investigar a microencapsulação do extrato do bagaço de uva, obtido por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade, através da técnica de secagem por pulverização utilizando diferentes combinações de agentes carreadores e avaliar a influência da inclusão do extrato sobre a viabilidade bioativa das microcápsulas, em diferentes temperaturas de armazenamento, e resistência dos compostos antociânicos em condições que simulam o ambiente gástrico e intestinal.





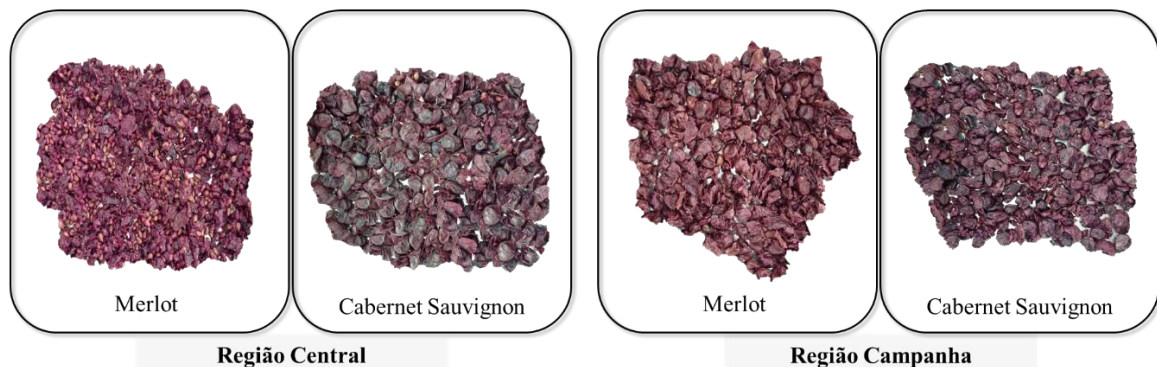
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

#### 4.1.1. Obtenção do bagaço de uva

O bagaço de uva, proveniente da vinificação da cultivar Merlot e Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.), de duas regiões distintas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, na safra 2018/2019 (Figura 7), foi obtido após as etapas de fermentação e prensagem. O bagaço foi então coletado, acondicionado em sacos de polietileno de baixa densidade e congelado a  $-18 \pm 0,1$  °C. Posteriormente, parte do material foi liofilizado, moído e armazenado a  $-18 \pm 0,1$  °C, até o momento de realização das análises.

Figura 7 - Amostras do bagaço de uva das duas regiões vitivinícola do estudo.



Fonte: Autoria pessoal.

### 4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização foi realizada no bagaço de uva, previamente seco, moído em micro moinho (partículas  $< 1,0$  mm) e armazenado a  $-18 \pm 0,1$  °C.

#### **4.2.1. Composição centesimal e conteúdo de minerais**

As amostras foram analisadas quanto à composição centesimal – matéria seca (105 °C/12 horas), matéria mineral (550 °C/5 horas), proteína bruta (PB), através da determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ), de acordo com as técnicas descritas pela AOAC (1995); lipídeos pelo método de Bligh; Dyer (1959) e o teor de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foram estimados através do método enzimático-gravimétrico da AOAC (1995). Os resultados da composição centesimal foram expressos em g por 100 g de amostra seca.

Os minerais (potássio, magnésio, cálcio, manganês, ferro, zinco, cobre, fósforo, enxofre e boro) foram quantificados através da metodologia descrita por Malavolta; Vitti; De Oliveira (1987). Os resultados foram expressos em mg por kg de amostra em base seca.

#### **4.2.2. Composição físico-química**

A capacidade de retenção de água (CRA) e a capacidade de ligação ao óleo (CLO) foram determinadas segundo Raghavendra et al. (2004), com algumas modificações. À amostra (1 g) foram adicionados 15 mL de água destilada (para CRA) ou óleo de soja (para CLO). Após 24 horas de repouso em temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), o sobrenadante foi descartado posteriormente à centrifugação (3000 rpm/15 minutos). Os resultados foram expressos em gramas de água/óleo retidos em um grama de amostra seca, respectivamente.

A densidade aparente (DA) foi calculada segundo Chau, Wang; Wen (2007). Uma quantidade estabelecida de amostra foi adicionada a um cilindro graduado de 10 mL. Os resultados foram expressos como quantidade de amostra (em matéria seca) ocupada por mililitro de amostra ( $g mL^{-1}$ ).

O pH das amostras foi determinado com pHmetro após mistura da amostra (1 g) com água destilada (10 mL).

#### **4.2.3. Compostos fenólicos e atividade antioxidante**

##### *4.2.3.1. Obtenção do extrato*

A extração dos polifenóis foi realizada segundo metodologia proposta por Melo et al. (2011). À amostra (1 g) foi adicionada na solução etanol/água (80: 20, v/v) (10mL). Após

agitação (5 minutos) a extração foi conduzida em banho de ultrassom, à temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), durante 15 minutos, o extrato foi centrifugado (3000 rpm/15 minutos) e o sobrenadante foi coletado. O extrato obtido foi utilizado para a determinação do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante.

#### 4.2.3.2. *Determinação do conteúdo de fenólicos totais*

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada seguindo metodologia proposta por Singleton; Rossi (1965), adaptada para microplaca. Ao extrato da amostra (20  $\mu$ L) foram adicionados 100  $\mu$ L do reagente de Folin-Ciocalteu (1 N) e 80  $\mu$ L de carbonato de sódio 7,5%. Após 2 horas de repouso a temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), a absorbância foi mensurada a 765 nm em leitora de microplacas (Eppendorf, modelo AF2200, Hamburgo, Alemanha). A curva de calibração foi construída utilizando ácido gálico nas concentrações de 30 a 170  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em mg equivalente em ácido gálico por 100 g de amostra em base seca.

#### 4.2.3.3. *Determinação das antocianinas monoméricas totais*

As antocianinas monoméricas totais foram determinadas através da metodologia de pH diferencial, proposta por Giusti; Wrolstad (2001). O extrato da amostra foi diluído diretamente em tampão cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) e em tampão acetado de sódio 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida a 515 nm e 700 nm após 15 minutos de reação, em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro, SP-220, Brasil). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi calculado utilizando o peso molecular (493,5) e o coeficiente de extinção molar da malvidina-3-glicosídeo (29.500). Os resultados obtidos foram expressos em mg equivalentes de malvidina-3-glicosídeo em 100 g de amostra em base seca.

#### 4.2.3.4. *Determinação da atividade antioxidante*

A capacidade de remoção do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>) foi avaliada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999), adaptada para microplaca. Em microplaca, foram pipetados 270  $\mu$ L da solução de ABTS e a leitura foi realizada a 750 nm em leitora de microplacas (Eppendorf, modelo AF2200, Hamburgo, Alemanha). Logo após, foram adicionados 30  $\mu$ L do extrato da amostra e monitorou-se a

absorbância a 750 nm por 15 min. A curva padrão foi construída utilizando Trolox nas concentrações de 20 a 120  $\mu\text{M}$ . Os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox em 100 g de amostra em base seca.

O poder antioxidante de redução do ferro (FRAP), foi determinado conforme descrito por Benzie; Strain (1996), adaptada para microplaca. Uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  do extrato da amostra, previamente diluída, foi adicionada ao reagente FRAP (180  $\mu\text{L}$ ) e incubou-se a 37 °C por 30 minutos. Subsequentemente, a absorbância foi mensurada a 593 nm, em leitora de microplacas (Eppendorf, modelo AF2200, Hamburgo, Alemanha). A curva padrão foi construída utilizando Trolox nas concentrações de 25 a 250  $\mu\text{M}$  e os resultados foram expressos como mmol equivalentes de Trolox por 100 g de amostra em base seca.

A capacidade de absorção do radical oxigênio foi estimada pelo método de Ou; Hampsch-Woodill; Prior (2001). Solução de fluoresceína 81 nM (150  $\mu\text{L}$ ) foi adicionada ao extrato da amostra (25  $\mu\text{L}$ ) e incubou-se a 37 °C por 10 minutos. Sucessivamente, solução de AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)] 152 nM (25  $\mu\text{L}$ ) foi acrescida e a redução da fluorescência foi medida durante 90 min em 485 nm (excitação) e 528 nm (emissão) em leitora de microplacas (Eppendorf, modelo AF2200, Hamburgo, Alemanha). Soluções padrões de Trolox, nas concentrações de 96 a 8  $\mu\text{M}$ , foram utilizadas para a construção da curva de calibração e os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox em 100 g de amostra em base seca.

### 4.3. MICRO-ONDAS DE HIDRODIFUSÃO E GRAVIDADE

#### 4.3.1. Testes Preliminares

A fim de determinar as condições ótimas de extração, o ensaio foi realizado utilizando diferentes potências do micro-ondas. Para determinar o estudo cinético de extração, o volume de extrato (mL) obtido nas diferentes potências (200, 300, 400 e 500 W) foi plotado em função do tempo (minutos), logo foi definida a melhor condição de extração, considerando-se o tempo requerido e o volume obtido.

#### 4.3.2. Obtenção do extrato

O processo de extração por MHG, foi realizado em um equipamento de micro-ondas NEOS-GR multimodo (Milestone, Bergamo, Itália) operando a 2450 MHz e uma potência

máxima de  $900 \pm 10$  W. O procedimento MHG foi realizado à pressão atmosférica em um vaso de extração Pyrex de 1,5 L com 200 g de amostra congelada ( $-18 \pm 0,1$  °C). A amostra foi umidificada antes da extração (40 mL de água destilada por 5 minutos), permitindo a absorção completa do líquido. O ensaio foi realizado a uma potência fixa de  $2 \text{ W g}^{-1}$ , estabelecida através de testes preliminares. Durante a extração a temperatura foi monitorada por sensor de infravermelho interno do equipamento. Os compostos liberados da amostra foram drenados por gravidade através de um condensador externo à cavidade de micro-ondas e coletados em um balão acoplado ao sistema (Figura 5). A partir das análises preliminares, verificou-se que ao submeter as amostras ao MHG, estas produziram duas frações: a primeira colorida e a segunda incolor. Conforme proposto por Ravi et al. (2018), coletou-se somente a primeira fração e o rendimento foi mensurado ao final de cada extração. Todas as extrações foram realizadas em triplicata e os valores médios foram relatados. Os extratos obtidos foram congelados, liofilizados e reconstituídos em etanol/água (80: 20, v/v) antes de todas as análises.

A amostra, remanescente no frasco após o processo de extração, foi denominada de coproduto (CP), este material foi coletado, liofilizado e armazenado a  $-18 \pm 0,1$  °C para posteriormente ser analisado.

### **4.3.3. Caracterização do extrato**

#### *4.3.3.1. Determinação do conteúdo de fenólicos totais*

Para a extração dos polifenóis provenientes do extrato bioativo do bagaço de uva, obtido na extração em MHG, foi utilizada metodologia proposta por Melo et al. (2011). Inicialmente, pesou-se 1 g de amostra liofilizada e adicionou-se 10 mL de solvente etanol/água (80: 20, v/v). A extração foi conduzida em ultrassom, à temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), durante 15 minutos. Após isso, o extrato foi centrifugado a 3000 rpm/15 minutos e o sobrenadante utilizado para as análises.

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi determinada como descrito em 4.2.3.2.

#### 4.3.3.2. *Identificação e quantificação dos polifenóis por cromatografia líquida de alta eficiência*

A identificação e a quantificação dos polifenóis foram realizadas de acordo com o método descrito por Melo et al. (2015). As amostras foram submetidas ao processo de extração com solução metanol/água (80: 20, v/v) e filtradas em filtro PTFE (politetrafluoroetileno) de 0,22 µm antes de serem analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Ácidos fenólicos, flavanóis e flavonóis foram quantificados em um sistema de CLAE (Shimadzu Co., Kyoto, Japão) equipado com bombas quaternárias LC-6AD, injetor automático SIL-10AF, desgaseificador DGU-2A, módulo de comunicação SCL-10AVP e forno de coluna CTO-10ASVP. O sistema foi acoplado a uma coluna de fase reversa Agilent C18 ODS-A (4,6 mm x 250 mm; 5 µm) acoplada a um detector de arranjo de diodos (SPD-M10AVp, Shimadzu Co., Kyoto, Japão). Alíquotas do extrato (20 µL) foram injetadas em fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> a 28 °C. A fase móvel consistiu de: Fase A (água/ácido fórmico, 99,9: 0,1, v/v) e fase B (acetonitrila/ácido fórmico, 99,9: 0,1, v/v). Iniciando com 5% de B e aumentando para 7% de B (7 min), 20% de B (50 min), 45% de B (70 min), 100% de B (85 min), mantendo 100% de B (10 min) e diminuindo para 5% de B (100 min). Os compostos foram identificados pelo espectro de absorção na região ultravioleta, utilizando os recursos do detector de arranjo de fotodiodos (DAD), pela comparação do tempo de retenção e cocromatografia de padrões. Neste trabalho foram utilizados os seguintes padrões autênticos de ácidos fenólicos e flavonoide: ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido *trans*-cinâmico, ácido *p*-cumárico, ácido sirínico, ácido vanílico, (-)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epicatequina galato, crisina, luteolina, mirecetina, polidatina, quercetina, quercetina-3-β-D-glucosídeo, rutina, hesperidina, hesperitina, procianidina B1, procianidina B2, resveratrol e vitexina.

#### 4.3.3.3. *Antocianinas monoméricas totais*

A extração das antocianinas monoméricas totais dos extratos bioativos do bagaço de uva, provenientes do procedimento MHG, seguiu a metodologia proposta por Melo et al. (2011), descrita no item 4.3.3.1.

As antocianinas monoméricas totais foram determinadas através da metodologia de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) nos extratos proveniente do processo MHG. Previamente, o extrato das amostras foi diluído diretamente em tampão cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) e em tampão acetado de sódio 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida a 515

nm e 700 nm após 15 minutos de reação, em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro, SP-220, Brasil). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi calculado utilizando o peso molecular (493,5) e o coeficiente de extinção molar da malvidina-3-glicosídeo (29.500). Os resultados obtidos foram expressos em mg equivalentes de malvidina-3-glicosídeo em 100 g de extrato liofilizado.

#### 4.3.3.4. *Atividade antioxidante*

Para obtenção do extrato, prosseguiu-se a extração como descrito em 4.3.3.1.

A atividade antioxidante foi avaliada através da capacidade de remoção do radical ABTS<sup>•+</sup>, poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) e capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) como descrito em 4.2.3.4.

#### 4.3.4. **Caracterização do coproduto**

O resíduo remanescente, bagaço de uva, proveniente do processo MHG, foi coletado após a extração e congelado a  $-18 \pm 0,1$  °C. Posteriormente, o material foi liofilizado, moído e armazenado a  $-18 \pm 0,1$  °C, até o momento de realização das análises.

##### 4.3.4.1. *Composição centesimal e conteúdo de minerais*

As amostras previamente moídas e padronizadas quanto ao tamanho de partícula (< 1 mm), foram avaliadas quanto à composição centesimal e de minerais, como descrito em 4.2.1.

##### 4.3.4.2. *Cor*

O bagaço de uva e o coproduto foram avaliados quanto à cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) através de colorímetro CM-700d (Konica Minolta, Osaka, Japão), utilizando iluminante D65 e ângulo de 10°. A partir deste, foram obtidos os parâmetros de luminosidade  $L^*$  [0 (preto) a 100 (branco)],  $a^*$  [cromaticidade do verde (-60) a vermelho (+60)] e  $b^*$  [cromaticidade do azul (-60) a amarelo (+60)]. As leituras foram realizadas em diferentes pontos da amostra, previamente moída e padronizada quanto ao tamanho de partícula (< 1 mm) como recomendado por Selani et al.(2014), totalizando 6 medições por amostra.

#### 4.3.4.3. *Composição físico-química*

A composição físico-química dos coprodutos prosseguiu-se como descrito em 4.2.2.

#### 4.3.4.4. *Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante*

Para obtenção do extrato, prosseguiu-se a extração como descrito em 4.2.3.1.

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada seguindo a metodologia proposta por Singleton; Rossi (1965), como descrito em 4.2.3.2.

As antocianinas monoméricas totais foram determinadas através da metodologia de pH diferencial proposta por Giusti; Wrolstad (2001), como descrito em 4.2.3.3.

A atividade antioxidante foi avaliada através das técnicas ABTS<sup>•+</sup>, FRAP e ORAC, conforme descrito em 4.2.3.4.

#### 4.3.4.5. *Atividade de água*

A atividade de água foi mensurada a  $20 \pm 0,1$  °C em equipamento 4TEV Aqualab® (Meter group Inc., Estados Unidos), previamente calibrado.

### 4.4. MICROENCAPSULAÇÃO

#### 4.4.1. **Produção das microcápsulas em secagem por pulverização**

As microcápsulas foram produzidas em *spray drying* de laboratório (MSD 1.0 Labmaq, São Paulo, Brasil), com bico de alimentação de 1,2 mm com vazão de  $0,4 \text{ L h}^{-1}$  (Figura 5).

As soluções de alimentação foram preparadas juntamente com o extrato do bagaço de uva obtido no processo MHG que apresentou os melhores resultados de teor polifenólico e atividade antioxidante. As soluções variaram de acordo com a concentração de Maltodextrina MOR-REX®1920, Goma Arábica, Hi-maize® 260 (22000B00) e Inulina, compondo os seguintes tratamentos: Tratamento padrão (S), 10% de maltodextrina DE20 e 10% de goma arábica; Tratamento 1 (T<sub>1</sub>), 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de hi-maize; Tratamento 2 (T<sub>2</sub>), 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de inulina;



Tratamento 3 (T<sub>3</sub>), 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica, 2,5% de hi-maize e 2,5% de inulina (Tabela 1). A temperatura do ar de secagem empregada foi de 140 °C.

Tabela 1 - Composição do tratamento padrão (S) e dos tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> aplicados ao extrato do bagaço de uva obtido por Micro-ondas de Hidrodifusão e Gravidade.

Agente carreador (%)	Tratamentos			
	S	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Maltodextrina DE20	10	7,5	7,5	7,5
Goma arábica	10	7,5	7,5	7,5
Hi-maize	-	5	-	2,5
Inulina	-	-	5	2,5
Total	20%	20%	20%	20%

As microcápsulas foram armazenadas em tubos Falcon sob congelamento ( $-18 \pm 0,1$  °C) protegidas da luz até o momento das análises.

#### 4.4.2. Caracterização das microcápsulas

##### 4.4.2.1. *Determinação do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante*

As microcápsulas foram dissolvidas pelo método proposto por Tolun; Altintas; Artik (2016), com modificações. À amostra (250 mg) foi adicionada em solução metanol/ácido acético/água (50: 8: 42, v/v/v) (5 mL). Após agitação (2 minutos) e centrifugação (3500 rpm/15 minutos/15 °C), o sobrenadante foi coletado. O extrato obtido foi utilizado para a determinação do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante.

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada seguindo a metodologia proposta por Singleton; Rossi (1965) adaptada para microplaca. Ao extrato da amostra (20 µL) foram adicionados 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu 1N e 80 µL de carbonato de sódio 7,5%. Após 2 horas de repouso a temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), a absorbância foi mensurada a 765 nm em leitora de microplacas. O resultado foi expresso em mg equivalentes em ácido gálico por 100 g de amostra em base seca.

As antocianinas monoméricas totais foram determinadas através da metodologia de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Previamente, o extrato da amostra foi diluído diretamente em tampão cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) e em tampão acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). A absorvância foi medida a 515 nm e 700 nm após 15 minutos de reação, em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro, SP-220, Brasil). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi calculado utilizando o peso molecular (493,5) e o coeficiente de extinção da malvidina-3-glicosídeo (29.500). Os resultados obtidos foram expressos em mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo em 100 g de amostra seca.

A atividade antioxidante foi avaliada através da capacidade de absorção do radical oxigênio proposto por Ou; Hampsch-Woodill; Prior (2001). Solução de fluoresceína 81 nM (150 µL) foi adicionada ao extrato da amostra (25 µL) e incubou-se a 37 °C por 10 minutos. Subsequentemente, solução de AAPH [(dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano))] 152 nM (25 µL) foi acrescida e a redução da fluoresceína foi medida durante 90 minutos em 485 nm (excitação) e 528 nm (emissão) em leitora de microplacas. Soluções de Trolox foram utilizadas para construção da curva de calibração e os resultados foram expressos em mmol de equivalentes de Trolox em 100 g de amostra seca.

#### 4.4.2.2. *Tamanho médio das microcápsulas*

O tamanho médio (d 0,5) das microcápsulas secas no processo de secagem por pulverização foi avaliada em equipamento Mastersizer 2000 (Malvem, Alemanha), unidade de amostragem Hydro 2000S (Malvem, Alemanha).

#### 4.4.2.3. *Microscopia eletrônica de varredura (MEVs)*

A morfologia das microcápsulas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura Jeol, modelo JSM 6510LV. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro e as imagens foram obtidas no modo de detecção de elétrons secundários com 10kV de energia no filamento, com ampliações de 2000X.

#### 4.4.2.4. *Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)*

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um equipamento Perkin Elmer Spectrum Two (Waltham, EUA), com acessório de reflectância universal atenuada (UATR). O

espectro foi coletado com 4 repetições entre 4000 e 450  $\text{cm}^{-1}$  e com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Para esta análise não há preparação, pois, a amostra é depositada diretamente sobre o cristal de UATR.

#### 4.4.2.5. *Eficiência e rendimento de encapsulação*

A eficiência de encapsulação ( $E_f$ ) foi determinada de acordo com Yinbin et al. (2018). A eficiência de microencapsulação é definida pela Eq. (1) como a razão entre os fenólicos microencapsulados e de superfície no produto seco por pulverização. O método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton; Rossi (1965), conforme descrito na Seção 4.4.2.1, foi usado para determinar o conteúdo fenólico total do extrato microencapsulado. Para realizar a avaliação, as microcápsulas foram rompidas de acordo com o método proposto por Tolun; Altintas; Artik (2016), descrito na Seção 4.4.2.1. A determinação do conteúdo fenólico de superfície seguiu o método proposto por Robert et al. (2010), com modificações. À amostra (0,2 g) foi adicionada solução etanol/metanol (1: 1, v/v) (2 mL). Após agitação (2 minutos) a amostra foi centrifugada (Eppendorf 5810R, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemanha) a 3500 rpm, durante 15 minutos a 15 °C e o sobrenadante foi coletado.

O rendimento da encapsulação ( $Y$ ) foi calculado dividindo o peso da massa sólida das microcápsulas com a quantidade total de massa sólida a ser seca por pulverização (Eq. 2).

$$\text{Eficiência (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Fenólicos na superfície da microcápsula}}{\text{Fenólicos totais da microcápsula}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa de microcápsula (g)}}{\text{Massa inicial das substâncias (g)}} \times 100 \quad (2)$$

#### 4.4.2.6. *Teor de umidade e atividade de água*

O teor de umidade foi determinado através da secagem em estufa a 105 °C, até atingir peso constante conforme AOAC (1995). O teor de umidade foi calculado como a perda de peso após a secagem da amostra até que o peso constante fosse obtido, conforme demonstrado na Eq. (3). A determinação da atividade de água foi mensurada em aparelho Aqualab®, modelo 4TEV (Decagon Devices, Pullman WA, EUA), a temperatura de  $20 \pm 0,1$  °C.

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{\text{Peso da amostra úmida (g)} - \text{Peso da amostra seca (g)}}{\text{Peso da amostra úmida (g)}} \times 100 \quad (3)$$

#### 4.4.2.7. *Tempo de dissolução*

A determinação do tempo de dissolução das microcápsulas bioativas foi estabelecida conforme o método proposto por El-Tinay; Ismail (1985) com modificações. À amostra (1 g) foram adicionados água destilada (25 mL). Após foram solubilizadas com barra de agitação magnética (2mm x 7 mm/892 rpm). O tempo foi determinado através da dissolução completa (clareza da solução) da amostra.

#### 4.4.2.8. *Solubilidade*

A solubilidade foi avaliada pelo método descrito por Cano-Chauca et al. (2005), modificado por Oliveira et al. (2013). À amostra (0,2 g) foram adicionados água destilada (20 mL). Após foram submetidos a agitação magnética (1000 rpm/5 minutos), seguida por centrifugação (3500 rpm/5 minutos). Posteriormente, uma alíquota (5 mL) do sobrenadante foi levada à estufa a 105 °C, até peso constante, e a solubilidade foi calculada pela diferença de peso, Eq. (4).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Massa de pó no sobrenadante}}{\text{Massa de pó total}} \times 100 \quad (4)$$

#### 4.4.2.9. *Higroscopicidade*

A higroscopicidade das microcápsulas bioativas foi mensurada pelo método proposto por Cai; Corke (2000), com modificações propostas por Subtil et al. (2014). A amostra (2 g) foi adicionada em placa de Petri e mantida a 25 °C em um recipiente vedado contendo solução saturada de sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Após 7 dias, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade expressa em g de água absorvida por 100 g de amostra seca, Eq. (5).

$$\text{Higroscopicidade (\%)} = \frac{\text{Umidade absorvida (g)}}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100 \quad (5)$$

#### 4.4.2.10. *Cor*

As microcápsulas bioativas foram colocadas em uma célula de vidro contra a fonte de luz e avaliadas quanto à cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) através do colorímetro CM-700d (Konica Minolta, Osaka, Japão), utilizando iluminante D65 e ângulo de  $10^\circ$ . A partir deste, foram obtidos os parâmetros de luminosidade  $L^*$  [0 (preto) a 100 (branco)],  $a^*$  [cromaticidade do verde (-60) a vermelho (+60)] e  $b^*$  [cromaticidade do azul (-60) a amarelo (+60)]. Ângulo de matiz ( $H^\circ = \tan^{-1} b^*/a^*$ ) foi calculado, o que indica a cor da amostra ( $0^\circ$  ou  $360^\circ =$  vermelho,  $90^\circ =$  amarelo,  $180^\circ =$  verde e  $270^\circ =$  azul), enquanto cromia ( $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$ ) indica a pureza ou saturação da cor. Três leituras foram realizadas em 5 pontos distintos da amostra, totalizando 15 medições por amostra.

#### 4.4.2.11. *Análise termogravimétrica (TGA)*

As curvas TGA foram obtidas em equipamento Shimadzu, modelo TGA 51H, na seguinte condição: temperatura ambiente até  $600^\circ\text{C}$  com taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  em atmosfera de nitrogênio com fluxo de  $50\text{ mL min}^{-1}$ .

#### 4.4.2.12. *Teste de estabilidade frente ao armazenamento*

##### 4.4.2.12.1. Estabilidade de compostos antociânicos

As microcápsulas obtidas, foram adicionadas em frascos âmbar de 15 mL e armazenadas em diferentes condições de temperatura. As análises de tempo zero foram concluídas dentro de 1 dia após a secagem. Para a análises de estabilidade de armazenamento, as amostras (5 g) foram mantidas nas seguintes condições de temperatura: temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4^\circ\text{C}$ ), de refrigeração ( $3 \pm 4^\circ\text{C}$ ) e de congelamento ( $-18 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ). As amostras foram armazenadas nessas condições durante 120 dias e analisadas a cada 15 dias para determinar o efeito da temperatura e do tempo na estabilidade dos compostos antociânicos por meio de medição da concentração de antocianinas monoméricas totais. Os resultados obtidos foram calculados e expressos seguindo a Eq. 6.

$$\ln (C_t/C_0) \tag{6}$$

Onde  $\ln$  é o logaritmo natural,  $C_t$  é a concentração de antocianinas no tempo  $t$ , e  $C_0$  é a concentração inicial de antocianinas (extrato puro/livre).

A constante de degradação ( $k$ ) e os tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) foram calculados conforme descrito em Tolun; Artik; Altintas (2020), como modificações, de acordo com as Eq. 7 e 8.

$$\ln (C_t/C_i) = -kt \quad (7)$$

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad (8)$$

Onde  $\ln$  é o logaritmo natural,  $C_i$  é a concentração inicial de antocianinas (dia 1),  $k$  é a constante de degradação cinética,  $t$  é o tempo em dias e  $t_{1/2}$  é o tempo de meia-vida em dias.

A perda total de antocianinas no período de armazenamento foi determinada pela relação entre os compostos antociânicos no último dia de armazenamento ( $C_{120}$ ) e a concentração inicial ( $C_0$ ) de acordo com a Eq. 9.

$$\text{Perda total (\%)} = \left(1 - \frac{C_{120}}{C_0}\right) \times 100 \quad (9)$$

As antocianinas monoméricas totais foram avaliadas de acordo com a metodologia de pH diferencial, descrita por Giusti; Wrolstad (2001). O método é baseado nas alterações estruturais sofridas pela antocianina na faixa de pH entre 1 e 4,5 e podem ser observadas por espectroscopia óptica. Os extratos foram diluídos em tampão de cloreto de potássio (KCl) 0,025 M (pH 1) e tampão acetato de sódio ( $C_2H_3NaO_2$ ) 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida a 518 e 700 nm após 15 minutos de reação em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro, SP-220, Brasil). Em seguida, o conteúdo total de antocianinas monoméricas foi calculado usando o peso molecular (493,5) e o coeficiente de extinção molar da malvidina-3-glicosídeo (29.500). Os resultados foram expressos como mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo por g de amostra em peso seco.

#### 4.4.2.13. Avaliação em condições gastrointestinais simuladas

O método proposto por Madureira et al. (2011), adaptado por Rosa et al. (2019), foi utilizado para avaliar as microcápsulas bioativas a condições gastrointestinais simuladas. A

viabilidade de antocianinas monoméricas totais foi determinada em meios que simulam as diferentes seções do trato gastrointestinal, sendo eles, esôfago/estômago, duodeno e íleo. Pesou-se uma quantidade de 1 g de microcápsula e adicionou-se 9 ml de água destilada, para o extrato puro/livre a mesma diluição foi mantida. A viabilidade das antocianinas foi determinada continuamente em meio simulando as diferentes seções do trato gastrointestinal; no final de cada estágio, alíquotas de 1,5 mL foram removidas para análise posterior.

Na etapa esôfago/estômago foi utilizado  $20 \text{ mg mL}^{-1}$  de pepsina, preparada em ácido clorídrico (HCl) 0,1 N, esta solução foi adicionada, em alíquotas iguais ( $0,05 \text{ mL mL}^{-1}$ ), durante toda a fase gástrica (90 minutos), sendo pH ajustado até 2 utilizando HCl 1 M. Na etapa referente ao duodeno foi utilizada, uma concentração ( $0,25 \text{ mL mL}^{-1}$ ), uma solução ( $2 \text{ g L}^{-1}$ ) de pancreatina e sais biliares bovinos ( $12 \text{ g L}^{-1}$ ), preparada em bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) 0,1 M, sendo o pH ajustado para 5 por 20 min. Finalmente, a etapa referente ao íleo foi realizada por um aumento do pH para 7,5 utilizando uma solução de  $\text{NaHCO}_3$  0,1 M, por 90 min. Todas as soluções foram preparadas no momento da utilização. A análise foi conduzida em incubadora refrigerada tipo Shaker TE-421 (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) mantida a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  com o intuito de simular a temperatura do corpo humano e a agitação mecânica utilizada em paralelo para simular os movimentos peristálticos intestinais, com intensidades semelhantes às alcançadas em seção do trato digestivo. Ao final de cada etapa, foram retiradas alíquotas para a determinar as antocianinas monoméricas totais, o método do pH diferencial foi seguido (GIUSTI; WROLSTAD, 2001), conforme descrito no item 4.4.2.1.





## 5. DESENVOLVIMENTO

### 5.1. ARTIGO 1 – Green extraction methods and microencapsulation technologies of phenolic compounds from grape pomace: A review

Moro, K.I.B., Bender, A.B.B., da Silva, L.P., Penna, N.G. Green Extraction Methods and Microencapsulation Technologies of Phenolic Compounds From Grape Pomace: A Review. Food and Bioprocess Technology 14, 1407–1431 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02665-4>

Esta é uma versão pós-revisão por pares e pré-edição de um artigo publicado na Food and Bioprocess Technology. A versão final autenticada está disponível online em: <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02665-4>.

Reproduzido com permissão da Springer Nature.





# Green Extraction Methods and Microencapsulation Technologies of Phenolic Compounds From Grape Pomace: A Review

Karine Inês Bolson Moro<sup>1</sup> · Ana Betine Beutinger Bender<sup>1</sup> · Leila Picolli da Silva<sup>2</sup> · Neidi Garcia Penna<sup>1</sup>

Received: 23 February 2021 / Accepted: 11 May 2021 / Published online: 27 May 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

## Abstract

**Background** Grape pomace, the main winemaking by-product of the wine chain generated after the pressing of grapes in the production of white wine and/or after the fermentation stage in red winemaking. Grape pomace is rich in phenolic compounds, which possess several physiological effects, directly linked to their pharmacological, technological, antioxidant and antimicrobial properties. Here we address the most relevant techniques to extract and conserve phenolic compounds and reuse grape pomace.

**Scope and approach** Specifically, in this review we discuss the importance of the extractive technologies applied to grape pomace that make up the principles of green chemistry such as supercritical fluid extraction (SFE), microwave-assisted extraction (MAE), microwave hydrodiffusion and gravity (MHG), ultrasound-assisted extraction (UAE), pulsed electric field (PEF), and ohmic heating (OH) for food industry as they are environmental-friendly processes more ecologic, economic and innovative. These techniques show benefits like reduction at the extraction time, number of unit operations, energy consumption, environmental impacts, economical costs, quantity of solvent and waste production, aiming to guarantee safe and quality extracts and/or products. Summed to the green extraction methods the microencapsulation technologies spray drying, spray cooling, lyophilization, extrusion, and coacervation can be applied to the obtained extracts to improve their shelf life, giving a wider and more sustainable use of them.

**Key findings and conclusions** Therefore, here we address the importance of reusing and valuing grape pomace, as well as describing extractive technologies that make up the principles of green chemistry and show a wide range of alternatives for preserving these compounds, sensitive to heat, light and oxygen through microencapsulation techniques.

**Keywords** Agro-industrial residue · Winemaking by-product · Bioactive compounds · Polyphenols · Sustainability · Compound preservation

## Introduction

In the last decades, the academic community has sought to spread the importance of reusing agro-industrial by-products from the wine chain, making bio-products, biofuels, or food ingredients with high added value (Bender et al., 2020; Mäkelä et al., 2017; Muhlack et al., 2018; Pedras et al., 2017; Peixoto et al., 2018; Silva et al., 2018). In addition, research has been done combining waste recovery processes with sustainable techniques, applying the principles of green chemistry (Al Bittar et al., 2013; Caldas et al., 2018; Casazza et al., 2010; Goula et al., 2016).

The grape (*Vitis* sp.) is one of the most cultivated fruits in the world, with production exceeding 75 million tons per year (OIV, 2020). It is a product rich in carbohydrates, organic acids, vitamins, minerals, and polyphenols (Bender et al., 2020; Pintacá et al., 2018). Approximately 80% of the world grape production is destined for the manufacture of

✉ Karine Inês Bolson Moro  
karini\_moro@hotmail.com

Ana Betine Beutinger Bender  
betinebender@hotmail.com

Leila Picolli da Silva  
leilapicolliidasilva@gmail.com

Neidi Garcia Penna  
ngpenna@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Food Technology and Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

wines and derivatives and, consequently, large amounts of grape pomace are generated (Beres et al., 2017; Gruz et al., 2013).

Grape pomace is the main solid organic winemaking by-product and represents 20 to 30% of the total volume of vinified grapes, and it consists mostly of peels, seeds, and pulp residues (Bender et al., 2020; Brenes et al., 2016; Silva et al., 2018). Due to high levels of fibers and phenolic compounds (anthocyanins, flavonols, flavanols, resveratrol and phenolic acids), coming from secondary plant metabolites (Barcia et al., 2014), and which have antioxidant and radical scavenging properties, with potential health benefits (Caldas et al., 2018; Garrido et al., 2019), the reuse of grape pomace allows combining environmental, economic and social gains. The interest in using this by-product is related to its pharmacological, technological, antioxidant, and antimicrobial properties (Aguiar et al., 2016; Caldas et al., 2018; Melo et al., 2015).

In the search for products with natural properties, efforts have been made to scale, structure, and disseminate technological solutions, to replace or reduce the excessive use of organic solvents, energy, and time (Zill-e-Huma et al., 2011). The Green Chemistry aims to use innovative techniques that are less harmful to the environment (Boukroufa et al., 2015; Wijngaard et al., 2012). In this way, faster and more automated methods have been used, for example, supercritical fluid extraction (SFE), microwave-assisted extraction (MAE), ultrasound-assisted extraction (UAE), and pulsed electric field (PEF). According to Barba et al. (2016), the concentration of phenolic compounds in the extract is dependent on the food matrix and the technology applied in the extraction. These new methods have advantages compared to conventional methods, as they require shorter extraction periods and consume less solvent, as they work at high temperatures and/or pressures in inert atmospheres (Søltøft et al., 2009; Zill-e-Huma et al., 2011). Therefore, green extraction based on the design of processes that reduce energy consumption allows the use of alternative, renewable solvents and that guarantees safe and quality products (Bubalo et al., 2016; Chemat et al., 2019).

Despite the benefits provided by extractions that follow the principles of green chemistry, polyphenols are easily oxidized and sensitive to heat and light, which limits their application in the food industry (Aguiar et al., 2016; Ozkan et al., 2019). In this context, microencapsulation is an alternative to overcome these challenges. This technique allows longer retention time of the nutrient in the food and its controlled and targeted release, preserves the stability of polyphenols during processing and storage, and prevents undesirable interactions with the food matrix. Therefore, microencapsulation delays degradation processes, masks flavors and/or unpleasant odors, increases bioavailability, and maintains the functionality of the bioactive component (Aguiar et al., 2017; Ballesteros et al., 2017). Several techniques have been studied aiming to

the microencapsulation of the phenolic compounds of grape pomace, such as the physical encapsulation methods (spray drying, spray cooling, lyophilization, and extrusion).

The treatment and destination of grape pomace represents an economic and environmental challenge for the wine industry; however, through extraction and preservation techniques of its compounds, it can become a nutritional and economic source with great interest for the food industry. Thus, this work aims to address the methods of green extraction and the techniques of microencapsulation of phenolic compounds as possibilities for using in the reuse of grape pomace. Therefore, studies investigating extraction technologies that follow the principles of green chemistry and microencapsulation processes for the preservation of phenolic compounds are reported.

## Grape Pomace: The Most Expressive Winemaking By-product

The grape *Vitis vinifera* L. is one of the most cultivated fruit crops in the world, with great representation in Europe, Asia, and America (Pedras et al., 2017; Silva et al., 2018). It is used mostly for wine production, and the processing generates 20 to 30% of the grape weight in by-product, the grape pomace (Bender et al., 2020; Beres et al., 2017; Mäkelä et al., 2017; Muhlack et al., 2018; Pedras et al., 2017; Silva et al., 2018).

Grape pomace is mainly composed of peels, seeds, and pulp residues and is the main solid by-product of the wine chain generated after the pressing of grapes in the production of white wine and/or after the fermentation stage in red wine-making (Barcia et al., 2014; Bender et al., 2020). The crushing and pressing stages of the grapes do not cause changes in the chemical composition, which occur during fermentation in the preparation of red wines (Beres et al., 2017). Moreover, fermentation does not alter the content of bioactive compounds in grape pomace, as these are maintained in both the red and white vinification processes (Denny et al., 2014).

Regarding the monosaccharide composition, grape pomace has 30% neutral polysaccharides (cellulose, xyloglucan, arabinan, galactan, xylan, and mannan), 20% of acidic pectic substances, 15% of insoluble proanthocyanidins, lignin, proteins, and structural phenols, these linked to the structure of carbohydrate-lignin and essential fatty acids from grape seeds (Chamorro et al., 2012; Chemat et al., 2019). Thus, grape pomace is an excellent source to be used in different processes and with potential benefits to human health as natural antioxidants and food supplements (Chamorro et al., 2012; Garrido et al., 2019; Martins et al., 2016).

The treatment and disposal of this by-product of the wine chain represents an economic and environmental challenge (Mäkelä et al., 2017). It is estimated that only 3% of this waste is recovered (Brenes et al., 2016; Garrido et al., 2019). Therefore, the reuse of the main winemaking by-product can contribute to the sustainability of the wine chain (Rondeau et al., 2013).

## Main Phenolic Compounds in Grape Pomace

Phenolic compounds comprise a group of secondary plant metabolites (Muhlack et al., 2018) with great structural diversity, having an aromatic ring, with one or more hydroxyl substituents associated with the ring structure and vary from a single phenol to highly polymerized compounds (Zhu et al., 2012). Polymeric polyphenols (proanthocyanidins) present in grape peels and seeds are often described as tannins (or condensed tannins) while monomeric flavonoids, present in red grape peels, are known as anthocyanins (Muhlack et al., 2018).

The phenolic compounds present in grapes can be classified into phenolic acids (hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids), flavonoids (catechins, flavonols, and anthocyanins), and proanthocyanidins (Peixoto et al., 2018; Rebello et al., 2013; Singh et al., 2016). Around 70% of the content of phenolic compounds present in grapes remains in the grape pomace after processing (Dwyer et al., 2014; González-Centeno et al., 2010). With an emphasis on anthocyanins, catechins, flavonols, stilbenes, and phenolic acids, the most abundant of which are anthocyanins and flavonols concentrated in the peels and seeds, respectively (Makris et al., 2007; Teixeira et al., 2014). These compounds have several physiological effects such as antioxidant, anti-allergic, anti-inflammatory, antimicrobial, antithrombotic, anticarcinogenic and cardioprotective (Silva et al., 2018).

The chemical composition and antioxidant content of grape pomace is related to edaphoclimatic factors, the grape variety (white or red), the type of tissue used (peel or seed), the conditions of winemaking (contact or not with the peel during the fermentation process) and the health status of the grapes at the time of harvest (Brenes et al., 2016; Melo et al., 2015; Rondeau et al., 2013). The antioxidant and functional properties of grape pomace can provide protection against oxidative damage as they interact with free radicals to inhibit oxidation reactions (Ribeiro et al., 2019) and stimulate the neural system (Aguiar et al., 2016) and the intestinal metabolism (Bender et al., 2020).

Anthocyanins, which represent red vegetable pigments, are the main phenolic compounds found in grape pomace from red cultivars (Beres et al., 2017; Ignat et al., 2011; Souza et al., 2015). They are recognized as antioxidant substances (Rockenbach et al., 2011) and antimicrobials (Caldas et al., 2018), can eliminate reactive oxygen species and electrolytes, inhibit nitrosation, chelate metals, and modulate the activities of some enzymes (Souza et al., 2015). They are water-soluble compounds and susceptible to the action of pH, light, presence of oxygen, enzymes, ascorbic acid, sulfur dioxide or sulfite, metal ions, and co-pigments (Beres et al., 2017). Its instability makes it difficult to use in the food sector, becoming the object of studies due to its great antioxidant potential for the food industry, and for its health benefits (Souza et al., 2015). The main anthocyanins found in grape pomace are cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin, and malvidin 3-O-glycosides (Burin et al., 2011; Melo et al., 2015).

Phenolic acids are divided into hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids (Yu & Ahmedna, 2013). Hydroxycinnamic acids are more abundant in wine by-products, and the grape genotype influences the concentrations of phenolic compounds (Teixeira et al., 2014).

The flavan-3-ols (proanthocyanidins and catechins) are the most complex group of flavonoids and easily found in fruits and vegetables (Beres et al., 2017). These compounds act on quality parameters of wine products, such as astringency, bitterness, acidity, sweetness, viscosity, aroma, color formation, and structure (Teixeira et al., 2014). The flavan-3-ols condense into oligomeric procyanidins and polymeric compounds, known as condensed tannins. The wine by-products of red and white cultivars have different concentrations of flavan-3-ols, catechins, galocatechins, and proanthocyanidins and are often found in the peels, while the seeds contain catechins and procyanidins (Beres et al., 2017).

The stilbenes are phytoalexins, that is, compounds produced by plants in response to stress (Beres et al., 2017) and consisting of two aromatic rings connected by an ethylene bridge (Teixeira et al., 2014). They can be found in winemaking by-products (peels), but also in stems and seeds. Resveratrol is the most common stilbene found in grapes, wine, and winemaking by-product. The stilbene content varies between grape cultivars (white or red), with the highest prevalence occurring in red cultivars, due to biotic and abiotic factors and with the processing method.

Flavonols are the flavonoids generally present in seeds (56 to 65% of total flavonol), they can be colorless or yellow, and are represented by myricetin, quercetin and kaempferol (Fraga, 2009). Winemaking by-products from red cultivars have a higher concentration of flavonols compared to white cultivars (Teixeira et al., 2014). Flavonols are associated with co-pigmentation, providing color stability of anthocyanins in grapes and consequently in their by-products (Beres et al., 2017).

The content of phenolic compounds and antioxidant activity of grape pomace (pulp, peels, and seeds) have been extensively investigated in recent years. Considering the variety of phenolic compounds found in grapes, it is essential to adapt extraction methods to the food matrix (Medouni-Adrar et al., 2015). However, the recovery of phenolic compounds from grape pomace is still costly, time consuming, and environmentally aggressive. Thus, the green extraction methods applied to grape pomace are presented as an alternative for adding value and enable its use as a source of compounds for applications in the food industry.

## Green Extraction Methods of Phenolic Compounds From Grape Pomace

Green extraction is based on processes that reduce energy consumption, allow the use of alternative solvents and guarantee safe and quality extracts and/or products (Singla & Sit, 2021). Extraction is the most important step in the recovery, isolation, and identification of compounds

present in extracts, and the choice of solvent is crucial in green extraction processes. These must be 100% natural, nontoxic, biodegradable, suitable for installations, with low emissions of volatile organic compounds and that at the end of the process, allow their recovery (Chemat et al., 2019). As a result, the application of a solvent-free extraction process is of great interest. The advantages attributed to solvent-free conditions are evident such as increased purity of the extract and/or product, reduced costs and risks attributed to the solvents, greater safety due to the reduction of the risks of explosions, and facilitated expansion (Vian et al., 2014). In addition, these methods make it possible to reduce the extraction time from hours (h) to minutes (min) and obtain pure or inert extracts, with the physicochemical characteristics of the target molecules determining the use of different methodologies to be adopted (Fontana et al., 2013). Furthermore, the extraction efficiency depends on the distribution and nature of the compounds present in the matrix (Nayak et al., 2018).

New extraction methods have been proposed for phenolic compounds of by-products, in a reduced time and with greater recovery capacity (Caldas et al., 2018). The grape pomace has been used in extraction techniques, such as supercritical fluid extraction (Casas et al., 2010; Da Porto & Natolino, 2017; Da Porto et al., 2015), microwave assisted extraction (Brahim et al., 2014; Garrido et al., 2019; Medouni-Adrar et al., 2015), microwave hydrodiffusion and gravity (Al Bittar et al., 2013; Farias et al., 2021), ultrasound-assisted extraction (Caldas et al., 2018; Da Porto et al., 2013, 2015; Goula et al., 2016), pulsed electric field (Barba et al., 2015; Brianceau et al., 2015; Delsart et al., 2014), pulsed ohmic heating (El Darra et al., 2013a, b), high voltage electrical discharges (Barba et al., 2015; Boussetta et al., 2012), high pressure (Casazza et al., 2010, 2012), and accelerated solvent extraction (Rajha et al., 2014), in order to recover and identify the compounds present in this by-product (Table 1).

The use of unconventional technologies that meet the principles of green chemistry for the extraction of phenolic compounds from the winemaking by-products show promising results. The main advantages are reduced processing time and energy consumption and the nonuse of solvents harmful to health and the environment. Among the benefits of using green extraction technologies are the ability to selectively extract intracellular molecules without fragmenting the matrix, avoiding the need for subsequent steps such as purification. The choice of technique must consider the type of by-product and the compounds of interest. Clean techniques have been disseminated and widely studied by the academic community in order to make them safe, reproducible, applicable, and sustainable for the food industries. In addition, they allow the development of products with high added value that promote benefits to consumers.

## Supercritical Fluid Extraction

The supercritical fluid extraction (SFE) has attracted great scientific interest since its discovery and has been used in environmental, pharmaceutical, polymer, and food analysis applications (Azmir et al., 2013). In the industries of the food sector, this technique has several applications such as decaffeination of teas and coffee, production of food ingredients (hops, aromas, dyes, and extracts rich in vitamins), nutraceuticals, and in the removal of pesticides present in rice (Bubalo et al., 2018). In addition, bioactive compounds from agro-industrial residues and the extraction of oils from seeds, fruits, leaves, and flowers have also been applied in the extraction of organic solvent-free extracts, allowing its use in food and pharmaceutical products (Basegmez et al., 2017; Calinescu et al., 2017; Knez et al., 2014; Morsy, 2020; Tamkutė et al., 2020; Valadez-Carmona et al., 2018).

A supercritical fluid (SCF) is any substance subjected to temperature and pressure above critical values, where different liquid and gas phases do not exist (Ahangari et al., 2021). SFE uses SCFs, which above their critical point, exhibit properties similar to liquid (solvent power and negligible surface tension), and to gases (high diffusivity and low viscosity). These properties allow to extract compounds in a short time with high yields, being an excellent solvent for several applications (Bubalo et al., 2018; Knez et al., 2014).

Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) is considered an ideal solvent for SFE. Generally used due to be inert, non-toxic and allows extraction at low critical temperature (Da Porto & Natolino, 2017). In addition, CO<sub>2</sub> is a solvent Generally Recognized As Safe (GRAS) by the United States Food and Drug Administration (FDA-USA). Thus, products extracted with supercritical CO<sub>2</sub> are considered safe for human health (Bubalo et al., 2018). The critical temperature of CO<sub>2</sub> (31 °C) is close to the room temperature, and the low critical pressure (74 bar) offers the possibility to operate at moderate pressures, usually between 100 and 450 bar (Azmir et al., 2013). On the other hand, the nonpolar character of supercritical CO<sub>2</sub> reduced the capacity to dissolve polar compounds such as polyphenols present in grape pomace. To overcome this limitation, polar modifiers such as ethanol, methanol, acetone, or water are added, which act as co-solvent in order to increase the extraction yield of the phenolic compounds (Fariás-Campomanes et al., 2013; Gallego et al., 2019). The sample properties, the target compounds, and the experimental result are the main basis for the selection of the best modifier (Azmir et al., 2013). In addition, the extracts obtained by the SFE are not exposed to light and air, thus minimizing degradation reactions and increasing the quality of the extracts (Barba et al., 2016; Da Porto et al., 2015). More details about the operational principle of the SFE were reviewed by Ahangari et al. (2021).

**Table 1** Main results on the application of technologies that combine the principles of green chemistry with the aim of improving the extraction processes of phenolic compounds from the main residues and by-products of the wine chain

Vegetable matrix/cultivar	Extracted compounds	Ideal treatment conditions	Main conclusions	References
Supercritical fluid extraction (SFE) GP/cv. Palomino fino	Resveratrol	400 bar, 35 °C, 5% ethanol co-solvent	Optimum recovery of resveratrol, present in the grape peels (49.1 mg of resveratrol/100 g DW). Co-solvent increased the extraction yield	(Casas et al., 2010)
GP/cv. Merlot e Syrah	Polyphenols	Supercritical extraction with carbon dioxide (SC-CO <sub>2</sub> ); Merlot: 150 to 300 bar, 50 °C and 60 °C Syrah: 250 bar, 60 °C, condition applied to Merlot cultivar with addition of co-solvent (ethanol) in concentrations of 12.5%, 15% and 17.5%	Co-solvent improved epicatechin extraction, 2008 ± 3 GAE µg/g extract was determined for SFE at 250 bar and 60 °C with 17.5% ethanol. The extracts were effective against Gram-positive bacteria ( <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Bacillus cereus</i> ) compared to Gram-negative bacteria ( <i>E. coli</i> and <i>P. aeruginosa</i> ). SC-CO <sub>2</sub> at 250 bar and 60 °C was the only extract effective against all tested bacteria (Gram-positive and Gram-negative)	(Oliveira et al., 2013)
GP/Red variety	Polyphenols	UAE e SC-CO <sub>2</sub> combined process -UAE: 4 and 10 min, 20 and 80 °C -SC-CO <sub>2</sub> : 8 MPa, 40 °C, solvent flow rate (6 kg/h CO <sub>2</sub> ), 10% ethanol–water solution with an ethanol concentration of 449.73 g/L	Extract rich in polyphenols at 80 °C for 4 min. The extraction yield obtained by the combined process was increased (3493 mg GAE/100 g DW), as well as the antioxidant activity (7503 mg α-tocopherol/100 g DW)	(Da Porto et al., 2015)
Seed of white varieties	Polyphenols Proanthocyanidin fractionation (FI and FII)	80 bar, 40 °C, 80 bar flow 6 kg/h and percentage of co-solvent 20%	The total phenolic content of 7132 mg of GAE/100 g DW FI (> 1000 mg of catechin/100 g DW) and FII (> 800 mg de catechin/100 g DW)	(Da Porto & Natolino, 2017)
Microwave assisted extraction (MAE) 1) Grape seeds/cv. Ahmar Bou-amar. 2) Grape peel/cv. Ahmar Bou-amar.	Polyphenols	1) 50 g sample, 250 mL solvent (acetone and 50% water (v/v)), 373.15 W, 59.88 s. 2) 100 g sample, 250 mL solvent (acetone and 50% water (v/v)), 384.44 W, 113.4 s.	1) Total phenolic concentration 24 times higher compared to conventional solvent extraction. 2) Total phenolic concentration 28 times higher compared to conventional solvent extraction. 98% reduction in extraction time.	(Medouni-Adrar et al., 2015)
Microwave-assisted extraction (MAE) GP/cv. Tempranillo	Anthocyanins Polyphenols	Pre-treatment between homogenization and extraction steps. Power: 300 W; Anthocyanins 80 °C/60 s; Polyphenols 100 °C/120 s	85% increase in anthocyanin extraction in the dry product. The polyphenols yield increased 57%, and the concentration of bioactive compounds in the dry product increased 32%	(Álvarez et al., 2017)

Table 1 (continued)

Vegetable matrix/cultivar	Extracted compounds	Ideal treatment conditions	Main conclusions	References
GP/cv. Chardonnay	Total polyphenols	93 W, 24 ± 1 °C, solvent (10 mL). Ideal extraction 1.77 g sample, 48% ethanol for 10 min	DPPH inhibition factor 87% and total phenolic content was 1.21 ± 0.04 mg GAE/mL. Flavanols were the most abundant phenolic compounds	(Garrido et al., 2019)
Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG)				
GP/cv. Alphonse Lavallée	Polyphenols	400 g GP; power 1 W/g and 20 min at atmospheric pressure	Significant levels of total phenolics (21.41 ± 0.04 mg of GAE/g DW) and total anthocyanins (4.49 ± 0.01 µg equivalent of malvidin-3-O-glucoside/g DW), ideal for enriching grape juice	(Al Bittar et al., 2013)
Grapes/cv. 'BRS Vitória'	1) Dehydration MHG. 2) Dehydration by oven drying. 3) Dehydration by oven drying	1) 100 g grapes; power 400 W; 10 min. 2) 50 g grapes; 50 °C; 17.83 h. 3) 100 g grapes; -4 °C to -5 °C; 149.9 h	MHG provided a method that is 11.1 and 937 times faster than the oven drying and lyophilization methods, respectively	(Farias et al., 2021)
Ultrasound-assisted extraction (UAE)				
GP/Cabernet red varieties	Polyphenols	5 g sample/100 mL solvent; power (200 W), 40:1 (solvent:solid), 1:1 (solvent water:ethanol), temperature (45 °C), extraction (10 min) and stirring (30 min)	Ultrasound as an autonomous technique, resulted in lower yields of polyphenols, however when combined with extractions by shaking it presented a yields of 2079.33 mg/100 g DW	(Nayak et al., 2018)
Grape peel/red varieties	Polyphenols	Ethanol and distilled water Sonication (20 kHz), power (1000 W/L), temperature (28 ± 3 °C) and time (9 min)	Greater recovery of phenolics in a short time. Malvidin 3-O-glucoside, quercetin, rutin, catechin and epicatechin have been identified as the main phenolic compounds	(Caldas et al., 2018)
GP/cv. Agiorgitiko	Polyphenols	1 g sample/8 mL solvent; sonication (20 kHz); power (130 W); temperature (56 °C); time (20 min in 53% aqueous ethanol); enzymatic pretreatment with cellulase, 4% concentration, 240 min treatment, and water/sample ratio of 2 mL/g	Extraction yield (48.76 ± 1.06 mg de GAE/g DW)	(Drevelegka & Goula, 2020)
Pulsed electric field (PEF)				
Grapes/cv. Cabernet Sauvignon, Syrah and Merlot	Polyphenols Anthocyanins	Field strength (2.5 and 7 kV/cm); Extraction rate ( <i>k</i> ); Maximum extraction yield ( <i>Y<sub>max</sub></i> )	Increase of the field from 2 to 7 kV/cm, increased the <i>k</i> of anthocyanins and total phenols during the stage of maceration and fermentation. <i>Y<sub>max</sub></i> was most notable in cv. Cabernet Sauvignon	(E. Puértolas et al., 2010)



**Table 1** (continued)

Vegetable matrix/cultivar	Extracted compounds	Ideal treatment conditions	Main conclusions	References
Grapes/cv. Cabernet Sauvignon	Polyphenols Anthocyanins Before the winemaking process	1) E=0.7 kV/cm, $t_{PE} = 200$ ms, W=31 Wh/kg. 2) E=4.0 kV/cm, $t_{PE} = 1$ ms, W=4 Wh/kg	Increased tannins by 34%. Greater anthocyanin extraction (19%). Maintenance of the alcohol content, total acidity and volatile acidity of the wines in relation to the control	(Delsart et al., 2014)
GP/cv. Dunkelfelder	Anthocyanins	Electrical treatments: Power supply (40 kV–10 kA) and frequency (0.5 Hz) W=0–564 kJ/kg of energy input	Notable increase in the extraction yield of total anthocyanins (22 and 55%) compared to extractions assisted by ultrasound and high voltage electrical discharges	(Barba et al., 2015)
Pulsed ohmic heating (POH) GP/cv. Cabernet Sauvignon	Polyphenols	20–800 V/cm + supplementary hydro-ethanolic diffusion (0–50%, v/v) 60 min/20–50 °C	36% of increase in yield compared after 400 V/cm + supplementary hydroethanolic diffusion (30%, v/v), 60 min/50 °C compared to untreated samples	(El Darra et al., 2013a, b)
GP/mixture of different varieties of red grapes	Anthocyanins	1) OH 40 °C 20 min 2) OH 100 °C 20 s (no holding time) These pretreatments were followed by aqueous extraction in water at room temperature	Independently of the temperature applied, ohmic heating allowed to boost extraction levels increasing concentration of total phenolic compounds, as well as conductivity, soluble solids and red color intensity of the obtained extracts	(Pereira et al., 2020)
High-voltage electrical discharges (HVED) GP/cv. Pinot Meunier e Chardonnay	Polyphenols	40 kV	sevenfold increase in polyphenol extraction	(Boussetta et al., 2012)
GP/cv. Dunkelfelder	Polyphenols	40 kV	HEVD technique is superior to PEF and UAE in the recovery of phenolic compounds and in energy terms	(Barba et al., 2015)
High pressure (HP) Grape seeds and grape peels/cv. Pinot Noir	Polyphenols	110 °C, under nitrogen atmosphere, 60 min	The highest content of total polyphenols, <i>o</i> -diphenols and flavonoids, both for seeds (108.3 mg GAE/g DW, 47.0 mg CE/g DW and 47.2 mg GAE/g DW) and peels (34.2 mg GAE/g DW, 10.1 mg GAE/g DW and 21.6 mg CE/g DW) were obtained	(Casazza et al., 2010)
GP/cv. Pinot Noir	Polyphenols	30.90 and 150 °C, from 30 to 330 min	The highest yields of total phenolic compounds (60.7 mg of GAE) and total flavonoids (15.1 mg CE/g DW) were obtained at 150 °C for 270 min and 15 min	(Casazza et al., 2012)

Table 1 (continued)

Vegetable matrix/cultivar	Extracted compounds	Ideal treatment conditions	Main conclusions	References
GP/cv. Cabernet Sauvignon	Polyphenols	60 to 140 °C, % ethanol/water (30:70; 70:30, v/v)	Mix of ethanol/water at 140 °C/70%, promoted a significant increase in the recovery of polyphenols in the extracts of wet GP (16.2 g GAE/100 g DW) and dry (7.28 g GAE/100 g DW)	(Rajha et al., 2014)

GP grape pomace, CV cultivar, DW dry weight, mg CE/g DW milligrams of catechin equivalent per gram of dry weight, mg GAE/g DW milligrams of gallic acid equivalent per gram of dry weight

In the last decades, a lot of studies have addressed the technique of supercritical extraction showing the potential for recovery and reuse of polyphenols from the winemaking by-products such as grape pomace (Casas et al., 2010; Da Porto et al., 2015; Da Porto et al., 2014; Da Porto et al., 2014; Fariás-Campomanes et al., 2013; Ghafoor et al., 2010; Murga et al., 2000; Oliveira et al., 2013; Pinelo et al., 2007). SFE is an alternative to be implemented in the wine chain industry due to allow obtaining several compounds of interest without chemical residues and due to the possibility of automation (Ahangari et al., 2021; Morsy, 2020). CO<sub>2</sub> has been used to isolate and purify antioxidants, phenolic compounds, and proanthocyanins from grape seed oil (Dubá & Fiori, 2015; Sirohi et al., 2020) and in the recovery of resveratrol from grape pomace (Casas et al., 2010). Additionally, extracts from grape pomace obtained through SFE showed antibacterial and antifungal activity (Oliveira et al., 2013), demonstrating the extraction efficiency of the bioactive substances. However, the application of the technique is still incipient in the wine industry, although its use proves to be promising. The adoption of the technique demands optimization of parameters such as temperature, pressure, particle size and initial moisture content of the matrix, extraction time, CO<sub>2</sub> flow rate, and solvent ratio, which are directly related to the final yield. Another barrier in adopting the technique is the high cost of implementation and the use of high pressures, which are challenges to be overcome for the implementation of SFE at the industrial level (main characteristics, advantages, and disadvantages of the SFE are shown in Table 2).

### Microwave-Assisted Extraction

Used mainly for food processing, the microwave belongs to the class of non-ionizing radiation, with a frequency range of 300 MHz to 300 GHz (Picot-Allain et al., 2021). They are formed by two perpendicular oscillating fields, such as the electric field and the magnetic field, and operate according to a principle in which microwaves have a direct impact on the molecule by the action of dipole rotation and ionic conduction, responsible for converting heat into electromagnetic energy (Azmir et al., 2013; Chemat et al., 2015; Sirohi et al., 2020). The microwave heating principle is based on its impacts on polar materials, without affecting the molecular structure of the matrix (Sirohi et al., 2020).

Among the green extraction techniques, microwave-assisted extraction (MAE) is the most widespread method for the recovery of food constituents. The extraction involves three sequential steps: first, releasing the solutes present in the active sites of the plant matrix under increased temperature and pressure; second, diffusion of solvent through the plant matrix; and third, solute release, cellular content, from the matrix to the solvent (Azmir et al., 2013). Its main

**Table 2** Advantages and disadvantages of green extraction methods SFE, MAE, MHG, UAE, PEF, and OH

Extraction technique	Advantages	Disadvantages
Supercritical fluid extraction (SFE)	<p>Due to low viscosity and relatively high diffusivity, supercritical CO<sub>2</sub> have enhanced transport properties than liquids, can diffuse easily through solid materials and can therefore give faster extraction rates.</p> <p>The repeated reflux of supercritical fluid (SCF) to the sample provides complete extraction.</p> <p>The selectivity of SCF is higher than liquid solvent as its solvation power can be tuned either by changing temperature and/or pressure.</p> <p>SFE is operated at room temperature, so an ideal method for thermos labile compound extraction.</p> <p>SFE uses little amount of organic solvent and considered as environment friendly.</p> <p>The recycling and reuse of SCF is possible, which minimizing waste generation.</p> <p>Operation on laboratory and industrial scale.</p> <p>SFE process provides information regarding extraction process and mechanism, which can be adjusted to optimize extraction process.</p> <p>Continual process with no intermittence.</p> <p>Solvent-free products.</p> <p>CO<sub>2</sub> as solvent does not cause environmental problems and is physiologically harmless, and not flammable.</p> <p>CO<sub>2</sub> is a Generally Recognized As Safe (GRAS) solvent.</p> <p>CO<sub>2</sub> is inexpensive.</p> <p>Pure extracts.</p>	<p>High pressures.</p> <p>High investment cost.</p> <p>Phase equilibrium of the solvent/solute system in complex, making design of extraction conditions difficult.</p> <p>Imprecise modeling can affect efficiency of SFE.</p> <p>High polar substances are insoluble.</p>
Microwave assisted extraction (MAE)	<p>Quicker heating for the extraction of bioactive substances from plant materials.</p> <p>Reduced thermal gradients.</p> <p>Reduced equipment size and increased extract yield.</p> <p>Fast heating.</p> <p>Higher reproducibility.</p> <p>Extract purity and quality.</p> <p>Decreasing number of unit operations, environmental impacts, economical costs, quantity of solvent and total waste.</p> <p>Avoidance of loss of volatile substances.</p> <p>Less solvent requirement due to absence of evaporation phenomenon.</p>	<p>Application of high pressure poses safety risks.</p> <p>Handling and processing of limited sample volumes.</p> <p>Requirement of cooling step after each treatment for further processing.</p> <p>Prolonged exposure with high potency: degradation of phenolic compounds.</p>
Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG)	<p>Solvent-free extraction.</p> <p>Fast heating.</p> <p>Extraction and recovery are carried out in a single stage.</p> <p>Extract purity and quality.</p> <p>Decreasing number of unit operations, environmental impacts, economical costs, and total waste.</p> <p>Production of co-products instead of waste.</p> <p>Products according to the bio-refinery concept</p>	<p>Handling and processing of limited sample volumes.</p> <p>Plant materials with a minimum of 60% initial moisture</p>

**Table 2** (continued)

Extraction technique	Advantages	Disadvantages
Ultrasound-assisted extraction (UAE)	<p>Easy to use due to simplicity of technique.</p> <p>Increased extraction throughput of extracted materials and rapid extraction rate of thermolabile components at mild/low temperature ranges during processing.</p> <p>Low cost and economically viable choice for green extraction of polyphenols.</p> <p>Decreasing number of unit operations.</p> <p>Faster energy transfer.</p> <p>Advantageous due to diminishing laboratory wastes.</p> <p>Maximum compatibility of UAE with GRAS solutions</p>	<p>Availability of solvent is necessary in order to carry out optimum extraction of bioactive compounds.</p> <p>Non-selective</p>
Pulsed electric field (PEF)	<p>Energetically efficient.</p> <p>Short processing time.</p> <p>Non-destructive technology.</p> <p>Selective.</p> <p>Non-thermal technology.</p> <p>Low operation cost.</p> <p>Low energy consumption.</p> <p>Easy scaling up.</p> <p>Waste-free process.</p> <p>Continuous operability</p>	<p>High cost, depend on medium composition (conductivity)</p>
Ohmic heating (OH)	<p>Can be applied to a broad variety of foods, including liquids and semi-solid and solid foods accompanied by a suitable carrier liquid.</p> <p>Reduced energy requirements.</p> <p>Can be applied to food wastes</p>	<p>Little awareness of the method.</p> <p>High initial costs of the technology</p>

advantages are the significant reduction in extraction times, lower amount of solvent and the high extraction rate (Brahim et al., 2014; Garrido et al., 2019). However, the prolonged exposure of microwaves with high potency can lead to the degradation of phenolic compounds found in a low recovery, being considered the main disadvantage of MAE (more details in Table 2).

MAE represents an efficient technique in obtaining pure extracts from plant matrices without producing residues in a short period of time (Abugabr Elhag et al., 2020). This green extraction technique represents an important technology and has been widely used to extract different bioactive components, such as curcumin (Doldolova et al., 2021), hypericin (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2019), essential oils (Gonzalez-Rivera et al., 2021; Liu et al., 2021), flavonoids (Yedhu Krishnan & Rajan, 2016), phenolic compounds (Bachtler & Bart, 2021; Sarfarazi et al., 2020), and natural dyes (Qadariyah et al., 2017).

In winemaking by-products, the technique has been applied showing promising results (Drevelegka & Goula, 2020; Jia et al., 2021). Álvarez et al. (2017) used the MAE as a pretreatment and found 57% of improvement in the extraction efficiency of polyphenols from grape pomace. This technology applied to grape pomace proved to be

efficient in allowing greater phenolic recovery in less time (Caldas et al., 2018; Medouni-Adrar et al., 2015). Parameters such as choice of solvent, solvent/solid ratio, applied power and temperature, and extraction times must be considered using the MAE method. The individual or combined effects on the yield of the extracts and their composition are considered fundamental factors to maximize the extraction process (Garrido et al., 2019; Kumar et al., 2021). The efficiency, selectivity, and speed of obtaining organic compounds are desired characteristics found in the MAE, and studies have shown its implementation and operational capacity (Drevelegka & Goula, 2020; Tsali & Goula, 2018).

### Microwave Hydrodiffusion and Gravity

The microwave hydrodiffusion and gravity (MHG) technique was developed by Chemat et al. (2008), and it is a solvent-free extraction method that combines microwave heating with earth gravity at atmospheric pressure (Asofie et al., 2016; Li et al., 2013). The MHG system was designed for industrial and laboratory-scale applications in the extraction of pigments, aromatic components, and antioxidants from plant materials with a minimum of 60% of initial

moisture (Farhat et al., 2010; Li et al., 2013). It is considered an efficient, economical, and environmentally friendly technology (Boukroufa et al., 2015; Bousbia et al., 2009a, b; Périno-Issartier et al., 2011; Ravi et al., 2018; Zill-e-Huma et al., 2011).

MHG produces microwaves with precise temperature control, avoiding gradients and thermal degradation of the compounds of interest. The addition of solvents is not required, which represents the main advantage to the method. In addition, the concept of bio-refinery can be applied, offering operational advantages derived from the reduction of solvents, energy, waste and time (Table 2) (Boukroufa et al., 2015; López-Hortas et al., 2016). One of the main advantages of the technique is the extraction and recovery in a single stage, involving the application of microwave irradiation and gravity without the demand for solvents, promoting safe and quality extracts (Bousbia et al., 2009a, b). A wide range of compounds (for example, essential oils, antioxidants, pigments, flavors, juices, and other organic compounds) has been efficiently separated using this technique.

The principle of the technique is to add the plant material in a microwave reactor, without adding any solvent or water (Chemat et al., 2015). The technique explores the dielectric heating of water and molecules “in situ” present in the cells, heating the plant material immediately. The increase in temperature and pressure inside the cells promotes the physical rupture of the membrane and cell wall (Ferreira et al., 2020). This physical phenomenon, known as hydrodiffusion, allows the extract loaded with phytochemical compounds and water from the cells to diffuse from the plant material and be carried by gravity. Thus, the extract enters the cooling system outside the microwave oven through a holed disk of Pyrex material, where it is collected in a specific flask (Cendres et al., 2011; Chemat et al., 2015, 2019).

The viability of the MHG technique has been investigated in different matrices. This procedure was applied to products of plant origin, such as aromatic and citrus plants, for the extraction of essential oil, as well as by-products, such as onions (*Allium cepa* L.), grape pomace (*Vitis vinifera*), and marine macroalgae (*Sargassum muticum*), to obtain polyphenolic compounds (Al Bittar et al., 2013; Boukroufa et al., 2015; Ferreira et al., 2020; Pérez et al., 2014; Zill-e-Huma et al., 2011). It was also tested as a drying technique (Farias et al., 2021; Fernandes et al., 2021; Ferreira et al., 2018; Khan et al. 2016; López-Hortas et al., 2018) and in the preparation of fruit juices (Cendres et al., 2011; Turk et al., 2017).

The MHG technique was initially applied to grape pomace to produce polyphenols enriched grape juice; it demonstrated that the extraction occurred in a short time (20 min), with low energy consumption and without solvents (Al Bittar et al., 2013). Recently, Farias et al. (2021) verified the efficiency

of the MHG technique by partially removing water from grapes and simultaneously obtained an extract rich in phenolic compounds. The authors showed a 50% reduction in grapes moisture content and a significant reduction in processing time when comparing the MHG (10 min) with the methods of drying oven (17.83 h) and lyophilization (149.9 h). Furthermore, MHG made it possible to preserve the antioxidant activity and phenolic compounds present in the fruit. Simultaneously with the drying process, MHG promoted the recovery of an extract rich in phenolic compounds with high antioxidant capacity.

Many advantages are offered by the method, such as greater safety, as it does not require solvents and its ability to separate extracts from the co-product generated (details in Table 2). However, the MHG method is still in its infancy at the industrial scale and required adjustments. Further studies should focus on the use of co-products, as this allows the total reuse of the waste generated by the wine chain. Due to its characteristics and advantages, MHG is positioned as one of the most promising methods for adoption at an industrial level.

## Ultrasound-Assisted Extraction

Ultrasound-assisted extraction (UAE) is another emerging unconventional method with great potential for application in foods capable of reducing extraction time and increasing extraction yield and quality of extracts (Singla & Sit, 2021). Several classes of food components, such as flavors, pigments, antioxidants, and other organic and mineral compounds, have been efficiently extracted and analyzed from a variety of matrices (Chemat et al., 2017). Ultrasound is a special type of sound wave superior to the audible frequency range of human hearing (20 Hz to 20 kHz) (Azmir et al., 2013). Ultrasound waves are able to propagate by any means as a mechanical wave within a frequency range of 20 kHz to 100 MHz, generating phases of expansions and compressions that can propagate in solid, liquid, or gaseous media, inducing displacement molecules from their original positions (Kumar et al., 2021; Singla & Sit, 2021). Ultrasound has been used in a wide range of applications, including processes such as fermentation, emulsification, crystallization, reaction kinetics, and extraction technique (Singla & Sit, 2021).

The extraction is attributed to cavitation, which generates high shear forces and microbubbles in the liquid medium, which increases surface erosion, fragmentation, and mass transfers between the solid and liquid phase. The principle of shearing damages the cell walls of the plant matrix and therefore contributes to the release of bioactive compounds in the solvent (Caldas et al., 2018; Kumar et al., 2021), but only liquids and liquids containing solid materials have a cavitation effect (Azmir et al., 2013). Additionally,

parameters such as solvent concentration, solvent/sample ratio, time, temperature, and sonication time can vary and need to be optimized according to the type of matrix used (Kumar et al., 2021). The advantages of UAE include greater penetration of the solvent into the cellular material, thus reducing the processing time and permanence, increasing the yield of the product, reducing the consumption of solvents and energy for processing (Table 2) (Barba et al., 2016).

UAE exhibits to be an efficient extraction method to isolate phenolic compounds from grape pomace (Drevelegka & Goula, 2020). Poveda et al. (2018) point out that UAE with hydroalcoholic solution (44% ethanol) provides extracts with greater antioxidant and antimicrobial properties compared to aqueous extracts from accelerated solvent extraction. The UAE applied to grape seed oil reduced the extraction time with satisfactory results of polyphenol recovery (Da Porto et al., 2013; Drevelegka & Goula, 2020), applied to grape skins allowed the extraction of anthocyanins and phenolic compounds (Ghafoor et al., 2011). However, the technique must be used with caution. Kumar et al. (2021) showed that deterioration of phenolic compounds can occur due to the generation of hydroxyl radicals with the formation of cavitation bubbles, being the thermal degradation of the compounds of interest a disadvantage of the technique (Chemat et al., 2020). UAE represents a technique widely used in the food sector due to its easy use, speed of extraction, and increase in the volume of extract. Few studies has been reported the use of the method for the winemaking by-products, which represents a promising area for investigation.

### Pulsed Electric Field

Treatment with pulsed electric field (PEF) is considered an emerging non-thermal, ecological and economical technology to inactivate microorganisms, enzymes, extract bioactive compounds (anthocyanins, polyphenols, and pigments) from plant matrices and by-products and improve mass transfer in food products (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2019). It is also applied to plant materials as a pretreatment (López et al., 2008; Zhang et al., 2021). The PEF treatment makes it possible to increase the permeabilization of cell membranes via electroporation (Brianceau et al., 2015). In other words, when plant cells are exposed to a certain electric field, their cell membranes may form reversible or irreversible electroporation, which may result an increase in the permeability of the cell membrane to ions and macromolecules, thus promoting the release of intracellular content (Chemat et al., 2020; Niu et al., 2021). PEF can minimize the degradation of heat-sensitive compounds, using a moderate electric field (500 and 1000 V/cm; for  $10^{-4}$  to  $10^{-2}$  s) (Azmir et al., 2013). However, the concentration of recovered antioxidant compounds is variable and depends on the food matrix and the applied PEF treatment conditions.

PEF technology has been used to recover antioxidant compounds in agro-industrial and winemaking by-products (Barba et al., 2015; Brianceau et al., 2015; Delsart et al., 2014). Usually, treatment with PEF occurs at room temperature ( $23 \pm 1$  °C) or slightly above room temperature for less than 1 s (Barba et al., 2016). The main advantage is related to its selectivity and nonthermal mechanism (Table 2) (El Darra et al., 2013a, b). PEF has been shown to be effective in extracting natural components from grapes, grape pomace, and vine sprouts. The results showed increased extraction yields of polyphenols, anthocyanins, and proteins (Barba et al., 2016). The PEF application (1 to 7 kV/cm), as a pretreatment before the maceration step, significantly increased the extraction rate of anthocyanins and total phenols from red cultivars, reducing the maceration time and increasing the color intensity, throughout the winemaking process (Delsart et al., 2014; El Darra et al., 2013a, b; V. J. Ferreira et al., 2019; López et al., 2008; Puértolas et al., 2010). The PEF treatment was also used to decontaminate mycotoxins in grape juice, reducing 72% of the AFB2 (aflatoxin B2) and 84% of the AFG1 (aflatoxin G1) present in the juice. In addition, to the mentioned benefits, the nonthermal treatment of PEF maintained organoleptic and nutritional properties, such as the retention of heat-sensitive vitamins, aromatic compounds, and sensory attributes (Pallarés et al., 2021).

The PEF is a sustainable food processing technique with the main advantages of not compromising the safety or quality of products. Additionally, the nondestructive character, for not producing waste, for the fast processing and reduced energy spending, this method proves to be viable and with great potential to be implemented in the industry. Although the high cost of implementation is still one of the impediments in its implementation, PEF can be considered a useful technology in food processing especially in the wine chain.

### Ohmic Heating

Ohmic heating (OH), or Joule heating, is the thermal process in which heat is generated internally by the passage of an alternating electrical current through a body (matrix/food), which functions as an electrical resistance (Chemat et al., 2020). The components of food become part of the electrical circuit through the alternating current flows, generating heat from the intrinsic properties of the electrical resistance of the matrix (Moreno et al., 2016). Factors such as electrical conductivity, field strength, particle size, concentration, ionic concentration, and electrodes influence the OH rate of foods (Chemat et al., 2020).

OH differs from other electrical heating methods by the presence of electrodes in direct contact with food (as opposed to microwave heating, where the electrodes are absent) or by the frequency and waveforms used. In general, the frequencies for OH tend to be those provided by

the power supply (50 or 60 Hz); however, a wide range of potential frequencies can be used, depending on the nature of the application (Sarkis et al., 2013; Sarkis et al., 2013). The technique offers advantages such as heating uniformity and improvements in quality with a minimum of structural, nutritional, or organoleptic changes. OH has a wide application potential in the food industry; it has been proven efficient in the extraction of pectin (Saberian et al., 2017), juices, (Darvishi et al., 2011, 2013), essential oils (Aamir & Jittanit, 2017; Pootao & Kanjanapongkul, 2016; Seidi Damyeh & Niakousari, 2017), and phenolic compounds (Pereira et al., 2020; Sangpradab et al., 2021; Sarki et al., 2013; Sarkis et al., 2013).

The combination of thermal effects and pulsed electrical applications through pulsed ohmic heating (POH) treatments has been gaining expression, especially in extraction processes, increasing the recovery of phytochemicals in different matrices, with low energy costs and improving the quality of the extract/product (El Darra et al., 2013a, b; Maroun et al., 2017; Puértolas et al., 2010; Rocha et al., 2018). Extraction processes can be improved by combining moderate or high temperatures with the effects of electroporation (Parniakov et al., 2014, 2016; Puértolas & Barba, 2016). Recent studies show good results in the pretreatment and in the extraction of biological materials with POH (Pereira et al., 2016, 2020; Saberian et al., 2017).

The POH method was applied to by-products, such as grape pomace, showing a recovery of polyphenols above 600 mg of GAE/100 g in 60 min, with energy consumption of  $W = 38$  kJ/kg (El Darra et al., 2013a, b), revealing the potential application of technology in the extraction of phenolic compounds. The use of the technique as a pretreatment in grape skins increased the levels of extraction by increasing the concentration of total phenolic compounds, conductivity, soluble solids, intensity of the red color of the extracts, and concentration of anthocyanins (from 756 to 1349  $\mu\text{g/g}$ ) (Pereira et al., 2020). The treatment with POH has great potential and several applications; however, the high cost of implementation and the lack of technical characterization of the method are among its main disadvantages.

## Phenolic Compounds Microencapsulation Technologies

### General Aspects of Microencapsulation

Microencapsulation is a process in which small amounts of solid, liquid, or gaseous matter are coated with a thin polymeric layer, forming small capsules, which protect the encapsulated compound (Dubey et al., 2009; Poshadri & Kuna, 2010; Sri et al., 2012). The basic purpose is to protect the encapsulated ingredients against chemical oxidation and/

or environmental factors. The encapsulated material is called an active agent, filling, or core (Gonçalves et al., 2016), while the encapsulation material can be referred to as a membrane, carrier material, coating, or wall material with microencapsulation aiming to preserve valuable components and sensitive to adverse environmental conditions, extending the product's shelf life (Dhakal & He, 2020).

An example of the application of microencapsulation is the protection of probiotic microorganisms and vitamins in gastric transit (Dhakal & He, 2020; Gonçalves et al., 2016; Nunes et al., 2018). In addition, microencapsulation has the potential to preserve desirable flavors and aromas or to mask the unpleasant appearance (Aguilar et al., 2016; Ribeiro et al., 2019; Rosa et al., 2019). In recent years, this technology has been widely explored as an alternative for maintaining and enhancing phenolic extracts from by-products of the food industry, with the aim of prolonging and enhancing the beneficial action of these extracts (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Mahdavi et al., 2016; T. Moreno et al., 2018; Rezende et al., 2018; Tsali & Goula, 2018).

The microencapsulation of winemaking by-products has been investigated, as it is a source rich in phenolic compounds that exhibit a wide range of biological effects such as its antioxidant, antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, anti-inflammatory, antiaging, and antidiabetic properties (Brezoiu et al., 2019; Rocha & Noreña, 2020; Tolun et al., 2020). However, the properties that make antioxidant compounds from grape pomace attractive for nutraceutical use have limitations when applied in the food sector. The stability of polyphenols depends on environmental and chemical factors, such as pH, metal ions, exposure to light, temperature, oxygen, and enzymatic activities (Ballesteros et al., 2017; Yamashita et al., 2017). In addition, the direct application of these compounds to foods can promote unpleasant flavors and cause low availability, due to low water solubility, and instability in alkaline conditions found in biological fluids (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Ozkan et al., 2019).

In this context, microencapsulation allows to increase the stability and bioavailability of phenolic compounds, since the coating material protects the phenolic compound from degradation reactions, in addition to promoting its release under specific conditions (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Kuck & Noreña, 2016). The choice of the microencapsulation method must consider the particle size, physicochemical properties of the core, coating materials, release mechanisms, and cost (Mahdavi et al., 2016).

### Encapsulating Agent

The crucial point for the microencapsulation process is the choice of the encapsulating agent, which is based on the physicochemical characteristics of the compound to be encapsulated (Suave et al., 2006). To obtain the desirable

encapsulation, the stability of microparticles, and the characteristics required in the final product, it is necessary to carry out an appropriate selection of the encapsulation method and the encapsulating agent, as it is an interdependent operation (Aguiar et al., 2016; Ribeiro et al., 2019). Encapsulating agents must enable satisfactory release, be nontoxic, and have no reactivity with the active agent (Favaro-Trindade et al., 2008).

The most used materials in the food industry as encapsulating agents are polysaccharides, gums, cellulose, lipids, proteins, and mixtures of these materials (Aguiar et al., 2016; Ballesteros et al., 2017; Mahdavi et al., 2016). The selection of the encapsulating agent is based on physicochemical properties such as solubility, molecular weight, crystallinity, diffusibility, film formation, emulsifying property, low viscosity, and resistance to the gastrointestinal tract (Rezende et al., 2018).

Carbohydrates are widely used as wall material due to their low cost (depending on availability) and low viscosity values (for example, maltodextrin, and gum arabic) (Aguiar et al., 2016; Labuschagne, 2018). Among the gums, gum arabic is the most used due to its solubility, viscosity, and emulsification properties, in addition to the good retention of volatile compounds. However, due to its high cost, total or partial replacement of this encapsulating agent has been sought. One solution found was to replace gum arabic with maltodextrin (Labuschagne, 2018; Rezende et al., 2018). Another potential carbohydrate is inulin, which has physiological benefits for humans and functional properties (Araujo-Díaz et al., 2017; Leyva-Porras et al., 2017), and it has been used in the microencapsulation of propolis, juices, and fruit extracts presenting promising results (Araujo-Díaz et al., 2017; Rosa et al., 2021; Saavedra-Leos et al., 2014; Šturm et al., 2019).

Starches are important substances in microencapsulation processes, among them hi-maize has been used in the microencapsulation of phenolic compounds. Named as resistant starch, it has desirable characteristics as encapsulating agent of food quality due to its white color, mild flavor, low water-holding capacity, and thermo-protective properties (Nunes et al., 2018; Rosa et al., 2019, 2021).

Proteins and protein-containing isolates (for example, whey, soybean, casein, gelatin) consist of a wide range of functional groups that confer amphiphilic properties and have good emulsion properties (Aguiar et al., 2016; Labuschagne, 2018). The main disadvantage of using proteins is their low solubility in cold water (Labuschagne, 2018).

An encapsulating agent rarely has all the required characteristics. Thus, the use of a mixture of wall materials is a viable option to increase the efficiency of the encapsulation process (Kuck & Noreña, 2016). In this context, mixtures of alginate and chitosan, gelatin, maltodextrin,

carboxymethylcellulose, proteins, gum arabic, skimmed milk powder, whey concentrate, pectin, and others were used as wall materials (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Boonchu & Utama-Ang, 2013; Ribeiro et al., 2019; Rocha & Noreña, 2020; Tolun et al., 2020; Tsali & Goula, 2018).

## Microencapsulation Methods

The methods used for microencapsulation can be classified into three groups: chemical (complexation of molecular inclusion and interfacial polymerization), physical (spray drying, spray cooling, lyophilization, and extrusion), or physicochemical (simple and complex coacervation, liposomal involvement, and ionic gelation) (Ozkan et al., 2019; Tolun et al., 2016). Among these, physical methods have been used more in microencapsulation processes.

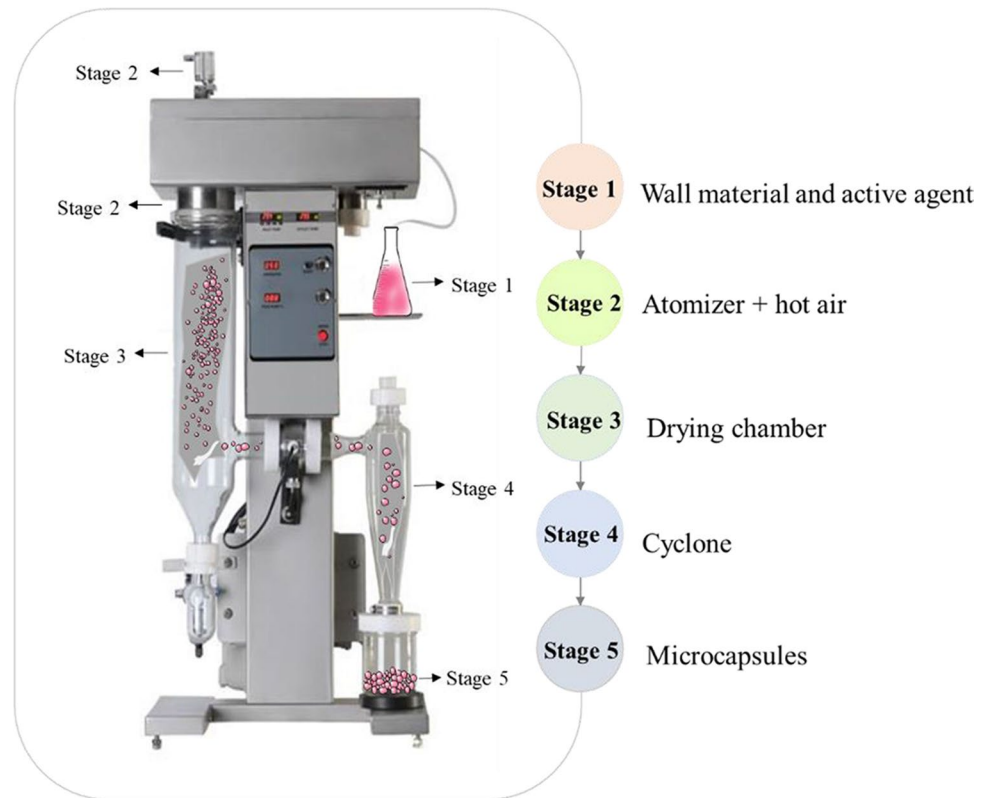
Effects such as stability, solubility, and retention of bioactive compounds are attributed to microencapsulation methods. These promote the maintenance of compounds sensitive to intrinsic and extrinsic factors of the environment. The method used and the wall material have a great impact on the characteristics of the final product, including the retention of the active agent, stability, solubility and antioxidant power. These are procedures with advantages and disadvantages in different aspects and the selection of the microencapsulation process should be linked to the thermosensitivity and solubility of the compounds of interest.

### Spray Drying

Spray drying (Fig. 1) is currently the most widely microencapsulation process used by the food sector (Nunes et al., 2015; Ribeiro et al., 2019). Ozkan et al. (2019) reported that the characteristics of the microparticles obtained by this method are directly related to the processing factors such as drying temperature, drying air flow, feed flow, atomizer speed, type of carrier, and its concentration. This is a simple, flexible, fast, low-cost and easy expansion technique, and high processing capacity for a wide range of ingredients (Labuschagne, 2018; Ribeiro et al., 2019). The method consists in dissolving the core, that is, the encapsulated compound, in a wall material, forming a dispersion, which is then atomized in heated air, promoting the rapid removal of the solvent, and forming particles in the form of powder instantly that will be separated from the drying air (Fig. 1). It is a highly reproducible and appropriate method for industrial applications (Rosa et al., 2019; Simeoni et al., 2014). This process makes it possible to decrease water activity, microbiological stability, and decrease degradation processes, as well as reducing storage and transportation costs (Ribeiro et al., 2019). The conservation of bioactive compounds (anthocyanins, polyphenols, pigments, and vitamins)



**Fig. 1** Schematic representation of the spray drying process



has been widely spread through the spray drying technique. Recent studies show the potential of the method in preserving high-value compounds such as anthocyanins (Rosa et al., 2021), natural pigments (Rubio et al., 2020), phenolic acids, and flavonoid compounds (Dadi et al., 2020). The formation of particles with nonuniform size and shapes is the main disadvantage of the spray drying method. In addition, it is limited to water-soluble encapsulating agents (Labuschagne, 2018; Ribeiro et al., 2019).

### Spray Cooling

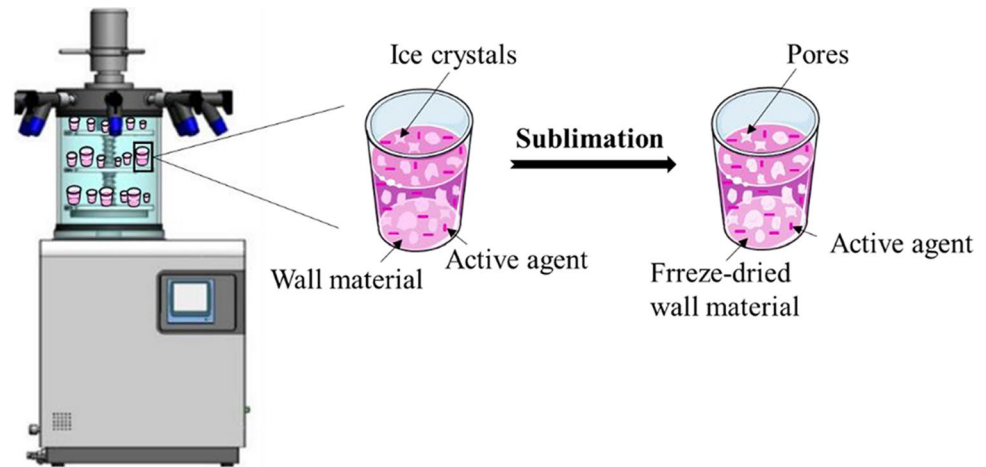
The spray cooling microencapsulation method is widely used in the coating of bioactive compounds. This technique uses hydrophobic compounds as a wall material, in order to microencapsulate materials that can be soluble in water and, thus, delay or inhibit the release of these compounds in humid environments. The carriers generally used are lipids, such as fatty acids, oils, triacylglycerols, wax, or mixtures of these materials (Consoli et al., 2016). The concentration of the active ingredient and the viscosity of the alimentation are directly related to the size of the particles produced. The final characteristics of the particles are affected by parameters such as the atomizer orifice size, alimentation flow rate, temperature, compressed air pressure, air flow rate, and viscosity of the emulsion to be atomized (Ribeiro

et al., 2019). Consoli et al. (2016) emphasized the viability of the process in producing microcapsules loaded with phenolic compounds.

### Lyophilization

Lyophilization (Fig. 2) is used to dry heat-sensitive and unstable compounds, such as aromas and microorganisms (Yamashita et al., 2017), and is a process that keeps the initial functional properties of the encapsulated compounds practically intact (Ballesteros et al., 2017). Among the advantages of the lyophilization process is the generation of products with excellent quality, resulting from the use of low temperatures, absence of air and liquid water. In addition, product deterioration due to microbial, oxidation, and other chemical reactions is avoided or limited (Labuschagne, 2018; Ratti, 2001). Lyophilization is considered an appropriate method for encapsulating heat-sensitive pigments (Cai et al., 2019). However, the high cost of operation is among the main disadvantages of the process, which can be 50 times higher than the spray drying process (Labuschagne, 2018). The storage and transport of the particles produced are extremely expensive, and the commercial applicability is also severely restricted by the long processing time (more than 20 h) (Madene et al., 2006; Ozkan et al., 2019).

**Fig. 2** Schematic representation of the lyophilization process, observation of the formation of pores in the wall material. Adapted from Labuschagne (2018)



### Extrusion

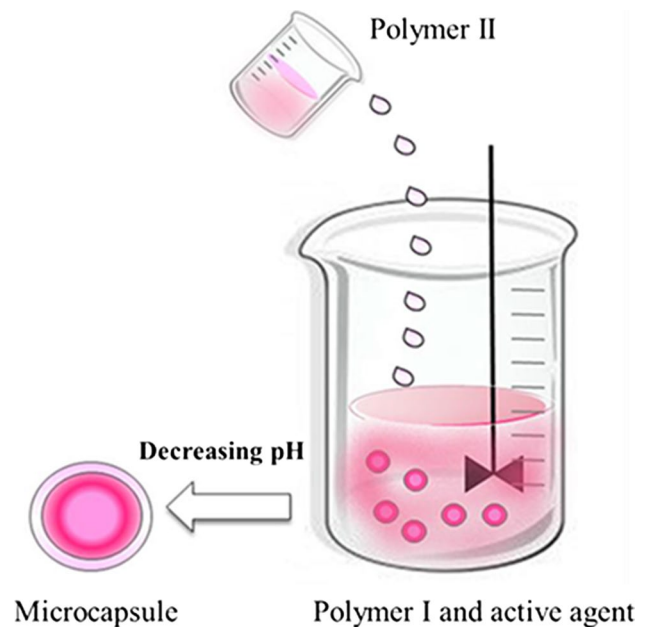
Extrusion (Fig. 3) is the most common physical technique for transforming hydrocolloids into microcapsules (Simeoni et al., 2014). The size of the capsules formed depends on the viscosity of the mixture, the diameter of the drip hole, and the distance between its outlet and the hardening solution, which can vary from 0.5 to 3 mm (Etchepare et al., 2015). The main factor that determines the size of the droplets is the orifice diameter, which can also be influenced by the composition, viscosity, and surface tension of the solution, as well as by the operational parameters (Ribeiro et al., 2019). It is a simple, inexpensive technique and with mild conditions, both in terms of temperature and solvents, the integrity of the material to be encapsulated (Etchepare et al., 2015). However, this encapsulation technology does not promote sufficient yields for industrial applications and the microparticles obtained generally have very high diameters (greater than 2 mm), which can be sensorial sensed when integrating food products (Ribeiro et al., 2019).



**Fig. 3** Scheme of the extrusion method used for phenolic compounds

### Coacervation

The coacervation technique (Fig. 4) consists of the separation of phases between biopolymers charged with opposite charges through electrostatic interaction. Coacervates are generally produced from proteins and polysaccharides and have a wide range of functionality in various products. The interaction power between biopolymers depends on factors such as the type of biopolymer (molar mass, flexibility, and charge), pH, ionic strength, concentration, and proportion of biopolymers (Ozkan et al., 2019). The coacervation process can be simple or complex, depending on the number of polymers used (Ozkan et al., 2019). The coacervation technique has advantages when compared to other techniques such as



**Fig. 4** Schematic representation of the microcapsule formation process by the complex coacervation method. Adapted from Ozkan et al. (2019)

versatility, efficient control in particle size, possibility of operation with biopolymers with no organic solvents and mild processing conditions (Assis et al., 2012). Depending on the required use, drying the coacervates can prolong their shelf life. This drying can be carried out through atomization, lyophilization, oven drying, solvent water removal and drying in ambient conditions (Alvim & Grosso, 2010).

## Microencapsulation of Grape Pomace Compounds

The encapsulation of phenolic compounds from winemaking by-products has been addressed by several authors, who pointed out satisfactory results (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Kuck & Noreña, 2016; Kuck et al., 2017; Tsali & Goula, 2018). The studies sought to establish techniques and encapsulating agents capable of preserving and maintaining the stability of antioxidant compounds during the microencapsulation process and under adverse conditions of storage, transport and resistance to the gastrointestinal tract. The prevalent techniques are based on spray drying due to its simplicity, flexibility, cost–benefit, and possibility of application at an industrial level.

The microencapsulation has been applied to several phenolic extracts from by-products of the wine chain such as stem (Prozil et al., 2012), seed (Davidov-Pardo et al., 2013), and pomace (peels and seeds) (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Kalušević et al., 2017; Kuck & Noreña, 2016; Kuck et al., 2017; Moreno et al., 2018; Souza et al., 2014; Tolun et al., 2020).

The microencapsulation of the phenolic extract of grape pomace, using gum arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents, enabled phenolic and anthocyanin retention above 80% (Kuck & Noreña, 2016), with greater stability even exposed to light and under different temperatures (Aizpurua-Olaizola et al., 2016). Tolun et al. (2020) concluded that the combination of maltodextrin and gum arabic resulted in greater stability of polyphenols when compared to microcapsules obtained with maltodextrin only under relative humidity of 33%. Based on the work already developed, microencapsulation is effective in protecting and releasing antioxidant compounds (Aguiar et al., 2016).

Rubio et al. (2020) used the residual brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a vehicle for encapsulating and protecting phenolic compounds from Cabernet Sauvignon and Bordeaux grape pomace extracts. The obtained microcapsules offer satisfactory characteristics for storage, such as low water activity ( $< 0.289$ ), hygroscopicity ( $< 13.71$  g/100 g), and humidity ( $< 7.10\%$ ) and granulometry inferior to the sensory sensibility ( $< 11.45$   $\mu\text{m}$ ). In addition, the bioaccessibility of the encapsulated phenolic compounds from the Bordeaux and Cabernet Sauvignon extracts was 34.96% and 14.25% higher than to their respective free

extracts. Zhang et al. (2020) characterized the stability and bioaccessibility of anthocyanins extracted from grape skins by internal emulsification/gelling followed by spray drying and lyophilization techniques. The authors demonstrated that spray drying showed greater anthocyanin encapsulation efficiency compared to the lyophilization technique, increasing thermal stability, and bioaccessibility.

## Microencapsulation Combined with Green Extraction of Grape Pomace Compounds

Although the microencapsulation of phenolic compounds from winemaking by-products is widely investigated by the academic community, few studies associate the principles of green chemistry with microencapsulation processes. Tsali and Goula (2018) used the MAE followed by spray drying as a microencapsulation method to enhance the grape pomace compounds. The results showed good efficiency (92.49%), good yield (37.28%), and slower degradation compared to crude extract. In another study using the MAE techniques followed by spray drying, the mixture of whey protein isolate and gum arabic as wall materials, allowed the controlled release of bioactive compounds with significant antioxidant capacity (Rocha & Noreña, 2020). On the other hand, when using gum arabic and pectin as the wall material, the microcapsules showed greater anthocyanin retention capacity when compared to the wall material isolated from whey protein (Rocha & Noreña, 2020). Given the above, it is noted that the phenolic compounds obtained from grape pomace by clean extraction have great potential for use in the food industry. Therefore, they demand greater attention from the scientific community to optimize their acquisition for later incorporation into food products.

The success of the microencapsulation process depends on the correct choice of the method of extracting the compounds, followed by the identification of the nucleus, selection of the encapsulating agent and the microencapsulation technique. Green extraction methods demand to be optimized and improved to obtain extracts and/or products of great interest and relevance for the food and pharmaceutical sector. By combining productivity with food efficiency, environmental gains are promoted and it is possible to recover antioxidant compounds still present in by-products, such as grape pomace. Therefore, enabling the development of products with high added value, with beneficial and satisfactory properties for both the consumer and the industry.

## Conclusion and Future Prospects

The wine chain generates environmental problems due to the significant generation of by-products, mainly grape pomace. Winemaking by-products are rich in polyphenols and their

use in the food industry as a natural source has received much attention in recent decades. In order to enhance this source of phenolic compounds, the technologies that meet the principles of green chemistry become convenient for use by the food industry, in the preparation and availability of products with natural properties.

The use of green extraction techniques such as SFE, MAE, MHG, UAE, PEF, and OH/POH enable the recovery of bioactive from plant matrices, such as grape pomace, and promote a considerable reduction in extraction time, energy consumed, and utilization of solvents. For example, UAE and PEF allow high disruption of the cell that allows the acceleration of mass transfer, recovering lipids in a short time. On the other hand, MAE and MHG induce the combined transfer of mass and heating that allows the destruction of cells and the release of primary and secondary metabolites. The no use of solvents of MHG allows full recovery of the matrix, being a viable example of the bio-refinery principle. Extraction with pulsed ohmic heating and with supercritical fluid also represents viable techniques for extracting bioactive compounds.

In addition to green methods, for the recovery of bioactive compounds microencapsulation can be applied to extracts to increase the bioavailability of these compounds. The success of microencapsulation depends on the selection of an appropriate encapsulating agent and the method of microencapsulation. The encapsulating agent will determine the encapsulation efficiency, the microparticle stability, and the characteristics of the final product, while the microencapsulation method should be selected according to the physical and chemical properties of the core material and the encapsulating agent, the size and desirable shape of the microparticles, and controlled release profile. The spray drying technique is currently the most widely used method for preserving phenolic compounds. At the industrial level, it represents one of the most used techniques due to its simplicity, flexibility, low operating cost, and high encapsulation efficiency. Considering the thermosensitivity and instability of phenolic compounds, lyophilization is highly recommended; however, its high operational cost restricts its use.

Although a large number of publications and patents are available on modern methods, the industrial-scale application of these techniques alone or in combination is still insufficient and underutilized. The redirection of the food industry toward clean production, aiming to minimize the generation of waste and maximize the use of the resources employed is a concern of several sectors. Data point out that the investment in these technologies allows a return in less than 3 years, with the availability of safe and high added value products (Chemat et al., 2020). This redirection involves the availability of the installation of suitable pilots and tests, equipment suppliers, and qualified professionals familiar with the processes. The reduced number of technological incubators and startups with a focus on these technologies is a thermometer and represents

an obstacle to redirection, reducing the interest of consolidated industries in expanding their horizons.

Research combining green extraction techniques with microencapsulation methods in the wine industry are very promising, due to the high potential that grape pomace presents as a source of phenolic compounds. Forthcoming research must focus on the optimization of these processes to achieve high quality of this by-product. In the future, the amount of grape pomace being composted may be reduced as the more profitable use of bioactive compounds from grape pomace is used. In addition, part of the consumers is looking for foods that are safe, nutritious and have natural properties. One way to improve the quality of life is to incorporate natural compounds (such as polyphenols) into food products, combining health benefits with technological use.

**Funding** This study was financed in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)*.

## Declaration

**Conflict of interest** The authors declare that there is no conflict of interest.

## References

- Aamir, M., & Jittanit, W. (2017). Ohmic heating treatment for Gac aril oil extraction: Effects on extraction efficiency, physical properties and some bioactive compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 224–234. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.03.013>
- Abugabr Elhag, H. E., Sulaiman, A. Z., & Ajit, A. (2020). Sequential ultrasound-microwave assisted extraction of water soluble proteins from *Eurycoma longifolia* roots. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(2), 022115. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/736/2/022115>
- Aguiar, J., Costa, R., Rocha, F., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2017). Design of microparticles containing natural antioxidants: Preparation, characterization and controlled release studies. *Powder Technology*, 313, 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.03.013>
- Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- Ahangari, H., King, J. W., Ehsani, A., & Yousefi, M. (2021, May 1). Supercritical fluid extraction of seed oils – A short review of current trends. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.066>
- Aizpurua-Olaizola, O., Navarro, P., Vallejo, A., Olivares, M., Etxebarria, N., & Usobiaga, A. (2016). Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes. *Food Chemistry*, 190, 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.117>
- Al Bittar, S., Périno-Issartier, S., Dangles, O., & Chemat, F. (2013). An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 141(3), 3268–3272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.134>
- Álvarez, A., Poejo, J., Matias, A. A., Duarte, C. M. M., Cocero, M. J., & Mato, R. B. (2017). Microwave pretreatment to improve extraction efficiency and polyphenol extract richness from grape pomace.

- Effect on antioxidant bioactivity. *Food and Bioproducts Processing*, 106, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.09.007>
- Alvim, I. D., & Grosso, C. R. F. (2010). Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciencia e Tecnologia De Alimentos*, 30(4), 1069–1076. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400036>
- Araujo-Díaz, S. B., Leyva-Porras, C., Aguirre-Bañuelos, P., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, Z. (2017). Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers*, 167, 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.065>
- Asofiei, I., Calinescu, I., Trifan, A., David, I. G., & Gavrila, A. I. (2016). Microwave-assisted batch extraction of polyphenols from sea buckthorn leaves. *Chemical Engineering Communications*, 203(12), 1547–1553. <https://doi.org/10.1080/00986445.2015.1134518>
- Assis, L. M., Zavareza, E. R., Prentice-Hernández, C., & Souza-Soares, L. A. (2012). Review: Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(2), 99–109. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232012005000004>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., et al. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bachtler, S., & Bart, H. J. (2021). Increase the yield of bioactive compounds from elder bark and annatto seeds using ultrasound and microwave assisted extraction technologies. *Food and Bioproducts Processing*, 125, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.10.009>
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 237, 623–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Barba, F. J., Brianceau, S., Turk, M., Boussetta, N., & Vorobiev, E. (2015). Effect of alternative physical treatments (Ultrasounds, Pulsed Electric Fields, and High-Voltage Electrical Discharges) on selective recovery of bio-compounds from fermented grape pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 8(5), 1139–1148. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1482-3>
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 49, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.006>
- Barcia, M. T., Pertuzatti, P. B., Gómez-Alonso, S., Godoy, H. T., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2014). Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. *Food Chemistry*, 159, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.163>
- Basegmez, H. I. O., Povilaitis, D., Kitryté, V., Kraujalienė, V., Šulniūtė, V., Alasalvar, C., & Venskutonis, P. R. (2017). Biorefining of blackcurrant pomace into high value functional ingredients using supercritical CO<sub>2</sub>, pressurized liquid and enzyme assisted extractions. *Journal of Supercritical Fluids*, 124, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.01.003>
- Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Moro, K. I. B., Morisso, F. D. P., dos Santos, D. R., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2020). Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. *LWT*, 117, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., et al. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- Boonchu, T., & Utama-Ang, N. (2013). Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 783–792. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1079-7>
- Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanana, N., & Chemat, F. (2015). Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2014.11.015>
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009a). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.034>
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009b). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114(1), 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.106>
- Boussetta, N., Vorobiev, E., Reess, T., De Ferron, A., Pecastaing, L., Ruscassié, R., & Lanoisellé, J. L. (2012). Scale-up of high voltage electrical discharges for polyphenols extraction from grape pomace: Effect of the dynamic shock waves. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.05.004>
- Brahim, M., Gambier, F., & Brosse, N. (2014). Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030>
- Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Arijia, I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.016>
- Brezoiu, A. M., Matei, C., Deaconu, M., Stanciu, A. M., Trifan, A., Gaspar-Pintilieșcu, A., & Berger, D. (2019). Polyphenols extract from grape pomace. Characterization and valorisation through encapsulation into mesoporous silica-type matrices. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110787. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110787>
- Brianceau, S., Turk, M., Vitrac, X., & Vorobiev, E. (2015). Combined densification and pulsed electric field treatment for selective polyphenols recovery from fermented grape pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.07.010>
- Bubalo, C. M., Ćurko, N., Tomašević, M., Ganić, K. K., & Redovniković, I. R. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.040>
- Bubalo, M. C., Vidović, S., Redovniković, I. R., & Jokić, S. (2018). New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*, 109, 52–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.001>
- Burin, V. M., Rossa, P. N., Ferreira-Lima, N. E., Hillmann, M. C. R., & Boirdignon-Luiz, M. T. (2011). Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microencapsulation and stability in soft drink. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(1), 186–193. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02486.x>
- Cai, X., Du, X., Cui, D., Wang, X., Yang, Z., & Zhu, G. (2019). Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation. *Food Hydrocolloids*, 91, 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.034>

- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., et al. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, *111*, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.012>
- Calinescu, I., Asofei, I., Gavrilă, A. I., Trifan, A., Ighigeanu, D., Martin, D., et al. (2017). Integrating microwave-assisted extraction of essential oils and polyphenols from *Rosemary* and *Thyme Leaves*. *Chemical Engineering Communications*, *204*(8), 965–973. <https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1328678>
- Casas, L., Mantell, C., Rodríguez, M., de la Ossa, E. J. M., Roldán, A., Ory, I. D., et al. (2010). Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, *96*(2), 304–308. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.002>
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P. (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, *100*(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.026>
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Sannita, E., & Perego, P. (2012). High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*(2), 399–405. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02853.x>
- Cendres, A., Chemat, F., Maingonnat, J.-F., & Renard, C. M. G. C. (2011). An innovative process for extraction of fruit juice using microwave heating. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(4), 1035–1041. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.028>
- Chamorro, S., Viveros, A., Alvarez, I., Vega, E., & Brenes, A. (2012). Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. *Food Chemistry*, *133*(2), 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.031>
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., & Cravotto, G. (2019). Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *118*, 248–263. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.037>
- Chemat, F., Abert Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Nutrizio, M., Režek Jambrak, A., Muneakata, P. E. S., et al. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chemistry*, *22*(8), 2325–2353. <https://doi.org/10.1039/c9gc03878g>
- Chemat, F., Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M. A., Allaf, T., & Vorobiev, E. (2015). Solvent-free extraction of food and natural products. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *71*, 157–168. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.021>
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *41*, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Chemat, F., Vian, M. A., & Visinoni, F. (2008). Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products.
- Consoli, L., Grimaldi, R., Sartori, T., Menegalli, F. C., & Hubinger, M. D. (2016). Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization. *LWT - Food Science and Technology*, *65*, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.052>
- Da Porto, C., Decorti, D., & Natolino, A. (2014). Water and ethanol as co-solvent in supercritical fluid extraction of proanthocyanidins from grape marc: A comparison and a proposal. *Journal of Supercritical Fluids*, *87*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.12.019>
- Da Porto, C., & Natolino, A. (2017). Supercritical fluid extraction of polyphenols from grape seed (*Vitis vinifera*): Study on process variables and kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, *130*, 239–245. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.02.013>
- Da Porto, C., Natolino, A., & Decorti, D. (2014). Extraction of proanthocyanidins from grape marc by supercritical fluid extraction using CO<sub>2</sub> as solvent and ethanol-water mixture as co-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, *87*, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.12.013>
- Da Porto, C., Natolino, A., & Decorti, D. (2015). The combined extraction of polyphenols from grape marc: Ultrasound assisted extraction followed by supercritical CO<sub>2</sub> extraction of ultrasound-raftinate. *LWT*, *61*(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.027>
- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(4), 1076–1080. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- Dadi, D. W., Emire, S. A., Hagos, A. D., & Eun, J. B. (2020). Physical and functional properties, digestibility, and storage stability of spray- and freeze-dried microencapsulated bioactive products from *Moringa stenopetala* leaves extract. *Industrial Crops and Products*, *156*, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112891>
- Darvishi, H., Khostaghaza, M. H., & Najafi, G. (2013). Ohmic heating of pomegranate juice: Electrical conductivity and pH change. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *12*(2), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.08.003>
- Darvishi, H., Nargesi, F., Khostaghaza, M.-H., Hosainpour, A., Khostaghaza, M. H., & Torang, H. (2011). Ohmic processing: Temperature dependent electrical conductivities of *Lemon* juice. *Modern Applied Science*, *5*(1). <https://doi.org/10.5539/mas.v5n1p209>
- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I., & Marín-Arroyo, M. R. (2013). Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(4), 941–951. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0848-z>
- Delsart, C., Cholet, C., Ghidossi, R., Grimi, N., Gontier, E., Gény, L., et al. (2014). Effects of pulsed electric fields on Cabernet Sauvignon grape berries and on the characteristics of wines. *Food and Bioprocess Technology*, *7*(2), 424–436. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1039-7>
- Denny, C., Lazarini, J. G., Franchin, M., Melo, P. S., Pereira, G. E., Massarioli, A. P., et al. (2014). Bioprospection of Petit Verdot grape pomace as a source of anti-inflammatory compounds. *Journal of Functional Foods*, *8*(1), 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.016>
- Dhakal, S. P., & He, J. (2020). Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, *137*, 109326. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109326>
- Doldolova, K., Bener, M., Laličkoğlu, M., Aşçı, Y. S., Arat, R., & Apak, R. (2021). Optimization and modeling of microwave-assisted extraction of curcumin and antioxidant compounds from turmeric by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, *353*, 129337. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129337>
- Drevelgka, I., & Goula, A. M. (2020). Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, *149*, 107845. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107845>
- Duba, K. S., & Fiori, L. (2015). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, *98*, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.12.021>
- Dubey, R., Shami, T. C., & Bhasker Rao, K. U. (2009). Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*, *59*(1), 82–95. <https://doi.org/10.14429/dsj.59.1489>
- Dwyer, K., Hosseinian, F., & Rod, M. (2014). The market potential of grape waste alternatives. *Journal of Food Research*, *3*(2), 91. <https://doi.org/10.5539/jfr.v3n2p91>

- El Darra, N., Grimi, N., Maroun, R. G., Louka, N., & Vorobiev, E. (2013a). Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. *European Food Research and Technology*, 236(1), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1858-9>
- El Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N., & Maroun, R. (2013b). Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0869-7>
- Etchepare, M. A., da Menezes, M. F., de Rodrigues, C. F., & Menezes, C. R., S. C., Codevilla, L. Z., & Menezes, C. R. (2015). Microencapsulation of bioactive compounds by Extrusion Method. *Ciência e Natura*, 37, 97–105. <https://doi.org/10.5902/2179-460X19725>
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, A. S., Visinoni, F., Romdhane, M., & Chemat, F. (2010). A surprising method for green extraction of essential oil from dry spices: Microwave dry-diffusion and gravity. *Journal of Chromatography A*, 1217(47), 7345–7350. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.09.062>
- Farias-Campomanes, A. M., Rostagno, M. A., & Meireles, M. A. A. (2013). Production of polyphenol extracts from grape bagasse using supercritical fluids: Yield, extract composition and economic evaluation. *Journal of Supercritical Fluids*, 77, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.02.006>
- Farias, C. A. A., Moraes, D. P., Lazzaretti, M., Ferreira, D. F., Zabet, G. L., Barin, J. S., et al. (2021). Microwave hydrodiffusion and gravity as pretreatment for grape dehydration with simultaneous obtaining of high phenolic grape extract. *Food Chemistry*, 337, 127723. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127723>
- Favaro-Trindade, C. S., Pinho, S., & Rocha, G. A. (2008). Review: Microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2), 103–112.
- Fernandes, P. A. R., Bastos, R., Calvão, J., Neto, F., Coelho, E., Wessel, D. F., et al. (2021). Microwave hydrodiffusion and gravity as a sustainable alternative approach for an efficient apple pomace drying. *Bioresource Technology*, 125207. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125207>
- Ferreira, D. F., Lucas, B. N., Voss, M., Santos, D., Mello, P. A., Wagner, R., et al. (2020). Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Industrial Crops and Products*, 145, 112094. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112094>
- Ferreira, S. S., Passos, C. P., Cardoso, S. M., Wessel, D. F., & Coimbra, M. A. (2018). Microwave assisted dehydration of broccoli by-products and simultaneous extraction of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 246, 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.053>
- Ferreira, V. J., Arnal, Á. J., Royo, P., García-Armingol, T., López-Sabirón, A. M., & Ferreira, G. (2019). Energy and resource efficiency of electroporation-assisted extraction as an emerging technology towards a sustainable bio-economy in the agri-food sector. *Journal of Cleaner Production*, 233, 1123–1132. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.030>
- Fontana, A. R., Antonioli, A., & Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(38), 8987–9003. <https://doi.org/10.1021/jf402586f>
- Fraga, C. G. (2009). *Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition and pharmacology*. Wiley & Sons.
- Gallego, R., Bueno, M., & Herrero, M. (2019). Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – An update. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 198–213. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>
- Garrido, T., Gizdavic-Nikolaidis, M., Leceta, I., Urdanpilleta, M., Guerrero, P., de la Caba, K., & Kilmartin, P. A. (2019). Optimizing the extraction process of natural antioxidants from chardonnay grape marc using microwave-assisted extraction. *Waste Management*, 88, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.031>
- Ghafoor, K., Hui, T., & Choi, Y. H. (2011). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total anthocyanins from grape peel using response surface methodology. *Journal of Food Biochemistry*, 35(3), 735–746. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00413.x>
- Ghafoor, K., Park, J., & Choi, Y. H. (2010). 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*, 11(3), 485–490. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.01.013>
- Gonçalves, A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2016). Microencapsulation of vitamin A: A review. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1580–1586. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.024>
- Gonzalez-Rivera, J., Duce, C., Campanella, B., Bernazzani, L., Ferrari, C., Tanzini, E., et al. (2021). In situ microwave assisted extraction of clove buds to isolate essential oil, polyphenols, and lignocellulosic compounds. *Industrial Crops and Products*, 161, 113203. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113203>
- Goula, A. M., Thymiatis, K., & Kaderides, K. (2016). Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. *Food and Bioprocess Technology*, 100, 132–144. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.016>
- Gruz, A. P. G., Sousa, C. G. S. E., Torres, A. G., Freitas, S. P., & Cabral, L. M. C. (2013). Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 35(4), 1147–1157. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400026>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Jia, M. Z., Fu, X. Q., Deng, L., Li, Z. L., & Dang, Y. Y. (2021). Phenolic extraction from grape (*Vitis vinifera*) seed via enzyme and microwave co-assisted salting-out extraction. *Food Bioscience*, 40, 100919. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100919>
- Kalušević, A. M., Lević, S. M., Čalija, B. R., Milić, J. R., Pavlović, V. B., Bugarski, B. M., & Nedović, V. A. (2017). Effects of different carrier materials on physicochemical properties of microencapsulated grape skin extract. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3411–3420. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2790-6>
- Khan, M. K. I., Ansar, M., Nazir, A., & Maan, A. A. (2016). Sustainable dehydration of onion slices through novel microwave hydro-diffusion gravity technique. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.010>
- Knez, M., Leitgeb, E., Primožič, M., Knez, M., Hrnčič, M., & Škerget, M. (2014). Industrial applications of supercritical fluids: A review. *Energy*, 77, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.07.044>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>

- Kuck, L. S., Wesolowski, J. L., & Noreña, C. P. Z. (2017). Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. *Food Chemistry*, 230, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.038>
- Kumar, M., Dahuja, A., Tiwari, S., Punia, S., Tak, Y., Amarowicz, R., et al. (2021). Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review. *Food Chemistry*, 353, 129431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129431>
- Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. *Food Research International*, 107, 227–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.026>
- Leyva-Porras, C., Saavedra-Leos, M. Z., López-Pablos, A. L., Soto-Guerrero, J. J., Toxqui-Terán, A., & Fozado-Quiroz, R. E. (2017). Chemical, thermal and physical characterization of inulin for its technological application based on the degree of polymerization. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12333. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12333>
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M. A., & Chemat, F. (2013). Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 47, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.007>
- Liu, Z., Li, H., Cui, G., Wei, M., Zou, Z., & Ni, H. (2021). Efficient extraction of essential oil from Cinnamomum burmannii leaves using enzymolysis pretreatment and followed by microwave-assisted method. *LWT*, 147, 111497. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111497>
- López-Hortas, L., Gannon, L., Moreira, R., Chenlo, F., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2018). Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG) processing of *Laminaria ochroleuca* brown seaweed. *Journal of Cleaner Production*, 197, 1108–1116. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.274>
- López-Hortas, Lucía, Conde, E., Falqué, E., & Domínguez, H. (2016). Flowers of *Ulex europaeus* L. – Comparing two extraction techniques (MHG and distillation). *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 718–725. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2015.11.027>
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2008). Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(4), 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.11.001>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Mahdavi, A. S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Mäkelä, M., Kwong, C. W., Broström, M., & Yoshikawa, K. (2017). Hydrothermal treatment of grape marc for solid fuel applications. *Energy Conversion and Management*, 145, 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.05.015>
- Makris, D. P., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.04.010>
- Maroun, R. G., Rajha, H. N., Vorobiev, E., & Louka, N. (2017). Emerging technologies for the recovery of valuable compounds from grape processing by-products. *Handbook of Grape Processing by-Products: Sustainable Solutions* 155–181 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809870-7.00007-7>
- Martins, I. M., Roberto, B. S., Blumberg, J. B., Chen, C. Y. O., & Macedo, G. A. (2016). Enzymatic biotransformation of polyphenolics increases antioxidant activity of red and white grape pomace. *Food Research International*, 89, 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.009>
- Medouni-Adrar, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Cadot, Y., Medouni-Haroune, L., Dahmoune, F., Makhoukhe, A., & Madani, K. (2015). Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. *Industrial Crops and Products*, 77, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.039>
- Melo, P. S., Massarioli, A. P., Denny, C., Dos Santos, L. F., Franchin, M., Pereira, G. E., et al. (2015). Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry*, 181, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.087>
- Moreno, J., Gonzales, M., Zúñiga, P., Petzold, G., Mella, K., & Muñoz, O. (2016). Ohmic heating and pulsed vacuum effect on dehydration processes and polyphenol component retention of osmodehydrated blueberries (cv. Tifblue). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.005>
- Moreno, T., Cocero, M. J., & Rodríguez-Rojo, S. (2018). Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. *Food and Bioprocess Technology*, 112, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.08.011>
- Morsy, N. F. S. (2020). Production of thymol rich extracts from ajwain (*Carum copticum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) using supercritical CO<sub>2</sub>. *Industrial Crops and Products*, 145, 112072. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112072>
- Muhlack, R. A., Potumarthi, R., & Jeffery, D. W. (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. *Waste Management*, 72, 99–118. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.011>
- Murga, R., Ruiz, R., Beltran, S., & Cabezas, J. L. (2000). Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3408–3412. <https://doi.org/10.1021/jf9912506>
- Nayak, A., Bhushan, B., Rosales, A., Turienzo, L. R., & Cortina, J. L. (2018). Valorisation potential of Cabernet grape pomace for the recovery of polyphenols: Process intensification, optimisation and study of kinetics. *Food and Bioprocess Technology*, 109, 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.004>
- Niu, D., Ren, E. F., Li, J., Zeng, X. A., & Li, S. L. (2021). Effects of pulsed electric field-assisted treatment on the extraction, antioxidant activity and structure of naringin. *Separation and Purification Technology*, 265, 118480. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118480>
- Nunes, G. L., de Etchepare, M., Cichoski, A., Zepka, A. J., Jacob, L. Q., Lopes, E., et al. (2018). Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>
- Nunes, G. L., Marques, T., Holkem, A. T., Schley, V., & de Menezes, C. R. (2015). Microencapsulation of probiotic cultures: principles of spray drying method. *Ciência e Natura*, 37, 132–141. <https://doi.org/10.5902/2179-460X19742>
- OIV. (2020). International Organisation of Vine and Wine (OIV). *Advanced Search on Database*. <http://www.oiv.int/en/statistiques/recherche?year=2016&countryCode=oiv>. Accessed 5 August 2020
- Oliveira, D. A., Salvador, A. A., Smânia, A., Smânia, E. F. A., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. S. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, 164(3), 423–432. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.09.014>



- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272, 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>
- Pallarés, N., Berrada, H., Tolosa, J., & Ferrer, E. (2021). Effect of high hydrostatic pressure (HPP) and pulsed electric field (PEF) technologies on reduction of aflatoxins in fruit juices. *LWT*, 142, 111000. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111000>
- Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2014). Impact of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on extraction of high-added value compounds from papaya peels. *Food Research International*, 65(PC), 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.015>
- Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2016). Extraction assisted by pulsed electric energy as a potential tool for green and sustainable recovery of nutritionally valuable compounds from mango peels. *Food Chemistry*, 192, 842–848. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.096>
- Pedras, B., Salema-Oom, M., Sá-Nogueira, I., Simões, P., Paiva, A., & Barreiros, S. (2017). Valorization of white wine grape pomace through application of subcritical water: Analysis of extraction, hydrolysis, and biological activity of the extracts obtained. *Journal of Supercritical Fluids*, 128, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.05.020>
- Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., Calhelha, R. C., Barros, L., Pinho, S. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, 253, 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163>
- Pereira, R. N., Coelho, M. I., Genisheva, Z., Fernandes, J. M., Vicente, A. A., Pintado, M. E., & Teixeira, e. J. A. . (2020). Using Ohmic Heating effect on grape skins as a pretreatment for anthocyanins extraction. *Food and Bioprocess Processing*, 124, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.09.009>
- Pereira, R. N., Rodrigues, R. M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2016). Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 493–503. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.074>
- Pérez, L., Conde, E., & Domínguez, H. (2014). Microwave hydrodiffusion and gravity processing of *Sargassum muticum*. *Process Biochemistry*, 49(6), 981–988. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.02.020>
- Périno-Issartier, S., Zill-e-Huma, A.-V., & M., & Chemat, F. . (2011). Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 1020–1028. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0438-x>
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M. F., Ak, G., & Zengin, G. (2021). Conventional versus green extraction techniques - A comparative perspective. *Current Opinion in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009>
- Pinelo, M., Ruiz-Rodríguez, A., Sineiro, J., Señoráns, F. J., Reglero, G., & Núñez, M. J. (2007). Supercritical fluid and solid-liquid extraction of phenolic antioxidants from grape pomace: A comparative study. *European Food Research and Technology*, 226(1–2), 199–205. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0526-3>
- Pintač, D., Majkić, T., Torović, L., Orčić, D., Beara, I., Simin, N., et al. (2018). Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. *Industrial Crops and Products*, 111, 379–390. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.038>
- Pootao, S., & Kanjanapongkul, K. (2016). Effects of ohmic pretreatment on crude palm oil yield and key qualities. *Journal of Food Engineering*, 190, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.06.021>
- Poshadri, a, & Kuna, A. . (2010). Microencapsulation technology: A review. *The Journal of Research ANGRAU*, 38(1), 86–102.
- Poveda, J. M., Loarce, L., Alarcón, M., Díaz-Maroto, M. C., & Alañón, M. E. (2018). Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, 112, 617–625. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.063>
- Prozil, S. O., Evtuguin, D. V., & Lopes, L. P. C. (2012). Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.035>
- Puértolas, E., López, N., Saldaña, G., Álvarez, I., & Raso, J. (2010). Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. *Journal of Food Engineering*, 98(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.017>
- Puértolas, Eduardo, & Barba, F. J. (2016). Electrotechnologies applied to valorization of by-products from food industry: Main findings, energy and economic cost of their industrialization. *Food and Bioprocess Processing*. Institution of Chemical Engineers. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.020>
- Qadariyah, L., Gala, S., Widoretno, D. R., Kunhermanti, D., Bhuana, D. S., Sumarno, & Mahfud, M. (2017). Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* lamk) wood waste as a textile natural dye by microwave-assisted extraction method. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1840, p. 100007). American Institute of Physics Inc. <https://doi.org/10.1063/1.4982324>
- Rajha, H., Ziegler, W., Louka, N., Hobaika, Z., Vorobiev, E., Boechzelt, H., & Maroun, R. (2014). Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), 18640–18658. <https://doi.org/10.3390/ijms151018640>
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311–319. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00228-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4)
- Ravi, H. K., Breil, C., Vian, M. A., Chemat, F., & Venskutonis, P. R. (2018). Biorefining of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) pomace using microwave hydrodiffusion and gravity, ultrasound-assisted, and bead-milling extraction. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(3), 4185–4193. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04592>
- Rebello, L. P. G., Lago-Vanzela, E. S., Barcia, M. T., Ramos, A. M., Stringheta, P. C., Da-Silva, R., et al. (2013). Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS RubeaxIAC 1398–21) using HPLC–DAD–ESI–MS/MS. *Food Research International*, 54(1), 354–366. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>
- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Ribeiro, M. A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2019). Microencapsulation of polyphenols - The specific case of the microencapsulation of *Sambucus Nigra* L. extracts - A review. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.011>
- Rocha, C. M. R., Genisheva, Z., Ferreira-Santos, P., Rodrigues, R., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., & Pereira, R. N. (2018, April 1). Electric field-based technologies for valorization of bioreources. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.068>
- CB Rocha da CPZ Noreña 2020 Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace Drying Technology 1–15 <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004>

- Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Rizelio, V. M., de Gonçalves, A. E., & S. S., Genovese, M. I., & Fett, R. (2011). 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*, 44(4), 897–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049>
- Rondeau, P., Gambier, F., Jolibert, F., & Brosse, N. (2013). Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. *Industrial Crops and Products*, 43, 251–254. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.053>
- da Rosa, J. R., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rychnecki Hecktheuer, L. H., et al. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742–748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>
- da Rosa, J. R., Weis, G. C. C., Moro, K. I. B., Robalo, S. S., Assmann, C. E., da Silva, L. P., et al. (2021). Effect of wall materials and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated blueberry extract. *Lwt*, 142, 111027. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111027>
- Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. L., Martelli-Tosi, M., da Silva, M. P., Makimori, G. Y. F., & Favaro-Trindade, C. S. (2020). Utilization of grape pomaces and brewery waste *Saccharomyces cerevisiae* for the production of bio-based microencapsulated pigments. *Food Research International*, 136, 109470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109470>
- Saavedra-Leos, M. Z., Leyva-Porras, C., Martínez-Guerra, E., Pérez-García, S. A., Aguilar-Martínez, J. A., & Álvarez-Salas, C. (2014). Physical properties of inulin and inulin-orange juice: Physical characterization and technological application. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.079>
- Saberian, H., Hamidi-Esfahani, Z., Ahmadi Gavlighi, H., & Barzegar, M. (2017). Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 117, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2017.03.025>
- Sangpradab, J., Kamonpatana, P., Suwannaporn, P., Huang, T.-C. (2021). Ohmic heating-aided mechanical extraction of gamma-oryzanol and phytoosterols in rice bran oil. *Food and Bioprocess Technology* 1–13 <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02655-6>
- Sarfarazi, M., Jafari, S. M., Rajabzadeh, G., & Galanakis, C. M. (2020). Evaluation of microwave-assisted extraction technology for separation of bioactive components of saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products*, 145, 111978. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111978>
- Sarkis, J. R., Jaeschke, D. P., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2013). Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.024>
- Sarkis, J. R., Mercali, G. D., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2013). Evaluation of key parameters during construction and operation of an ohmic heating apparatus. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.001>
- Seidi Damyeh, M., & Niakousari, M. (2017). Ohmic hydrodistillation, an accelerated energy-saver green process in the extraction of *Pulicaria undulata* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 98, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.029>
- Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T. P., Torres, C., Oliveira, A. M. P., et al. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control*, 92, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.031>
- Simeoni, C. P., de Etchepare, M. A., Menezes, C. R., de Fries, L. M., Menezes, M. F. C., & Stefanello, F. S. S. (2014). Microencapsulation of probiotics: technological innovation in the food industry. *Revista Eletrônica Em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, 18, 66–75. <https://doi.org/10.5902/2236117013020>
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2016). Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. *Food Chemistry*, 206(2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.033>
- Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105506. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2021.105506>
- Sirohi, R., Tarafdar, A., Singh, S., Negi, T., Gaur, V. K., Gnansounou, E., & Bharathiraja, B. (2020). Green processing and biotechnological potential of grape pomace: Current trends and opportunities for sustainable biorefinery. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123771>
- Søltoft, M., Christensen, J. H., Nielsen, J., & Knuthsen, P. (2009). Pressurised liquid extraction of flavonoids in onions. *Method Development and Validation. Talanta*, 80(1), 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.06.073>
- De Souza, V. B., Fujita, A., Thomazini, M., Da Silva, E. R., Lucon, J. F., Genovese, M. I., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, 164, 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.049>
- De Souza, V. B., Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., & Favaro-Trindade, C. S. (2015). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and Bioprocess Technology*, 93, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.11.001>
- Sri, S. J., Seethadevi, A., Prabha, K. S., Muthuprasanna, P., & Pavitra, P. (2012). Microencapsulation: A review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1), 509–531.
- Šturm, L., Osojnik Črnivec, I. G., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., et al. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioprocess Technology*, 116, 196–211. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.05.008>
- Suave, J., Dall'agnol, E. C., Pezzin, A. P. T., Silva, D. A. K., Meier, M. M., & Soldi, V. (2006). Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Ambiente/ Health and Environment Journal*, 7(2), 12–20.
- Tamkutė, L., Liepuoniūtė, R., Pukalskienė, M., & Venskutonis, P. R. (2020). Recovery of valuable lipophilic and polyphenolic fractions from cranberry pomace by consecutive supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 159, 104755. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104755>
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., & Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms150915638>
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001>
- Tolun, A., Artik, N., & Altintas, Z. (2020). Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract. *Food Chemistry*, 302, 125347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125347>
- Tsali, A., & Goula, A. M. (2018). Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. *Powder Technology*, 340, 194–207. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.011>
- Turk, M., Perino, S., Cendres, A., Petitcolas, E., Soubrat, T., & Chemat, F. (2017). Alternative process for strawberry juice processing: Microwave hydrodiffusion and gravity. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.030>

- Valadez-Carmona, L., Ortiz-Moreno, A., Ceballos-Reyes, G., Mendiola, J. A., & Ibáñez, E. (2018). Valorization of cacao pod husk through supercritical fluid extraction of phenolic compounds. *Journal of Supercritical Fluids*, *131*, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.011>
- Vian, M. A., Allaf, T., Vorobiev, E., & Chemat, F. (2014). Solvent-Free Extraction: Myth or Reality? In G. C. and S. Technology. (Ed.), *In: Chemat F., Vian M. (eds) Alternative Solvents for Natural Products Extraction*. (pp. 25–38). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43628-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43628-8_2)
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, *46*(2), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.027>
- Yamashita, C., Chung, M. M. S., dos Santos, C., Mayer, C. R. M., Moraes, I. C. F., & Branco, I. G. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *LWT - Food Science and Technology*, *84*, 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.063>
- Yedhu Krishnan, R., & Rajan, K. S. (2016). Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: Study of kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technology*, *157*, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.11.035>
- Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science & Technology*, *48*(2), 221–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>
- Zhang, C., Zhao, W., Yan, W., Wang, M., Tong, Y., Zhang, M., & Yang, R. (2021). Effect of pulsed electric field pretreatment on oil content of potato chips. *LWT*, *135*, 110198. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110198>
- Zhang, J., Feng, C., Xu, H., Tan, X., Hagedoorn, P. L., & Ding, S. (2019). Enhanced hypericin extraction from *Hypericum perforatum* L. by coupling microwave with enzyme-assisted strategy. *Industrial Crops and Products*, *137*, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.036>
- Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliveira, H., Yang, N., Jin, W., et al. (2020). Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. *LWT*, *123*, 109097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109097>
- Zhang, Z.-H., Wang, L.-H., Zeng, X.-A., Han, Z., & Brennan, C. S. (2019). Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13903>
- Zhu, L., Zhang, Y., & Lu, J. (2012). Phenolic contents and compositions in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(3), 3492–3510. <https://doi.org/10.3390/ijms13033492>
- Zill-e-Huma, A.-V., Elmaataoui, M., & Chemat, F. (2011). A novel idea in food extraction field: Study of vacuum microwave hydrodiffusion technique for by-products extraction. *Journal of Food Engineering*, *105*(2), 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.045>



5.2 ARTIGO 2 - Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity

Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., Ferreira, D. de F., Speroni, C. S., Barin, J. S., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2021). Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *LWT - Food Science and Technology*, 150, 112066. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>

Esta é uma versão pós-revisão por pares e pré-edição de um artigo publicado em *LWT - Food Science and Technology*. A versão final autenticada está disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>.

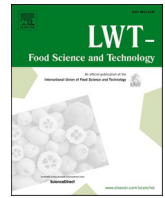
Reproduzido com permissão da Elsevier.





Contents lists available at ScienceDirect

LWT

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt)

# Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity

Karine Inês Bolson Moro<sup>a,\*</sup>, Ana Betine Beutinger Bender<sup>a</sup>, Daniele de Freitas Ferreira<sup>a</sup>,  
Caroline Sefrin Speroni<sup>a</sup>, Juliano Smanioto Barin<sup>a</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>b</sup>, Neidi Garcia Penna<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Technology and Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

<sup>b</sup> Department of Animal Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Winemaking by-product  
cv. Merlot and Cabernet Sauvignon  
Green extraction  
Co-product  
Antioxidant activity

## ABSTRACT

Food processing has been gradually adopting the use of clean technologies that aim to minimize the generation of by-products. The use of winemaking by-products for the extraction of phenolic compounds is still incipient due to the lack of fast and efficient techniques. Thus, the aim of this study was to use the Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) technique to extract phenolic compounds from a winemaking by-product, the grape pomace (GP). The phenolic content of the extracts was analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Physicochemical and antioxidant properties were evaluated in the MHG extracts and in the GP before and after (co-product - CP) extraction. The GP had significant antioxidant properties and good yields in operating conditions of 2 W/g. Hydroxybenzoic acid, procyanidins, flavan-3-ols, and one flavanol were the phenolic compounds identified. The CP maintained the physicochemical and antioxidant properties similar to the GP.

## 1. Introduction

Food processing has gradually adopted the use of “clean” or “green” technologies, which aim to minimize the generation of by-products and maximize the efficient use of resources. The better use of by-products from the food industry through new processes allows the combination of productivity with environmental efficiency (Chemat et al., 2019; Moro, Bender, da Silva, & Penna, 2021).

Green Chemistry aims to use innovative techniques that are less harmful to the environment. In this sense, many ecofriendly techniques have been tested to optimize the extraction of phenolic compounds from agroindustrial by-products (Moro et al., 2021; Wijngaard, Hossain, Rai, & Brunton, 2012). According to Barba, Zhu, Koubaa, Sant’Ana, and Orlien (2016), the concentration of phenolic compounds in the extract depends on the food matrix and the technology applied for the extraction. The type of matrix used is a decisive condition for analyzing and exploring these compounds. An extraction method should be quantitative, not destructive and performed in a shorter time (Crupi, Dipalmo, Clodoveo, Toci, & Coletta, 2018). Therefore, the “green” extraction is based on the design of processes that reduce energy consumption and allow the use of alternative, renewable solvents that ensure safe and quality products (Moro et al., 2021).

Grape (*Vitis* sp.) is one of the most produced fruits worldwide with a production over 75 millions of tons every year (OIV, 2020). Grape is rich in carbohydrates, organic acids, vitamins, minerals, and phenolic compounds (Moro et al., 2021; Pintac et al., 2018). In the grape berry, some polyphenols, such as flavanols, flavonols, anthocyanins and stilbens, are mainly located in the skins, while others, such as catechins and procyanidins, are present only in the seeds (Beres et al., 2017; Silva et al., 2018) in concentrations that vary according to the terroir (Crupi et al., 2018). Grape phenolic compounds are known for their biological effects as antioxidants, antimicrobials, and enzyme modulators (Silva et al., 2018). The antioxidant properties of these compounds have beneficial biological activities, for example, anti-inflammatory (Maurer et al., 2019; Toaldo et al., 2016), antiproliferative (Martins, Macedo, & Macedo, 2020), antimicrobial, anti-carcinogenic and anti-mutagenic (Beres et al., 2017; Silva et al., 2018).

Around 80% of the world grape production is manufactured as wine and derivatives and, consequently, large amounts of by-products are generated annually (Beres et al., 2017). Grape pomace (GP, hereafter) is the main solid residue in the wine chain, representing 20% to 30% of the total volume of vinified grapes, consisting mainly of skin, seeds and pulp residues (Moro et al., 2021; Silva et al., 2018). The treatment and disposal of the by-product represents an economic and environmental

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [karini\\_moro@hotmail.com](mailto:karini_moro@hotmail.com), [karine.ibm@gmail.com](mailto:karine.ibm@gmail.com) (K.I.B. Moro).

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>

Received 10 July 2020; Received in revised form 30 June 2021; Accepted 1 July 2021

Available online 2 July 2021

0023-6438/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

challenge since only 3% of this waste is recovered or reused (Garrido et al., 2019). The reuse of this by-product has a great impact on waste reduction of nutrients (Beres et al., 2017; Melo et al., 2011), allowing to combine environmental, economic and social gains. Winemaking by-products are recognized sources of phenolic compounds and, it is estimated that, about, 70% of the content remains in the by-product (Beres et al., 2017). Therefore, the potential use of this by-product can be a promising alternative, but it is still incipient at the industrial level due to the lack of fast and effective techniques for extracting these compounds (Wijngaard et al., 2012).

The Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) technique combines microwave and gravity, and it has the potential for many extractive applications (Zill-e-Huma, Abert-Vian, Elmaataouri, & Chemat, 2011a). The MHG represents an efficient, economical, and clean alternative since it requires less energy and little or no use of solvents (Calinescu et al., 2017; Chemat et al., 2019; Moro et al., 2021; Zill-e-Huma, Abert Vian, Maingonnat, & Chemat, 2009). The microwaves interact with polar molecules such as those of water (generating heat) and allow to access the biological matrices (Chemat et al., 2019; Wijngaard et al., 2012). This interaction triggers the extravasation of cellular content (phytochemicals), the extract undergoes gravity action and is collected in a collection flask (Ferreira et al., 2020; Moro et al., 2021). The MHG system can be applied on an industrial and laboratory scale to extract pigments, aromatic components and antioxidants from plant materials (Li, Fabiano-Tixier, Vian, & Chemat, 2013; Périno, Pierson, Ruiz, Cravotto, & Chemat, 2016; Ravi, Breil, Vian, Chemat, & Venskutonis, 2018).

MHG has been used for extraction in different food matrices, such as aromatic and citric plants, for the extraction of essential oil, in by-products, such as onion (*Allium cepa* L.), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and in marine macroalgae (*Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt), in order to obtain phenolic compounds (Ferreira et al., 2020; Jacotet-Navarro et al., 2016; Pérez, Conde, & Domínguez, 2014; Zill-e-Huma, Abert-Vian, Elmaataoui, & Chemat, 2011b). However, to our knowledge, the use of this technique to extract phenolic compounds from the GP, the winemaking by-product, has not yet been investigated. In this context, the aim of the present study was to use the MHG technique to extract phenolic compounds from the GP, and evaluate the phenolic content in the extracts, the physicochemical properties and antioxidant activity of by-products before (GP) and after (CP) MHG extraction.

## 2. Material and methods

### 2.1. Chemicals

Gallic acid, 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) and fluorescein were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Folin-Ciocalteu reagent was obtained from Merck (Darmstadt, Germany). For the chromatography analysis the analytical standards Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA were used. Acetonitrile and methanol were purchased from J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). Formic acid was purchased from Tedia (Fairfield, OH, USA). Water was obtained from a Millipore Milli-Q System (Millipore SAS, Molsheim, France).

### 2.2. Plant material

GP from red Merlot and Cabernet Sauvignon cultivars were supplied by Vinícola Velho Amâncio [Central region/Itaara, RS, Brazil (−29° 39' 16.7" S; −53° 46' 37.9" W)] and Vinícola Guatambu Estância do Vinho [Campaign region/Dom Pedrito, RS, Brazil (−30° 55' 03.2" S; −54° 47' 40.7" W)], in the 2018/2019 harvest. After fermenting for 2–3 weeks, the pomace was pressed ( $\cong$  150 kg) and,  $\cong$  30 kg collected at different

points on the press and, stored at −18 °C for further analysis. Four distinct samples of GP, coded as: sample I, Merlot cultivar (Central region); sample II, Cabernet Sauvignon cultivar (Central region); sample III, Merlot cultivar (Campaign region); Sample IV, Cabernet Sauvignon cultivar (Campaign region) were used in this study.

### 2.3. Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) extraction

The MHG extraction was performed in a NEOS-GR microwave oven (Milestone, Bergamo, Italy) at a frequency of 2.4 GHz and a maximum power of 900 W  $\pm$  10 W (Fig. 1). The extraction of phenolic compounds was performed with 40 mL of distilled water added to 200 g of frozen GP (−18 °C). The sample was homogenized and then, was placed in the extraction vessel and submitted to powers of 200, 300, 400 and, 500 W, respectively, under atmospheric pressure. A preliminary study was carried out to determine the ideal extraction conditions for the GP used, based on the extraction time and the yield obtained. During the extraction, the temperature was monitored by an internal infrared sensor (coupled to the MHG), reaching approximately 80 °C at the end of each extraction. When the samples were submitted to the MHG, they produced two extracts: the first colored and the second colorless. As proposed by Ravi et al. (2018), only the first extract was collected, and the yield was measured by the monitoring of volumes in a measuring cylinder (colored and non colored extracts). Afterwards, the colored fraction was lyophilized (TERRONI, LS 3000 model, Brazil) and the resulting powder stored at −18 °C for further analysis. The GP remained in the flask after the extraction process, called co-product (CP, hereafter), was also collected, lyophilized and stored at −18 °C for later analysis. The extractions of each sample were performed in triplicates and the mean values were reported.

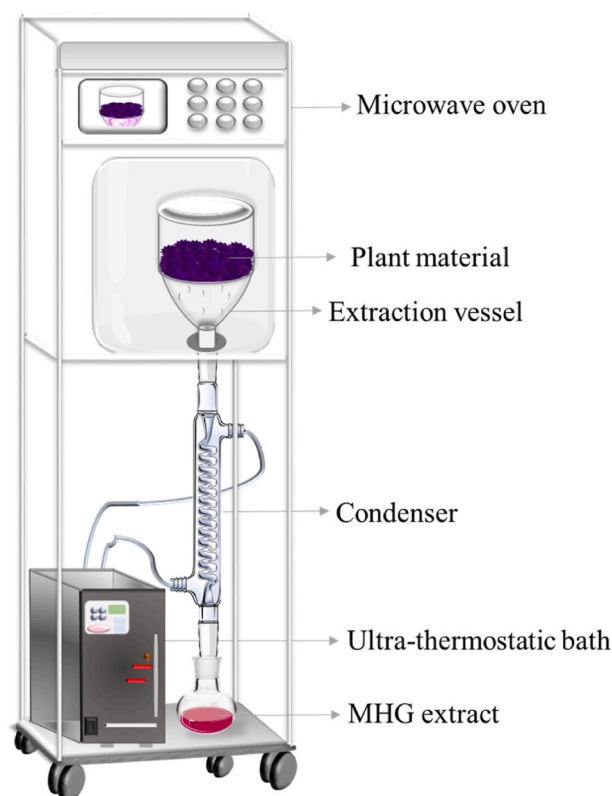


Fig. 1. Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) apparatus.



## 2.4. Phenolic composition and antioxidant activity of GP extracts and CP from MHG extraction

### 2.4.1. Phenolic compounds extraction

The phenolic compounds were extracted according to Melo et al. (2015) with modifications. Initially, 1 g of the sample (in dry weight) (extract MHG, GP or CP) was weighed and 10 mL of the ethanol/water solution (80:20, v/v) was added. Then, the mixture was conducted in ultrasound bath (MaxiClean, model 1600A, Brazil) at room temperature ( $23 \pm 1$  °C) for 15 min. Subsequently, the mixture was centrifuged at 3000 g/15 min at room temperature ( $23 \pm 1$  °C), the supernatant was collected, and immediately stored at  $-18$  °C to sequentially evaluate the total phenolic compounds, phenolic compounds profile (HPLC), monomeric anthocyanins and antioxidant activity (ABTS, FRAP, and ORAC assays).

### 2.4.2. Total phenolic content (TPC)

The analysis was performed according to the Folin–Ciocalteu spectrophotometric method modified from Singleton and Rossi (1965). Twenty microliters of the standard (gallic acid) or sample diluted with 80% ethanol (v/v), 100  $\mu$ L of Folin–Ciocalteu phenol reagent solution, and 80  $\mu$ L of 7.5% (w/v) sodium carbonate solution were added into a microplate. The reading was taken at 765 nm after 2 h of reaction in a microplate reader (Eppendorf, model AF2200, Hamburg, Germany). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) per 100 g of sample in dry weight (DW).

### 2.4.3. Determination of phenolic acids, flavanols, and flavonols by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

The identification and quantification of phenolic compounds follow the method proposed by Melo et al. (2015) only in the extracts obtained by MHG extraction. The samples were extracted with methanol/water solution (80:20, v/v) and the extracts were filtered (0.22  $\mu$ m, polytetrafluoroethylene - PTFE) before High Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis.

Phenolic compounds were quantified in an HPLC system (Shimadzu, Japan Co., Kyoto, Japan) equipped with LC-6AD quaternary pumps, SIL-10AF auto injector, DGU-2A degasser, SCL-10AVP communication module, CTO-10ASVP column oven and, SPD-M10AVP photodiode array detector. The system was coupled to a reversed phase column Agilent C18 ODS (5  $\mu$ m;  $4.6 \times 250$  mm). Compound phenolic extracts aliquots (20  $\mu$ L) were injected at a flow rate of 1 mL/min at 28 °C. The mobile phase consisted of water/formic acid (99.9/0.1, v/v) (mobile phase A) and acetonitrile/formic acid (99.9/0.1, v/v) (mobile phase B). The gradient started with 5% of solvent B to 7% of B in 7 min, 20% of B in 50 min, 45% of B in 70 min, 100% of B in 85 min, maintained at 100% of B for 10 min, and decreasing to 5% of B in 100 min.

There was monitored 24 phenolic compounds. All the compounds were compared to authentic standards (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA, 99% purity). The vanillic acid was quantified at 260 nm. Catechin, epicatechin, epicatechin gallate, chrysin, hesperidin, hesperitin, procyanidin B1, procyanidin B2 and the gallic, ferulic, *trans*-cinnamic, syringic acids were quantified at 280 nm. The coumaric acid, polydatin, resveratrol, were quantified at 310 nm. The synapic acid were quantified at 315 nm. The caffeic acid were quantified at 320 nm against. The vitexin was quantified at 340 nm. Luteolin, quercetin-3- $\beta$ -D-glucoside and rutin were quantified at 350 nm. Myricetin and quercetin were quantified at 370 nm.

### 2.4.4. Determination of the total monomeric anthocyanin

The total monomeric anthocyanin was evaluated according to the differential pH methodology described by Giusti and Wrolstad (2001). The method is based on the structural changes suffered by anthocyanin in the pH range between 1.0 and 4.5 and can be observed by optical spectroscopy. The extracts were diluted in 0.025 mol/L potassium chloride buffer (KCl) (pH 1.0) and 0.4 mol/L sodium acetate buffer (pH

4.5), with measurements conducted at 515 and 700 nm using a spectrophotometer UV-VIS (Biospectro, SP-220, Brazil). The results were expressed as mg equivalent malvidin-3-glucoside per 100 g of sample in dry weight (DW).

### 2.4.5. Antioxidant activity

There is no universal assay that estimates accurately all the antioxidant activity of a complex system. The antioxidant activity, analyzed by different methods, has different characteristics and mechanisms of action. Thus, it is necessary to use at least two complementary methods to assess the in vitro antioxidant activity of a sample. Therefore, the antioxidant activity was evaluated in the GP extracts and CP from MHG extraction using the ABTS, FRAP and, ORAC assays.

**2.4.5.1. Scavenging activity of the ABTS<sup>•+</sup>.** The scavenging activity of the ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) was determined according to Re et al. (1999) with slight modifications. The ABTS radical cation is generated prior to oxidation with persulfate solution and is reduced in the presence of antioxidants, applicable to the study of both water-soluble antioxidants, pure compounds, and food extracts (Re et al., 1999). A total of 270  $\mu$ L of the ABTS<sup>•+</sup> solution was pipetted to a microplate and the reading was performed at 750 nm in a microplate reader (Eppendorf, model AF2200, Hamburg, Germany). After, 30  $\mu$ L of the standard (Trolox) or extract was added, and the absorbance at 750 nm was monitored for 15 min. The results were expressed as mmol equivalents of Trolox (TE) per 100 g of sample in dry weight (DW).

**2.4.5.2. Ferric reduction antioxidant power (FRAP) assay.** The method is based on the capacity of the sample to reduce ferric ion (Fe<sup>3+</sup>) to ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>), which is complexed with TPTZ (TPTZ-Fe<sup>2+</sup>), as described by Benzie and Strain (1996). Aliquots (20  $\mu$ L) of the standard (Trolox) or extract were pipetted into a microplate and, immediately, 180  $\mu$ L of FRAP reagent was added. The microplate was incubated at 37 °C for 30 min. The absorbance was measured at 593 nm in a microplate reader (Eppendorf, model AF2200, Hamburg, Germany). The results were expressed as mmol TE per 100 g of sample in dry weight (DW).

**2.4.5.3. Oxygen radical absorbance capacity assay.** The Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) is based on the generation of peroxy radical by reacting oxygen with AAPH (2,2'-azobis dichloride (2-amidinopropane)). The compound reacts with the fluorescent indicator (fluorescein) to form a non-fluorescent product. The antioxidant activity is assessed by inhibiting the peroxy radical-induced oxidation through hydrogen transfer. The analysis was performed as described by Ou, Hampsch-Woodill, and Prior (2001). Extracts aliquots (25  $\mu$ L) of the standard (Trolox) or extract were pipetted into a microplate, added with 150  $\mu$ L of fluorescein solution (0.081  $\mu$ mol/L), and incubated for 10 min at 37 °C. Subsequently, 25  $\mu$ L of AAPH solution (0.152  $\mu$ mol/L) was added. The reduction of the fluorescence was measured by 90 min at 485 nm excitation and 528 nm emission in a microplate reader (Eppendorf, model AF2200, Hamburg, Germany). The results were expressed as mmol TE per 100 g of sample in dry weight (DW).

## 2.5. Proximate composition, physicochemical and mineral content analyses of GP and CP from MHG extraction

GP and CP from the MHG extraction were lyophilized and milled to a average particle size of 0.59 mm. The samples were evaluated for proximate composition - dry matter, ash, crude protein (N  $\times$  6.25), total dietary fiber (TDF), soluble fiber (SF), and insoluble fiber (IF) according to AOAC (1995) methods. The lipid content was measured according to the method described by Bligh and Dyer (1959).

The physicochemical analyses - Water Retention Capacity (WRC) and Oil Binding Capacity (OBC) - were determined according to

Femenia, Lefebvre, Thebaudin, Robertson, and Bourgeois (1997) with slight modifications. Initially, 1 g of the sample was weighed and mixed with 15 mL distilled water (for WRC) and 15 mL of soybean oil (for OBC). After hydrating for 24 h and centrifugation (3000 g/15 min) at room temperature ( $23 \pm 1$  °C), the supernatant was discarded. The results were expressed as grams of water/oil held by 1 g of sample (DW), respectively.

The Bulk Density (BD – g/mL) was estimated following Chau, Wang, and Wen (2007), in a 10 mL graduated cylinder, which was filled with a known volume of milled sample and gently tapped on the bench to better dispose the sample.

The pH analysis was performed according to Zenebon, Pascuet, and Tiglea (2008). The water activity (aw) was measured at 20 °C in a previously calibrated 4TEV Aqualab® (Meter group Inc., USA) apparatus, using 0.92 and 1.00 aw.

The mineral content were analyzed following methods proposed by Malavolta, Vitti, and De Oliveira (1987). Initially, 0.5 g of the sample were digested with 6 mL of nitro-perchloric solution (a mixture of nitric and perchloric acid at (4:0.5, v/v) ratio in a TE-040/25 digester block (Tecnal, São Paulo, Brazil). Phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), sulfur (S), copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn) and, zinc (Zn) were quantified by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) Analyst 3110 (Perkin Elmer, Norwalk, USA), according to methodology. The content of boron (B) was quantified after incineration of the sample (0.2 g), in a muffle at 550 °C for 3 h. The determination is based on the formation of a colored complex by the reaction of boric acid with the reagent azomethine H 0.45% (containing 1% ascorbic acid). The results were expressed as mg/kg of sample in dry weight (DW).

## 2.6. Statistical analysis

The extraction experiment (MHG) was replicated three times for each sample, and all subsequent analyzes were performed in triplicates. One-way ANOVA was conducted for the results obtained. Means were compared by Tukey's test and expressed as mean  $\pm$  standard error. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## 3. Results and discussion

### 3.1. Extraction kinetics and power optimization

A preliminary study was carried out to determine the ideal extraction conditions for the GP used, based on the extraction time and the yield obtained.

In order to determine the kinetics of extraction, the volume of extract obtained under different powers (200, 300, 400 and, 500 W) was plotted as a function of time. The extraction curves were obtained applying to

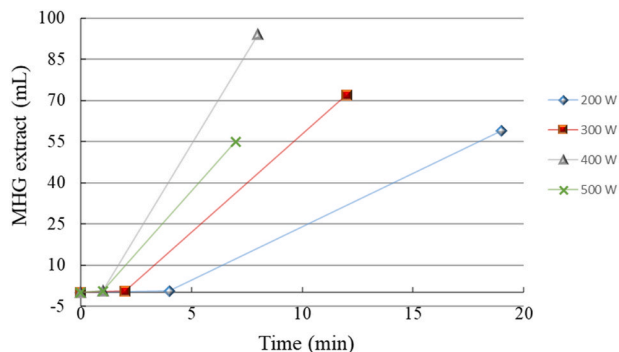


Fig. 2. Extraction curves of grape pomace *Vitis vinifera* L., cv. Merlot from Central region (200 g). Powers evaluated (W): 200, 300, 400 and, 500, with the extract yield profiles (mL) as a function of the grape pomace extraction time (min) by MHG technique.

the sample I different powers (200, 300, 400 and, 500 W) as shown in (Fig. 2). The extraction process begins with the induction time (without any extract recovery), it ends with the appearance of the first colored drop of the extract. After, constant increasing in the extraction flow rate occurs, ending with the appearance of the first colorless drop of the extract. The end of the extraction process occurs when the extract collected became colorless thus, the extraction has broken off. The power of 400 W (2 W/g) for 200 g of plant material was defined as optimal because it allows extracting the entire colored fraction of the GP (94 mL), in less than 10 min.

The atmospheric pressure and operating conditions of 2 W/g were applied to the samples (I, II, III and IV). This extraction condition also proved to be efficient in the preservation of the phenolic compounds during extraction of *Sargassum muticum* extracts (Pérez et al., 2014). Powers lower than 1.5 W/g are inefficient for the complete extraction of flavonoids and powers higher than 2.5 W/g can damage phenolic compounds (Zill-e-Huma et al., 2009). In addition, the efficient performance of the MHG depends on the humidity of the plant material, sample integrity, temperature and extraction time (Barba, Zhu, Koubaa, Sant'Ana, & Orlie, 2016; Zill-e-Huma et al., 2009). The aqueous system absorbs more energy than it can dissipate. This phenomenon increases the temperature and induce changes in the material structure allowing the extravasation of cellular content followed by the release of water enriched with phenolic compounds (Caldas et al., 2018; Pérez et al., 2014). In the present study, water was the only solvent added because, it is a naturally abundant, easily available and is considered the greenest solvent, as it is safe, non-toxic, non-corrosive, non-flammable and environmentally friendly (Chemat et al., 2019).

### 3.2. Identification and quantification of phenolic compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Seven phenolic compounds of four distinct classes were identified in the present study: gallic, syringic and vanillic acids (hydroxybenzoic acids), procyanidin B2 (proanthocyanidin), catechin and epicatechin (flavan-3-ols), and quercetin (flavonol) (Table 1 and Supplementary material). The quantified levels of phenolic compounds were lower than those reported in GP of red cultivars (Peixoto et al., 2018), and in the cultivars Merlot and Cabernet Sauvignon (Panceri, Gomes, De Gois, Borges, & Bordignon-Luiz, 2013). The different quantified levels of extractable phenolic compounds may be related to the terroir and the enological practices to which the grapes were subjected or MHG extraction may not released certain compounds from food matrix. From these initial data, more detailed studies on the phenolic profile and its relation with MHG extraction technique should be made (Melo et al., 2015). Catechin, quercetin, and gallic, syringic and vanillic acids were identified and quantified in all extracts obtained. Vanillic and gallic acids have shown beneficial effects such as, antimicrobial, anti-mutagenic and anticancer (Oliveira et al., 2013). Epicatechin was found in all samples, except for the sample IV, and its presence should be highlighted because it has antibacterial activity (Peixoto et al., 2018). The total content of phenolic compounds identified and quantified in the extracts, in the present study, ranged between samples from 4.4 to 1.1 µg/mg of extract.

Although the phenolic compounds are transferred to the must during the winemaking process, a significant amount remains in the by-products (Melo et al., 2015; Oliveira et al., 2013) such as hydroxybenzoic acids, proanthocyanidins, flavan-3-ols, flavonols and stilbenes (Beres et al., 2017). The compounds identified in the present study reveal the potential of MHG for recovering phenolic compounds from GP, with possible industrial applications and generation of products with high added value.

**Table 1**

Identification and quantification of phenolic compounds, total phenolic content and total monomeric anthocyanin on extracts obtained by MHG extraction.

Phenolic compounds ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Sample	Central region		Campaign region		Validation parameters		
		I	II	III	IV	LOD ( $\mu\text{g}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}$ )	Linearity ( $R^2$ )
<i>Hydroxybenzoic acids</i>								
Gallic acid		$0.99 \pm 0.1^a$	$0.61 \pm 0.0^b$	$0.24 \pm 0.0^d$	$0.40 \pm 0.0^c$	0.00522	0.0158	0.997
Syringic acid		$0.05 \pm 0.0^d$	$0.12 \pm 0.0^c$	$0.53 \pm 0.5^a$	$0.25 \pm 0.0^b$	0.000743	0.00225	0.998
Vanillic acid		$0.12 \pm 0.0^{bc}$	$0.08 \pm 0.0^c$	$0.15 \pm 0.0^{ab}$	$0.09 \pm 0.0^c$	0.00607	0.0184	0.999
<i>Proanthocyanidins</i>								
Procyanidin B2		$0.30 \pm 0.0$	ND	ND	ND	0.00592	0.0179	0.999
<i>Flavan-3-ols</i>								
Catechin		$1.37 \pm 0.3^a$	$0.23 \pm 0.0^b$	$0.09 \pm 0.0^b$	$0.10 \pm 0.1^b$	0.0088	0.0267	0.999
Epicatechin		$0.87 \pm 0.1^a$	$0.08 \pm 0.0^b$	$0.07 \pm 0.0^b$	ND	0.00867	0.0263	0.999
<i>Flavonol</i>								
Quercetin		$0.68 \pm 0.1^a$	$0.31 \pm 0.0^c$	$0.44 \pm 0.0^{ab}$	$0.25 \pm 0.0^c$	0.00469	0.0142	0.999
TPC (mg GAE/g DW)		$118.1 \pm 5.0^a$	$35.4 \pm 9.9^b$	$8.0 \pm 0.0^c$	$26.1 \pm 3.3^{bc}$			
TMA (mg eq malvidin-3-glucoside/g DW)		$11.1 \pm 0.9^a$	$13.1 \pm 1.3^a$	$4.7 \pm 2.9^c$	$7.3 \pm 0.7^{bc}$			

Values followed by different letters on the same line differed by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). TPC: total phenolic content; GAE: gallic acid equivalent; TMA: total monomeric anthocyanin; DW: dry weight; LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification. ND: not detected. Sample I: cv. Merlot (Central region); Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region); Sample III: cv. Merlot (Campaign region); Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region).

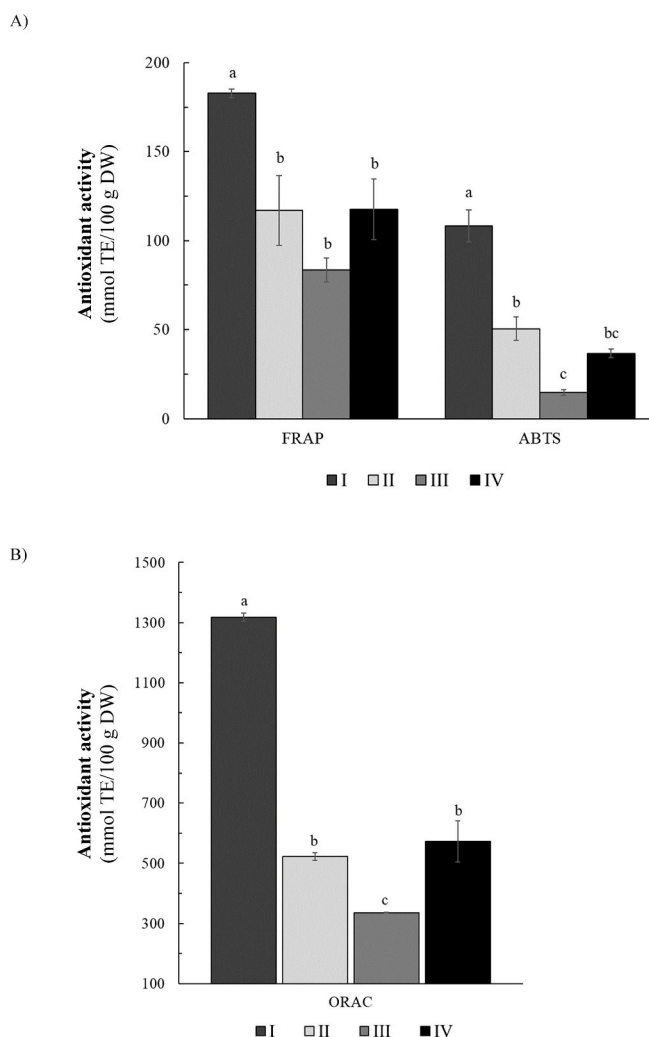
Results are expressed as mean  $\pm$  standard error ( $n = 3$ ).

### 3.3. Phenolic compounds and antioxidant activity of the extracts obtained by MHG extraction

The Total Phenolic Content (TPC) varied between cultivars and regions studied (Table 1). The highest TPC (118.1 mg GAE/g DW) was found for the sample I, while the lowest TPC (8.0 mg GAE/g DW) was noted for the sample III, both samples from the cultivar Merlot. The results indicate that the origin of the pomace greatly influences the TPC. The sample I showed higher values of TPC than those reported by Al Bittar, Périno-Issartier, Dangles, and Chemat (2013), in the phenolic extraction of GP by MHG (1 W/g for 20 min). This value was also higher than that obtained by Tournour et al. (2015) in 80% ethanol extraction of a mix of red grape cultivars for 48 h (104.1 mg GAE/g). The content reported here was also higher than those results found by using the conventional extraction method (Caldas et al., 2018; Panceri et al., 2013). Moreover, the TPC content was higher when compared to the microwave assisted extraction method and the combined ultrasound method to liquid-solid extraction for GP (Nayak, Bhushan, Rosales, Turienzo, & Cortina, 2018). In addition, the grape cultivars, enological practices, and the extraction processes can have a great influence on the TPC values (Bender et al., 2020; Beres et al., 2017; Caldas et al., 2018).

The Total Monomeric Anthocyanins (TMA) content varied according to the region of each cultivar. The cultivars from the Central region had the highest TMA (11.1 and 13.1 mg eq malvidin-3-glucoside/g DW, respectively), reaching values higher than those found in cultivars from the Campanha region (Table 1). Bender et al. (2020), who also use conventional extraction method and different cultivar, found lower content than those of the present study (5.69 mg eq malvidin-3-glucoside/g DW). In the study carried out by Al Bittar et al. (2013), who use the MHG extraction in GP reported 4.49 mg eq malvidin-3-glucoside/g DW in their extracts. Thus, it is possible to consider that the geographical origin, the extraction method and the winemaking processes influence the concentration of TMA in the extracts from GP.

The sample I extracts showed higher antioxidant activity among cultivars and regions studied, by the FRAP and ABTS methods ( $p < 0.05$ ; Fig. 3A). Regarding the ABTS assay, the values found in the present study were lower than those reported by Panceri et al. (2013) in the same cultivars, demonstrating that the antioxidant activity values can vary according to the terroir. In addition, studies have shown a positive correlation between TPC and FRAP assay (Ferri et al., 2016; Ky, Lorrain, Kolbas, Crozier, & Teissedre, 2014; Zhu et al., 2019), which could explain the higher capacity to reduce  $\text{Fe}^{3+}$  of the sample I. The ORAC values ranged of 1318 to 336.2 mmol TE/100 g DM (Fig. 3B). Although the ORAC assay is not usual to evaluate the antioxidant activity of



**Fig. 3.** Antioxidant activity of extracts obtained by MHG extraction. A) FRAP and ABTS methods. B) ORAC method.

Values followed by different letters differed by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Sample I: cv. Merlot (Central region); Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region); Sample III: cv. Merlot (Campaign region); Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region).

Results are expressed as mean  $\pm$  standard error ( $n = 3$ ).

extracts obtained by clean technologies, as MHG, its measurement is important since it represents the ability to remove peroxy radicals, which are generated in biological oxidative processes (Ou et al., 2001). The sample I also showed the highest peroxy radical scavenging activity (1318 mmol TE/100 g DW), followed by samples IV (572.5 mmol TE/100 g DW), II (522.2 mmol TE/100 g DW) and III (336.2 mmol TE/100 g DW). The ORAC and FRAP methods have been related with a greater reduction in the activation of NF-kb, which is a mediator of inflammatory responses (Camargo et al., 2019). Therefore, MHG extraction is shown to be an important method to recover phenolic compounds from GP with significant phenolic content and antioxidant activity, which can be incorporated into the human diet and promote promising health effects.

### 3.4. Total phenolic compounds and antioxidant activity of GP and CP

Regarding the ethanol/water extracts (80% v/v), from GP and CP, the TPC varied between the cultivars studied showing significant differences ( $p < 0.05$ ) (Table 2). The results for GP ranged of 5706 to 1517 mg GAE/100 g DW and 4992 to 2261 mg GAE/100 g DW for CP, values higher than those reported by Lingua, Fabani, Wunderlin, and Baroni (2016), in the same cultivars. For the sample I, the TPC was most expressive (5706 and 4992 mg GAE/100 g DW, GP and CP, respectively) in both by-products, showing that although the GP was submitted to the winemaking process and the MHG extraction, a significant fraction of TPC remained in the CP. This suggest that some phenolic compounds may be linked to the matrix or have not migrated to the colored extract, since the extraction was interrupted with the appearance of the first colorless drop of the extract, thus, remaining in CP.

The sample I showed higher anti-radical activity by the FRAP method (Fig. 4A), with values ranging of 41.9 to 37.2 mmol TE/100 g DW for GP and CP, respectively. By the ORAC assay, the extraction process showed no significant differences between GP and CP, except from the sample III ( $p < 0.05$ ; Fig. 4C). The highest ORAC values of GP and CP (444.7 and 446.2 mmol TE/100 g DW, respectively) from the sample I showed the highest bioactive potential, similar to those reported by Caldas et al. (2018) for GP extracts from red cultivars and higher than those showed by Bender et al. (2020), in the Malbec cultivar. The high

**Table 2**

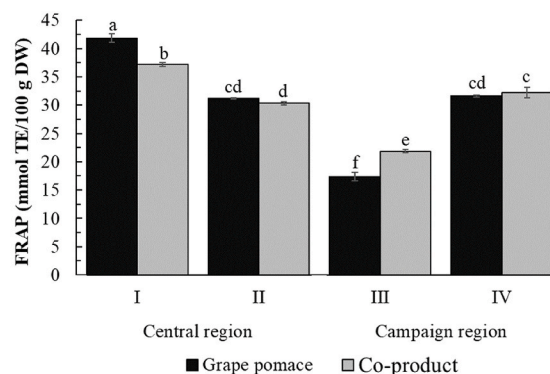
Influence of MHG extraction on the total phenolic content and total monomeric anthocyanin of grape pomaces and co-products.

	Sample	Grape pomace	Co-product
TPC (mg GAE/100g DW)	I	5706 ± 76.0 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	4992 ± 16.8 <sup>a</sup> <sub>B</sub>
	II	3549 ± 13.4 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	3642 ± 1.2 <sup>c</sup> <sub>A</sub>
	III	1517 ± 42.2 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	2261 ± 8.4 <sup>d</sup> <sub>A</sub>
	IV	3754 ± 57.9 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	3979 ± 47.7 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
TMA (mg eq malvidin-3-glucoside/100g DW)	I	396.2 ± 6.4 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	318.8 ± 0.3 <sup>a</sup> <sub>B</sub>
	II	365.8 ± 1.7 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	289.0 ± 11.2 <sup>b</sup> <sub>B</sub>
	III	90.2 ± 9.4 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	87.6 ± 1.3 <sup>d</sup> <sub>A</sub>
	IV	349.8 ± 15.7 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	218.5 ± 8.1 <sup>c</sup> <sub>B</sub>

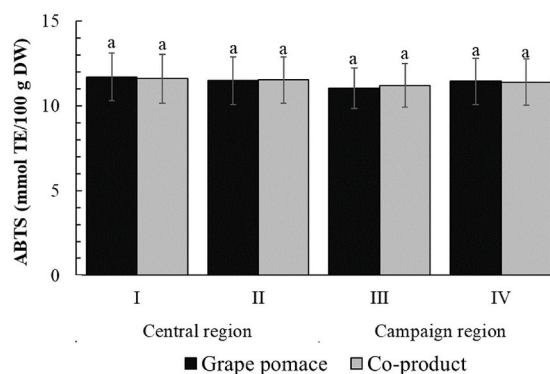
Values followed by different lower case letters in the same column indicate differences between them and values followed by different upper case letters in the same row, differing by Tukey's tests ( $p < 0.05$ ). TPC: total phenolic content; GAE: gallic acid equivalents; TMA: total monomeric anthocyanin; DW: dry weight. Sample I: cv. Merlot (Central region); Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region); Sample III: cv. Merlot (Campaign region); Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region).

Results are expressed as mean ± standard error (n = 3).

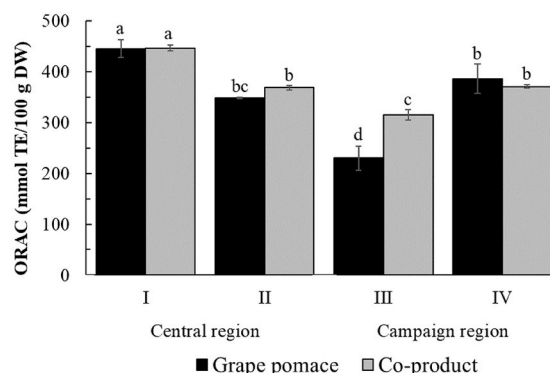
A)



B)



C)



**Fig. 4.** Antioxidant activity of winemaking by-products, grape pomace and co-product, from Merlot and Cabernet Sauvignon cultivars. A) FRAP method. B) ABTS method. C) ORAC method.

Values followed by different letters differed by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Sample I: cv. Merlot (Central region); Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region); Sample III: cv. Merlot (Campaign region); Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region). Results are expressed as mean ± standard error (n = 3).

antioxidant potential of CP is of great interest as peroxy is a biologically relevant radical, in addition to being the prevalent free radical in human body (Prior, 2015). Thus, like GP, CP can be incorporated into food matrices enabling the development of healthy products and with potential benefits to the human health. Regarding the ABTS method, no significant differences were observed between regions and cultivars ( $p < 0.05$ ; Fig. 4B). The ABTS values found were lower than those reported by Bennemann et al. (2018), for the same cultivars. The antioxidant activity of GP and CP suggests that the phenolic compounds present in the by-products showed significant scavenging free radical capacity and, therefore, are promising sources of primary antioxidant agents, of great

importance for the food industry (Bennemann et al., 2018). In addition, it was possible to determine that the antioxidant activity from both GP and CP was relevant considering the mechanism of reaction through hydrogen atom transfer when compared to electron transfer (Beres et al., 2019), as measured by ORAC, ABTS and, FRAP assays, respectively.

The results from GP and CP by different methods of anti-radical activity expressed variation, which suggests that the phenolic compounds of these by-products can exert this activity through different mechanisms, depending on the polarity of the reaction medium (Melo et al., 2011). The findings for CP should be highlighted since it showed an anti-radical capacity similar to GP, making feasible to include this by-product in human food, as an alternative for nutritional enrichment.

The total monomeric anthocyanin (TMA) ranged of 396.2 to 90.2 mg equivalent of malvidin-3-glucoside/100 g DM for GP (Table 2). The GP from samples I, II and IV showed the highest levels of TMA regardless of the cultivar and region. On the other hand, for the cultivar Merlot, higher TMA content was found for the Central region compared to the Campaign region. The results for the Campaign region are in agreement to Bennemann et al. (2018), who observed higher levels of TMA in the cultivar Cabernet Sauvignon compared to the cultivar Merlot.

In general, only 30% of the phenolic compounds are transfer to the wine during the winemaking, thus, remaining an expressive amount of the phenolic compounds in the GP after processing (Beres et al., 2017). However, the anthocyanins transfer from grapes during this process tends to be more efficient (Melo et al., 2015), since low amounts of anthocyanins remain in the GP in this study. Although submitted to the MHG extraction, the TMA content for CP was similar to GP, with values between 318.8 and 87.6 mg equivalent of malvidin-3-glucoside/100 g DW. The CP showed lower values compared to GP and, samples from the Central region showed higher TMA content compared to the Campaign region (Table 2). Anthocyanins have recognized beneficial effects in human health such as antioxidant substances, antimicrobials and capable of eliminating reactive oxygen species (Caldas et al., 2018; Rockenbach et al., 2011). The stability of monomeric anthocyanins is

influenced by intrinsic and extrinsic factors of the medium. Thus, the CP had lower TMA values possibly due to the heat to which it was subjected in the MHG system. However, expressive levels of anthocyanins are still present in CP enabling to use this by-product as a source of antioxidant agents.

### 3.5. Proximate composition, physicochemical and mineral content properties of GP and CP from MHG extraction

The ash content was significant different in GP and CP ( $p < 0.05$ ), for regions and cultivars studied (Table 3). The Merlot cultivar from the Central region showed lower values than Campaign region. However, a different behavior was observed for the Cabernet Sauvignon cultivar. According to Bender et al. (2016), changes in ash content may be associated with the cultivar, mineral availability in the soil, climate, irrigation, grape sanitary state at harvest time, among other factors.

The MHG extraction affected significantly the protein content for Merlot (Central region) and Cabernet Sauvignon (Campaign region) (Table 3). This constituent was the second largest component from GP. Lipid content was different in cultivars from the Central region ( $p < 0.05$ ). However, the content was higher in CP from Campaign region than GP. Lipid content presents in winemaking by-products ranges of 10–20% and is associated with the presence of seeds (Bender et al., 2016). The main constituent of GP was dietary fiber (soluble and insoluble) and the content ranged between cultivars and regions studied. The GP and CP showed similar content, which demonstrate that the MHG extraction does not change the fibrous matrix and acts on the aqueous fraction (Zill-e-Huma et al., 2009), maintaining the cellular structure of winemaking by-products. Dietary fiber has been recognized by its physiological effects on the human organism (Benítez, Mollá, Martín-Cabrejas, Aguilera, & Esteban, 2017). Thus, even after the MHG extraction, the CP has similar potential to GP for using in the development of products rich in dietary fiber.

In the winemaking by-products, the physicochemical properties

**Table 3**  
Proximate composition and physicochemical parameters of grape pomaces and co-products.

	Central region				Campaign region			
	I		II		III		IV	
	GP	CP	GP	CP	GP	CP	GP	CP
Proximate composition (g/100 g DW)								
Ash	7.3 ± 0.6 <sup>d</sup>	3.7 ± 0.1 <sup>e</sup>	10.3 ± 0.3 <sup>b</sup>	9.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	10.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	11.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	8.6 ± 0.2 <sup>c</sup>	4.4 ± 0.0 <sup>e</sup>
Crude protein	12.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	10.8 ± 0.2 <sup>d</sup>	11.9 ± 0.2 <sup>c</sup>	12.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	14.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	14.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	14.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	13.6 ± 0.2 <sup>b</sup>
Fat	11.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	8.2 ± 0.3 <sup>e</sup>	8.4 ± 0.4 <sup>de</sup>	8.5 ± 0.5 <sup>de</sup>	9.8 ± 0.1 <sup>bc</sup>	9.4 ± 0.3 <sup>cd</sup>	10.9 ± 0.2 <sup>ab</sup>
Total dietary fiber	69.1 ± 1.9 <sup>b</sup>	76.0 ± 1.9 <sup>a</sup>	63.8 ± 1.3 <sup>c</sup>	63.8 ± 1.3 <sup>c</sup>	60.5 ± 1.5 <sup>d</sup>	62.2 ± 1.4 <sup>cd</sup>	53.5 ± 2.2 <sup>e</sup>	69.3 ± 2.8 <sup>b</sup>
Insoluble fiber	63.7 ± 1.5 <sup>b</sup>	70.4 ± 1.4 <sup>a</sup>	58.6 ± 1.2 <sup>c</sup>	57.4 ± 1.4 <sup>c</sup>	55.5 ± 1.5 <sup>d</sup>	57.3 ± 1.4 <sup>c</sup>	49.8 ± 2.1 <sup>e</sup>	64.9 ± 2.6 <sup>b</sup>
Soluble fiber	5.4 ± 1.3 <sup>a</sup>	5.6 ± 1.2 <sup>a</sup>	5.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	6.4 ± 1.2 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	4.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.7 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.2 <sup>a</sup>
Physicochemical analyses								
WRC (g/g DW)	3.7 ± 0.0 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.1 <sup>c</sup>	4.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.0 <sup>ab</sup>	4.1 ± 0.1 <sup>bd</sup>	4.2 ± 0.0 <sup>ab</sup>	4.2 ± 0.0 <sup>ab</sup>	3.8 ± 0.1 <sup>cd</sup>
OBC (g/g DW)	3.0 ± 0.0 <sup>ab</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>ab</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>b</sup>
BD (g/mL)	0.4 ± 0.0 <sup>cd</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>cd</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>cd</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>bc</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>d</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>a</sup>
pH	3.9 ± 0.0 <sup>ab</sup>	3.9 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.0 <sup>f</sup>	3.7 ± 0.0 <sup>ef</sup>	3.8 ± 0.0 <sup>cde</sup>	3.8 ± 0.0 <sup>bcd</sup>	3.7 ± 0.0 <sup>de</sup>	3.8 ± 0.0 <sup>abc</sup>
aw	0.4 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>f</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>e</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>d</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>f</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>b</sup>
Macrominerals (mg/kg DW)								
Phosphor	3511 ± 0.0 <sup>c</sup>	3222 ± 0.0 <sup>e</sup>	3167 ± 0.1 <sup>f</sup>	2905 ± 0.0 <sup>g</sup>	4131 ± 0.0 <sup>a</sup>	3823 ± 0.1 <sup>b</sup>	3354 ± 0.1 <sup>d</sup>	2820 ± 0.0 <sup>h</sup>
Potassium	21101 ± 0.0 <sup>e</sup>	18470 ± 0.1 <sup>h</sup>	33004 ± 0.1 <sup>b</sup>	20858 ± 0.1 <sup>f</sup>	64523 ± 0.2 <sup>a</sup>	29164 ± 0.0 <sup>d</sup>	31438 ± 0.0 <sup>c</sup>	20384 ± 0.0 <sup>g</sup>
Calcium	5729 ± 0.0 <sup>a</sup>	5352 ± 0.1 <sup>a</sup>	3778 ± 0.0 <sup>ab</sup>	3660 ± 0.2 <sup>ab</sup>	4238 ± 0.1 <sup>b</sup>	4405 ± 0.1 <sup>ab</sup>	5630 ± 0.1 <sup>a</sup>	4485 ± 0.0 <sup>ab</sup>
Magnesium	1061 ± 0.1 <sup>a</sup>	881.5 ± 0.1 <sup>d</sup>	589.2 ± 0.1 <sup>g</sup>	545.3 ± 0.1 <sup>h</sup>	851.8 ± 0.1 <sup>e</sup>	974.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	888.4 ± 0.3 <sup>c</sup>	710.6 ± 0.2 <sup>f</sup>
Sulfur	1156 ± 0.1 <sup>f</sup>	1186 ± 0.2 <sup>e</sup>	1231 ± 0.1 <sup>d</sup>	1185 ± 0.1 <sup>e</sup>	1884 ± 0.0 <sup>b</sup>	1493 ± 0.0 <sup>c</sup>	2232 ± 0.1 <sup>a</sup>	387.8 ± 0.1 <sup>g</sup>
Microminerals (mg/kg DW)								
Boron	38.8 ± 0.0 <sup>e</sup>	38.8 ± 0.1 <sup>e</sup>	32.6 ± 0.0 <sup>f</sup>	29.1 ± 0.0 <sup>g</sup>	68.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	58.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	51.3 ± 0.0 <sup>c</sup>	46.4 ± 0.0 <sup>d</sup>
Copper	33.1 ± 0.0 <sup>f</sup>	37.1 ± 0.0 <sup>e</sup>	53.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	46.2 ± 0.1 <sup>d</sup>	76.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	75.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	76.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	64.6 ± 0.0 <sup>b</sup>
Iron	45.8 ± 0.0 <sup>c</sup>	52.0 ± 0.2 <sup>b</sup>	46.3 ± 0.0 <sup>c</sup>	42.4 ± 0.0 <sup>d</sup>	57.5 ± 0.0 <sup>a</sup>	57.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	59.5 ± 0.0 <sup>a</sup>	49.7 ± 0.1 <sup>b</sup>
Manganese	73.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	67.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	25.3 ± 0.0 <sup>e</sup>	23.9 ± 0.0 <sup>e</sup>	43.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	43.4 ± 0.0 <sup>c</sup>	42.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	36.1 ± 0.0 <sup>d</sup>
Zinc	24.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	18.9 ± 0.2 <sup>cd</sup>	21.5 ± 0.0 <sup>c</sup>	17.0 ± 0.2 <sup>d</sup>	28.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	29.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	20.0 ± 0.3 <sup>c</sup>	14.0 ± 0.1 <sup>e</sup>

Values followed by lower case letters indicate differences between samples (grape pomace and co-product) by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Sample I: cv. Merlot (Central region); Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region); Sample III: cv. Merlot (Campaign region); Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region). GP: grape pomace; CP: co-product; WRC: water retention capacity; OBC: oil binding capacity; BD: bulk density; aw: water activity; DW: dry weight. Results are expressed as mean ± standard error (n = 3).

were significant different between cultivar and origin, only for the CP of the sample IV (Table 3). However, Sheng et al. (2017) reported similar values for WRC. The WRC is related to the chemical structure of polysaccharides, porosity, particle size, and pH (Elleuch et al., 2011). In GP and CP, this property may be related to the high dietary fiber content. In addition to increasing nutritional value, this characteristic enables the technological use in food products by modifying their viscosity and texture of products (Chau, Chen, & Lin, 2004). Sheng et al. (2017) found higher OBC and BD than found in this study. The OBC is dependent on bulk density, as particles with lower bulk density have larger surface area, allowing oil binding (Benítez et al., 2017). The physicochemical property of OBC is related to its use for stabilizing high-lipid products, such as meat derivatives (Elleuch et al., 2011).

The pH value found for GP and CP was lower than 4.0 (Table 3), which is consistent with an acidic food (Azeredo et al., 2012), with lower susceptibility for microbial spoilage. Furthermore, the emission of electromagnetic waves during the MHG extraction reduced the microbiological load of this by-product and, consequently, the risk of microorganism development, even being a nutrient-rich substrate (Heck et al., 2020).

In foods with a low water activity ( $a_w < 0.6$ ), there is no microorganism growth, although they can survive under these conditions (Azeredo et al., 2012). The winemaking by-products may be classified as low  $a_w$  for showing values lower than 0.6 (Table 3). The CP of all cultivars and regions studied had low  $a_w$ , even though differences from each other were observed. This fact becomes relevant for using these ingredients in food formulations since have a lower susceptibility for microbial development. Its determination describes the degree of availability of the molecule to act as a solvent and participate in chemical and biochemical reactions (Azeredo et al., 2012).

The mineral content of GP is associated with the cultivar's geographical origin, since it is associated with the soil type, edaphoclimatic factors, wine practices and the winemaking process (Beres et al., 2019; García-Lomillo & González-SanJosé, 2017). The grape varieties do not differ in their mineral content (Table 3). However, a variation between GP and CP was observed in response to the MHG extraction process. Among the macronutrients, the main element found in GP and CP was potassium (64523 and 29164 mg/kg DW, respectively), were GP presented higher levels in relation to CP. The second major constituent found was calcium (GP: 5729 and CP: 5352 mg/kg DW), followed by phosphorus (GP: 4131 and CP: 3823 mg/kg DW). The elements potassium, phosphorus, sulfur and magnesium are mobile in the plant and during the ripening of the grape concentrate mainly in the peel (García-Lomillo & González-SanJosé, 2017).

The oxidation processes, color changes and stability of wines correlate with the micronutrients present (Panceri et al., 2013). The results for B, Cu, Fe, Mn and Zn contents (Table 3), show that the relationship between GP and CP vary little in micronutrient content. The sample I showed a higher Mn content, on the other hand, samples III and IV had higher Fe and Cu contents.

According to Beres et al. (2019), around 60% of the world population has Fe deficiency and has a poor diet in Zn because of its low bioavailability. Here we show that CP, a product obtained after the MHG extraction process, has considerable Fe and Zn content and has the potential to be incorporated into food products for mineral supplementation purposes. The mineral content of food is not only restricted by technological issues, but also because they perform fundamental functions in the human organism, such as bone formation and teeth, enzymatic structuring, renal performance, cardiac regulation, nerve signaling, hormonal and immune balance, among others (Beres et al., 2019).

### 3.6. Feasibility and application of the method

The MHG extraction method is clearly advantageous and our study proves that in less than 10 min of irradiation it is possible to obtain

satisfactory extraction results. Conventional extractions mostly require the use of organic solvents, long extraction periods and the solvent evaporation. The method proposed here is a clean method and it fits the principles of green chemistry as it does not require the use of organic solvents and, meets the consumer demand for healthier food products with a natural character. In addition, we demonstrate that the remaining by-product of this process, the CP, has relevant physicochemical and technological properties, being a potential ingredient in the food industry. The extract obtained, can be incorporated in food formulations with the objective of phenolic enrichment, since it is a source rich in phenolic compounds and with significant antioxidant activity. We thus promote a complete recovery of the most significant by-product in the wine chain. Moreover, the MHG has already been tested in semi-industrial scale and provided very promising results with higher total phenolic compounds content yield when compared to the laboratory scale (Périno, Pierson, Ruiz, Cravotto, & Chemat, 2016). Therefore, this method can be adapted and transferred on a large scale to reuse GP, reducing environmental and economic impacts and promoting beneficial effects on human health.

## 4. Conclusions

Microwave Hydrodiffusion and Gravity extraction is able to achieve satisfactory results in the extraction of phenolic compounds from GP, the main by-product of the wine chain in addition to meeting the principles of green chemistry. In our study, for the first time the technique was applied to GP and it was possible to extract 118.1 mg GAE/g of total phenolic compounds from 200 g of plant material (GP) subjected to 2 W/g. In addition, the remaining residue (CP) maintained significant physicochemical, technological and antioxidant properties, offering to the food processing industries opportunities to meet the demand for healthy food products with high added value. The results demonstrate that, in the optimized extraction condition, it is possible to obtain sustainable and fast production of phenolic compounds and CP from GP. Thus, pilot large-scale studies need to be carried out to adapt and dimension the MHG extraction to the food industry. Furthermore, research should be performed aiming the stability and bioavailability of the phenolic compounds present in the extracts, for later incorporation into food products. In addition, the CP can be incorporated individually or together with the extract, in food products such as breads, cakes, cookies, snacks, cereal bars, etc. Therefore, enabling a complete recovery of the GP and allowing the development of natural and healthy products.

### CRedit authorship contribution statement

**Karine Inês Bolson Moro:** Investigation, Methodology, Conceptualization, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Ana Betine Beutingen Bender:** Investigation, Writing – review & editing. **Daniele de Freitas Ferreira:** Investigation. **Caroline Sefrin Speroni:** Investigation. **Juliano Smanioto Barin:** Investigation, Resources. **Leila Picolli da Silva:** Supervision, Resources. **Neidi Garcia Penna:** Conceptualization, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing.

### Declaration of competing interest

The authors state that there is no conflict of interest.

### Acknowledgments

This study was financed in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)*. The authors thank the *Vinícola Velho Amâncio* and *Vinícola Guatambu - Estância do Vinho* for donating the grape pomace.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>.

## References

- Al Bittar, S., Périno-Issartier, S., Dangles, O., & Chemat, F. (2013). An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, *141*(3), 3268–3272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.134>
- AOAC. (1995). AOAC. Association of official analytical chemists. In *Official methods of analysis* (16th ed.).
- Azeredo, H., Durango, A. V., Garruti, D., Brito, E., Pinto, G., Faria, J. de A. F., et al. (2012). *Fundamentos de estabilidade de alimentos* (2nd ed.).
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlieu, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *49*, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.006>
- Bender, A. B. B., Luviélmo, M. de M., Loureiro, B. B., Speroni, C. S., Boligon, A. A., Silva, L. P. da, et al. (2016). Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an extruded snack. *Brazilian Journal of Food Technology*, *19*, 1–9. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.1016>
- Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Moro, K. I. B., Morisio, F. D. P., dos Santos, D. R., da Silva, L. P., et al. (2020). Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-Food Science and Technology*, *117*, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652>
- Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., & Esteban, R. M. (2017). Physicochemical properties and in vitro antidiabetic potential of fibre concentrates from onion by-products. *Journal of Functional Foods*, *36*, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.045>
- Benemann, G. D., Botelho, R. V., Torres, Y. R., Camargo, L. A., Khalil, N. M., Oldoni, T. L. C., et al. (2018). 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*, *21*, Article e2017205. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.20517>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezedo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., et al. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, *68*, 581–594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- Beres, C., Freitas, S. P., Godoy, R. L. de O., de Oliveira, D. C. R., Deliza, R., Iacomini, M., et al. (2019). Antioxidant dietary fibre from grape pomace flour or extract: Does it make any difference on the nutritional and functional value? *Journal of Functional Foods*, *56*, 276–285. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.014>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, *37*(8), 911–917. [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com).
- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., et al. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, *111*, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.012>
- Calinescu, I., Asofiei, I., Gavrilă, A. I., Trifan, A., Ighigeanu, D., Martin, D., et al. (2017). Integrating microwave-assisted extraction of essential oils and polyphenols from Rosemary and Thyme Leaves. *Chemical Engineering Communications*, *204*(8), 965–973. <https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1328678>
- Camargo, A. C. de, Biasoto, A. C. T., Schwember, A. R., Granato, D., Rasera, G. B., Franchin, M., et al. (2019). Should we ban total phenolics and antioxidant screening methods? The link between antioxidant potential and activation of NF-κB using phenolic compounds from grape by-products. *Food Chemistry*, *290*, 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.145>
- Chau, C. F., Chen, C. H., & Lin, C. Y. (2004). Insoluble fiber-rich fractions derived from Averrhoa carambola: Hypoglycemic effects determined by in vitro methods. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-Food Science and Technology*, *37*, 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.001>
- Chau, C.-F., Wang, Y.-T., & Wen, Y.-L. (2007). Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chemistry*, *100*(4), 1402–1408. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.034>
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., et al. (2019). Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, *118*, 248–263. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.037>
- Crupi, P., Dipalmo, T., Clodoveo, M. L., Toci, A. T., & Coletta, A. (2018). Seedless table grape residues as a source of polyphenols: Comparison and optimization of non-conventional extraction techniques. *European Food Research and Technology*, *244*(6), 1091–1100. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-3030-z>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, *124*(2), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Femenia, A., Lefebvre, A., Thebaudin, J., Robertson, J., & Bourgeois, C. (1997). Physical and sensory properties of model foods supplemented with cauliflower fibre. *Journal of Food Science*, *62*(4), 635–639.
- Ferreira, D. F., Lucas, B. N., Voss, M., Santos, D., Mello, P. A., Wagner, R., et al. (2020). Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Industrial Crops and Products*, *145*, 112094. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112094>
- Ferri, M., Bin, S., Vallini, V., Fava, F., Michelini, E., Roda, A., et al. (2016). Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. *New Biotechnology*, *33*(3), 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.12.004>
- García-Lomillo, J., & González-SanJosé, M. L. (2017). Applications of wine pomace in the food industry: Approaches and functions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*(1), 3–22. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12238>
- Garrido, T., Gizdavic-Nikolaidis, M., Leceta, I., Urdanpilleta, M., Guerrero, P., de la Caba, K., et al. (2019). Optimizing the extraction process of natural antioxidants from chardonnay grape marc using microwave-assisted extraction. *Waste Management*, *88*, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.031>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, *(1)*, F1.2.1–F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00.00>
- Heck, R. T., Ferreira, D. F., Fagundes, M. B., Santos, B. A. D., Cichoski, A. J., Saldaña, E., et al. (2020). Jabuticaba peel extract obtained by microwave hydrodiffusion and gravity extraction: A green strategy to improve the oxidative and sensory stability of beef burgers produced with healthier oils. *Meat Science*, *170*, 108230. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108230>
- Jacotet-Navarro, M., Rombaut, N., Deslis, S., Fabiano-Tixier, A.-S., Pierre, F.-X., Bily, A., et al. (2016). Towards a "dry" bio-refinery without solvents or added water using microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products. *Green Chemistry*, *18*(10), 3106–3115. <https://doi.org/10.1039/C5GC02542G>
- Ky, I., Lorrain, B., Kolbas, N., Crozier, A., & Teissedre, P.-L. (2014). Wine by-products: Phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. *Molecules*, *19*(1), 482–506. <https://doi.org/10.3390/molecules19010482>
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M. A., & Chemat, F. (2013). Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, *47*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.007>
- Lingua, M. S., Fabiani, M. P., Wunderlin, D. A., & Baroni, M. V. (2016). 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*, *20*, 332–345. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.034>
- Malavolta, E., Vitti, G. C., & De Oliveira, S. A. (1987). Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações. In *Society* (2nd ed.) POTAFOS <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/>.
- Martins, I. M., Macedo, G. A., & Macedo, J. A. (2020). Biotransformed grape pomace as a potential source of anti-inflammatory polyphenolics: Effects in Caco-2 cells. *Food Bioscience*, *35*, 100607. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100607>
- Maurer, L. H., Cazarin, C. B. B., Quatrin, A. M., Minuzzi, N. M., Costa, E. L., Morari, J., et al. (2019). Grape peel powder promotes intestinal barrier homeostasis in acute TNBS-colitis: A major role for dietary fiber and fiber-bound polyphenols. *Food Research International*, *123*, 425–439. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.068>
- Melo, P. S., Bergamaschi, K. B., Tiveron, A. P., Massarioli, A. P., Oldoni, T. L. C., Zanus, M. C., et al. (2011). Phenolic composition and antioxidant activity of agroindustrial residues. *Ciência Rural*, *41*(6), 1088–1093. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n6/a2111cr3810.pdf>.
- Melo, P. S., Massarioli, A. P., Denny, C., Santos, L. F. D., Franchin, M., Pereira, G. E., et al. (2015). Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry*, *181*, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.087>
- Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2021). *Green extraction methods and microencapsulation technologies of phenolic compounds from grape pomace: A review*. Food and Bioprocess Technology. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02665-4>
- Nayak, A., Bhushan, B., Rosales, A., Turienzo, L. R., & Cortina, J. L. (2018). Valorisation potential of Cabernet grape pomace for the recovery of polyphenols: Process intensification, optimisation and study of kinetics. *Food and Bioprocess Processing*, *109*, 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.004>
- OIV. (2020). *International Organisation of Vine and wine (OIV)*. Advanced search on database. <http://www.oiv.int/en/statistiques/recherche?year=2016&countryCode=oiv>. (Accessed 10 August 2020).
- Oliveira, D. A., Salvador, A. A., Smânia, A., Smânia, E. F. A., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. S. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, *164*(3), 423–432. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.09.014>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Panceri, C. P., Gomes, T. M., De Gois, J. S., Borges, D. L. G., & Bordignon-Luiz, M. T. (2013). Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes. *Food Research International*, *54*(2), 1343–1350. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.016>

- Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., Calhela, R. C., Barros, L., Pinho, S. P., et al. (2018). Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, 253, 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163>
- Pérez, L., Conde, E., & Domínguez, H. (2014). Microwave hydrodiffusion and gravity processing of *Sargassum muticum*. *Process Biochemistry*, 49(6), 981–988. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.02.020>
- Périno, S., Pierson, J. T., Ruiz, K., Cravotto, G., & Chemat, F. (2016). Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. *Food Chemistry*, 204, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.088>
- Pintać, D., Majkić, T., Torović, L., Orčić, D., Beara, I., Simin, N., et al. (2018). Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. *Industrial Crops and Products*, 111, 379–390. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.038>
- Prior, R. L. (2015). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 18, 797–810. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.018>
- Ravi, H. K., Breil, C., Vian, M. A., Chemat, F., & Venskutonis, P. R. (2018). Biorefining of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) pomace using microwave hydrodiffusion and gravity, ultrasound-assisted, and bead-milling extraction. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(3), 4185–4193. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04592>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Rizelio, V. M., de Souza Schmidt Gonçalves, Any Elisa, Genovese, M. I., & Fett, R. (2011). 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*, 44(4), 897–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049>
- Sheng, K., Qu, H., Liu, C., Yan, L., You, J., Shui, S., et al. (2017). A comparative assess of high hydrostatic pressure and superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of grape pomace. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 2106–2114. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13489>
- Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T. P., Torres, C., Oliveira, A. M. P., et al. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control*, 92, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.031>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with acid reagents. *Phenolics Determination*, 16, 144–158.
- Toaldo, I. M., Van Camp, J., Gonzales, G. B., Kamiloglu, S., Bordignon-Luiz, M. T., Smagghe, G., et al. (2016). Resveratrol improves TNF- $\alpha$ -induced endothelial dysfunction in a coculture model of a Caco-2 with an endothelial cell line. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 36, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.07.007>
- Tournour, H. H., Segundo, M. A., Magalhães, L. M., Barreiros, L., Queiroz, J., & Cunha, L. M. (2015). Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 74, 397–406. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.055>
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46(2), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.027>
- Zenebon, O., Pascuet, N. S., & Tinglea, P. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. In *Métodos físico-químicos para análise de alimentos (IV)*. Instituto Adolfo Lutz. [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324/A009/type/book\\_part](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324/A009/type/book_part)
- Zhu, M., Huang, Y., Wang, Y., Shi, T., Zhang, L., Chen, Y., et al. (2019). Comparison of (poly)phenolic compounds and antioxidant properties of pomace extracts from kiwi and grape juice. *Food Chemistry*, 271, 425–432. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.151>
- Zill-e-Huma, Abert Vian, M., Maingonnat, J. F., & Chemat, F. (2009). Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: Optimising solvent free microwave extraction method. *Journal of Chromatography A*, 1216(45), 7700–7707. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.044>
- Zill-e-Huma, Abert-Vian, M., Elmaataoui, M., & Chemat, F. (2011a). A novel idea in food extraction field: Study of vacuum microwave hydrodiffusion technique for by-products extraction. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.045>
- Zill-e-Huma, Vian, M. A., Fabiano-Tixier, A.-S., Elmaataoui, M., Dangles, O., & Chemat, F. (2011b). A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. *Food Chemistry*, 127(4), 1472–1480. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.112>



## Supplementary Material

### Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity

Karine Inês Bolson Moro<sup>a,1</sup>, Ana Betine Beutinger Bender<sup>a</sup>, Daniele de Freitas Ferreira<sup>a</sup>, Caroline Sefrin Speroni<sup>a</sup>, Juliano Smanioto Barin<sup>a</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>b</sup>, Neidi Garcia Penna<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Technology and Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

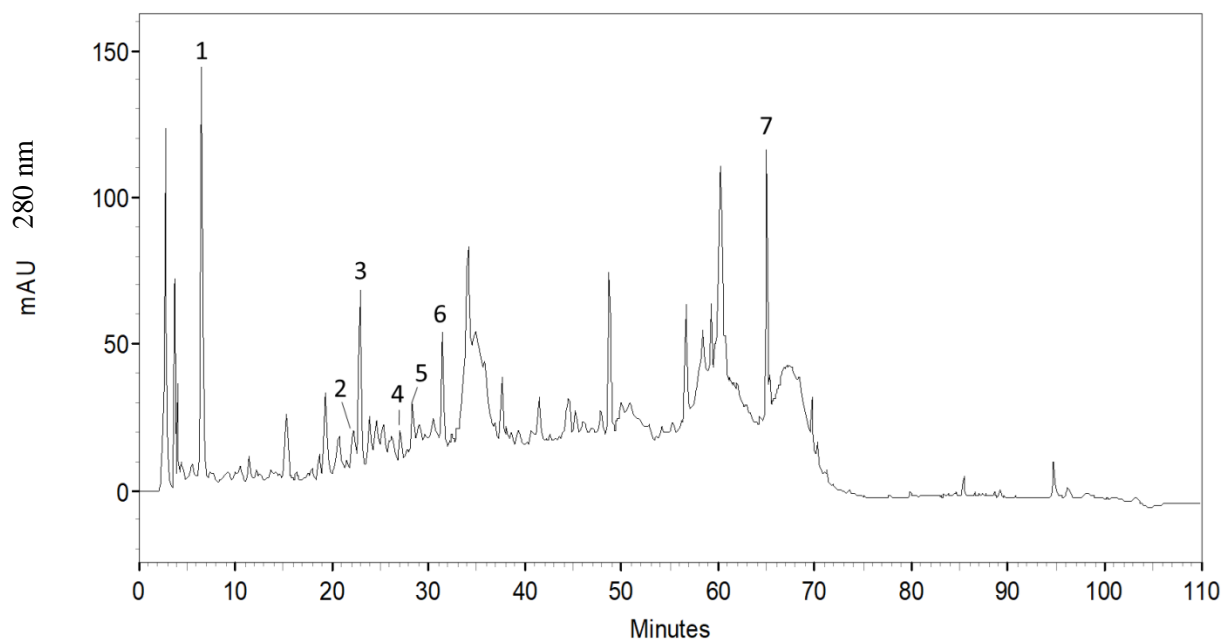
<sup>b</sup> Department of Animal Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

---

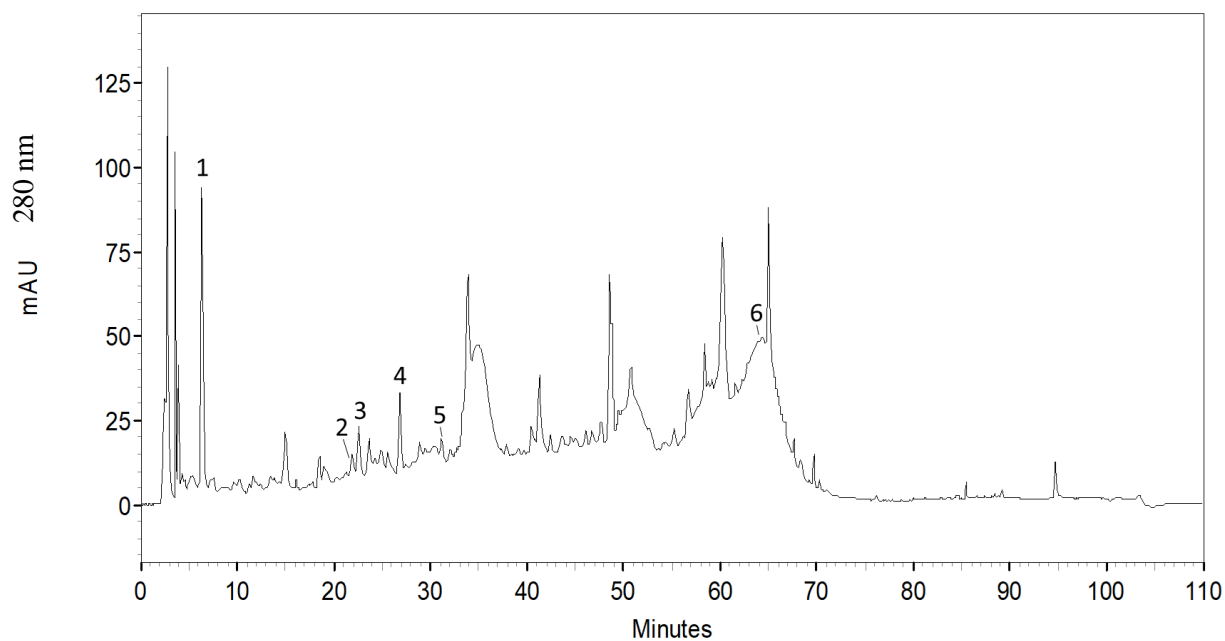
<sup>1</sup> Corresponding author.

*E-mail address: karini\_moro@hotmail.com*

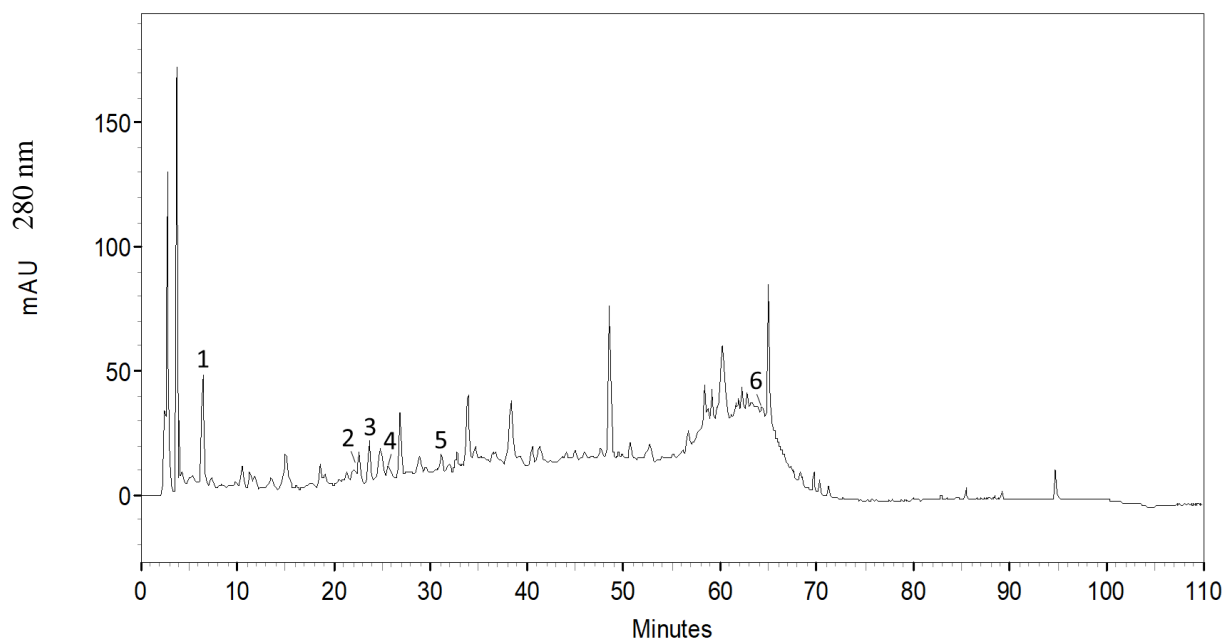
Phone: +55 55 3220-8254



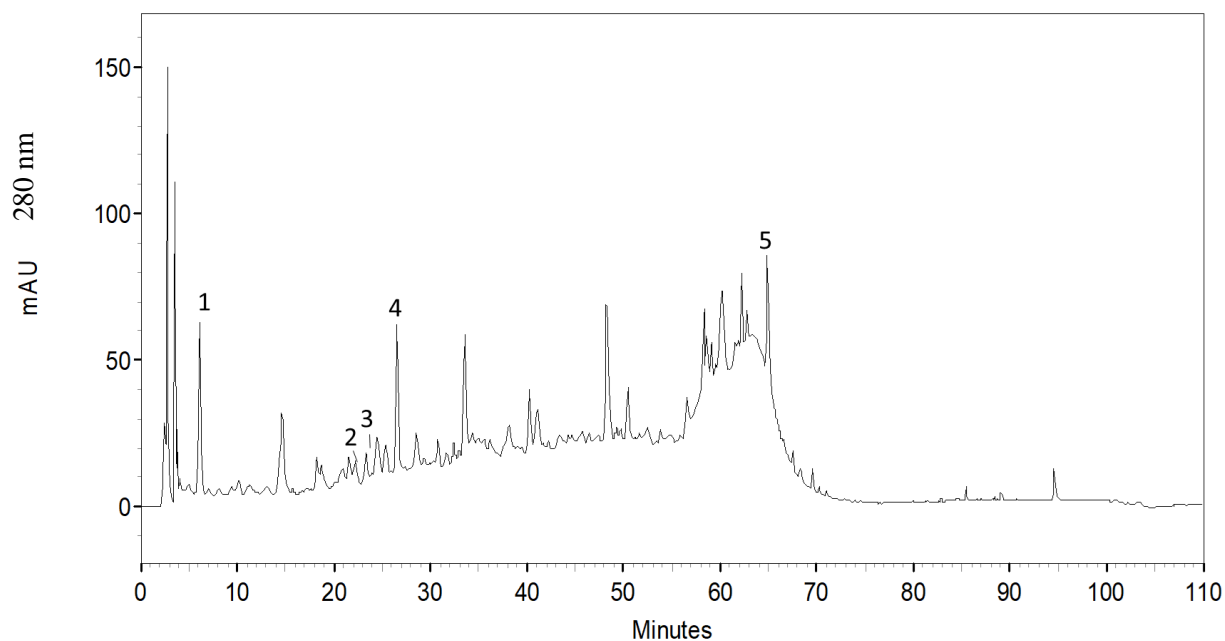
**Figure S1.** HPLC-DAD chromatograms of MHG extract. Sample I: cv. Merlot (Central region). Numbers refer to the phenolic compounds, identified as: 1 – Gallic acid, 2 – Catechin, 3 – Vanillic acid, 4 – Syringic acid, 5 - Procyanidin B2, 6 – Epicatechin, 7 – Quercetin.



**Figure S2.** HPLC-DAD chromatograms of MHG extract. Sample II: cv. Cabernet Sauvignon (Central region). Numbers refer to the phenolic compounds, identified as: 1 – Gallic acid, 2 – Catechin, 3 – Vanillic acid, 4 – Syringic acid, 5 – Epicatechin, 6 – Quercetin.



**Figure S3.** HPLC-DAD chromatograms of MHG extract. Sample III: cv. Merlot (Campaign region). Numbers refer to the phenolic compounds, identified as: 1 – Gallic acid, 2 – Catechin, 3 – Vanillic acid, 4 – Syringic acid, 5 – Epicatechin, 6 – Quercetin.



**Figure S4.** HPLC-DAD chromatograms of MHG extract. Sample IV: cv. Cabernet Sauvignon (Campaign region). Numbers refer to the phenolic compounds, identified as: 1 – Gallic acid, 2 – Catechin, 3 – Vanillic acid, 4 – Syringic acid, 5 – Quercetin.



5.3 MANUSCRITO 1 - Efeito da combinação de diferentes agentes carreadores na microencapsulação de polifenóis do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L. 'Merlot') usando o método de secagem por pulverização

Esta é uma versão pré-revisão por pares de um artigo configurado nas normas do periódico Food Hydrocolloids, com algumas modificações.





Efeito da combinação de diferentes agentes carreadores na microencapsulação de polifenóis do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L. ‘Merlot’) usando o método de secagem por pulverização

Karine Inês Bolson Moro<sup>a,1</sup>, Jéssica Righi da Rosa<sup>a</sup>, Ana Betine Beutinger Bender<sup>a</sup>, Tielle Moraes de Almeida<sup>b</sup>, Cristiane de Bona da Silva<sup>b</sup>, Fernando Dal Pont Morisso<sup>c</sup>, Juliano Smanioto Barin<sup>a</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>d</sup>, Neidi Garcia Penna<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>c</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Vila Nova, 93510-330, Novo Hamburgo, RS, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

---

<sup>1</sup> Autor correspondente.

E-mail: [karini\\_moro@hotmail.com](mailto:karini_moro@hotmail.com)

Fone: +55 55 3220-8254

## Resumo

Este trabalho tem como objetivo investigar diferentes combinações de agentes carreadores, maltodextrina (MD) e goma arábica (GA) combinados com hi-maize (HM) e inulina (IN) na microencapsulação de polifenóis, extraídos a partir do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L. 'Merlot') em micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG). Sendo que, a técnica de secagem por pulverização, foi utilizada com o propósito de, prolongar a estabilidade de armazenamento e biodisponibilidade destes compostos. A eficiência de encapsulação dos polifenóis variou de 95,9 a 97,4%. Micrografias eletrônicas de varredura mostraram formas lisas, esféricas e sem fissuras nas superfícies e o espectro FT-IR indicou picos característicos de polifenóis. As microcápsulas apresentaram características adequadas para armazenamento, como baixa atividade de água (0,045 a 0,078), higroscopicidade (10,2 a 12,9%) e umidade (1,8 a 2,1%) e granulometria inferior à perceptível sensorial (7,4 a 11,4  $\mu\text{m}$ ). A associação de MD, GA e HM apresentou a menor perda de compostos antociânicos em todas condições de armazenamento (6,5% em temperatura ambiente, 3,7% sob refrigeração e 2% sob congelamento) e, a meia-vida mais longa (1233 dias em temperatura ambiente, 2240 dias sob refrigeração e 4088 dias sob congelamento). Além disso, a microencapsulação favoreceu a retenção de compostos antociânicos e melhorou a liberação prolongada de antocianinas na digestão gastrointestinal simulada. Esses resultados são achados importantes quanto à qualidade, preservação e ao aumento da vida de prateleira dos polifenóis do bagaço de uva, dada a instabilidade desses compostos, e aumentam a possibilidade de utilizá-los como ingredientes funcionais.

Palavras-chave: Resíduo agroindustrial · Maltodextrina · Goma arábica · Hi-maize · Inulina · Compostos fenólicos.

## 1. Introdução

A grande demanda por alimentos tem por consequência a geração de expressivos volumes de resíduos agroindustriais, originando a necessidade de reaproveitar os subprodutos (Vital et al., 2018). Aproximadamente 80% da produção mundial de uva destina-se à fabricação de vinhos e derivados e, conseqüentemente, grandes volumes de resíduos são gerados (Beres et al., 2017; Gruz et al., 2013), sendo o bagaço o principal subproduto. O bagaço de uva, representa cerca de 25% (m/m) do peso das uvas processadas atingindo mais de 9 milhões de toneladas anuais (Sirohi et al., 2020). Constituído principalmente de cascas, sementes e resíduos de polpa (Muhlack et al., 2018), é uma fonte rica em polifenóis que possuem vários efeitos biológicos benéficos (Moreno et al., 2018; Tolun et al., 2020), como atividades anti-inflamatórias (Maurer et al., 2019), antiproliferativas (Jara-Palacios et al., 2015; Martins et al., 2020) e antimicrobianas (Silva et al., 2018). Estima-se que, aproximadamente, 70% do conteúdo de polifenóis permanecem no bagaço de uva após o processamento (Antonić et al., 2020; Beres et al., 2017; Romanini et al., 2021). Contudo, a recuperação de polifenóis do bagaço de uva geralmente é onerosa, dispende muito tempo e é ambientalmente agressiva. Deste modo os métodos de extração verde se apresentam-se como alternativas sustentáveis e ambientalmente corretas para agregar valor e possibilitar seu uso como fonte de biomoléculas (Moro, Bender, da Silva, et al., 2021).

Dentre as tecnologias de extração, a que utiliza extração por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG) representa uma tecnologia eficiente, econômica e verde. O MHG produz micro-ondas com controle de temperatura preciso, evitando gradientes e a degradação térmica dos compostos de interesse (Moro, Bender, da Silva, et al., 2021). Com a vantagem de não requerer a adição de solventes, promove extratos seguros e de qualidade em um curto espaço de tempo (Moro, Bender, Ferreira, et al., 2021). Assim, os extratos obtidos a partir do MHG apresentam grande potencial para a indústria alimentícia e/ou farmacêutica e podem ser incorporados em diversos produtos.

Para manter a bioatividade dos polifenóis, é importante protegê-los por serem suscetíveis à degradação, oxidação e polimerização (Romanini et al., 2021; Tolun et al., 2020). As ligações insaturadas na estrutura molecular dos polifenóis e a forte atividade antioxidante os tornam sensíveis à luz, variações de calor e pH, atividades enzimáticas, presença de íons metálicos e oxigênio (Ballesteros et al., 2017; Yamashita et al., 2017). Deste modo, as técnicas de microencapsulação apresentam-se como uma alternativa para contornar este problema oferecendo estabilidade e biodisponibilidade aos polifenóis (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Gharsallaoui et al., 2007; Tolun et al., 2020).

O método de microencapsulação de secagem por pulverização é um dos mais empregados pois, permite a produção contínua com processos econômicos e facilmente incorporados na indústria (Moro, Bender, da Silva, et al., 2021; Tolun et al., 2020). Para obter o encapsulamento e estabilidade desejável de microcápsulas é necessário realizar uma seleção apropriada do método de encapsulamento e do agente carreador pois, são operações independentes (Aguiar et al., 2016; Ribeiro et al., 2019). Os agentes carreadores devem possibilitar a liberação satisfatória, serem atóxicos e não apresentarem reatividade com o agente ativo (Favaro-Trindade et al., 2008). Polissacarídeos, como maltodextrina (MD) com diferentes equivalentes de dextrose e goma arábica (GA), são amplamente utilizados como agentes carreadores, devido ao menor custo e baixa viscosidade (Aguiar et al., 2016; Labuschagne, 2018; Li et al., 2018). Os amidos também podem ser empregados em processos de microencapsulação, dentre eles o hi-maize (HM) vem sendo empregado na microencapsulação de polifenóis (Nunes et al., 2018; Rosa et al., 2019, 2021). A inulina (IN) é uma mistura de polissacarídeos formados por cadeias de frutose unidas por ligações  $\beta$ -(2-1) com uma unidade terminal de glicose, ela vem sendo utilizada na microencapsulação e demonstra resultados promissores além de possuir benefícios fisiológicos e propriedades funcionais (Araujo-Díaz et al., 2017; Leyva-Porras et al., 2017; Rosa et al., 2021). No entanto, um agente carreador dificilmente apresenta todas as características necessárias, por isso, uma combinação adequada é uma alternativa que pode compensar os defeitos e/ou limitações de um único agente carreador (Kuck & Noreña, 2016; Li et al., 2018).

A microencapsulação de polifenóis provenientes de resíduos vitivinícolas vem sendo investigada (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Davidov-Pardo et al., 2013; Kalušević et al., 2017; Kuck et al., 2017; Moreno et al., 2018; Prozil et al., 2012; Tolun et al., 2020), no entanto, poucos trabalhos estão combinando os princípios da “química verde”, na etapa de extração, com posterior microencapsulação. A aplicação de técnica verde MHG em bagaço demonstrou excelentes resultados quanto aos volumes de polifenóis recuperados, integridade dos compostos e tempo de processamento (Moro, Bender, Ferreira, et al., 2021). Por serem compostos passíveis de degradação existe a demanda de estabelecer um método de conservação eficiente dos compostos presentes no extrato recuperado do bagaço de uva em MHG. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a microencapsulação de polifenóis do bagaço de uva, obtido em MHG, utilizando diferentes combinações de agentes carreadores. Em particular, avaliamos os efeitos de quatro combinações de agentes carreadores e comparamos a estabilidade das microcápsulas em diferentes temperaturas de armazenamento, suas propriedades físico-químicas, estruturais e antioxidantes.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Materiais e reagentes microencapsulantes

Para produzir as microcápsulas, foram utilizados os seguintes agentes carreadores: Maltodextrina MOR-REX<sup>®</sup> 1910 DE-20 (Ingredion, São Paulo, Brazil), goma arábica (Contemporary Chemical Dynamics, São Paulo, Brazil), hi-maize<sup>®</sup> 260 (Ingredion, São Paulo, Brazil) e inulina (Metachem, São Paulo, Brazil). Os produtos químicos usados na determinação do conteúdo fenólico total foram carbonato de sódio P.A (Sigma-Aldrich, France), reagente Folin-Ciocalteu P.A e ácido gálico P.A (Contemporary Chemical Dynamics, São Paulo, Brazil). Para determinar o teor de antocianina total, cloreto de potássio (Riedel-de Haën, France), acetato de sódio trihidratado (Sigma-Aldrich, France) e ácido clorídrico (Riedel-de Haën, France) foram usados para preparar as soluções tampão em água destilada. Produtos químicos usados no ensaio de atividade antioxidante foram: Trolox P.A (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico), AAPH P.A (dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)) adquiridos da Sigma-Aldrich e fluoresceína sódica P.A (P.M.: 376,27) adquirida da Neon (Suzano, São Paulo, Brazil). As enzimas digestivas pepsina, pancreatina e sais biliares bovinos utilizadas para os ensaios de condições gastrointestinais simuladas foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil). Todos os outros solventes orgânicos utilizados no estudo foram de grau analítico.

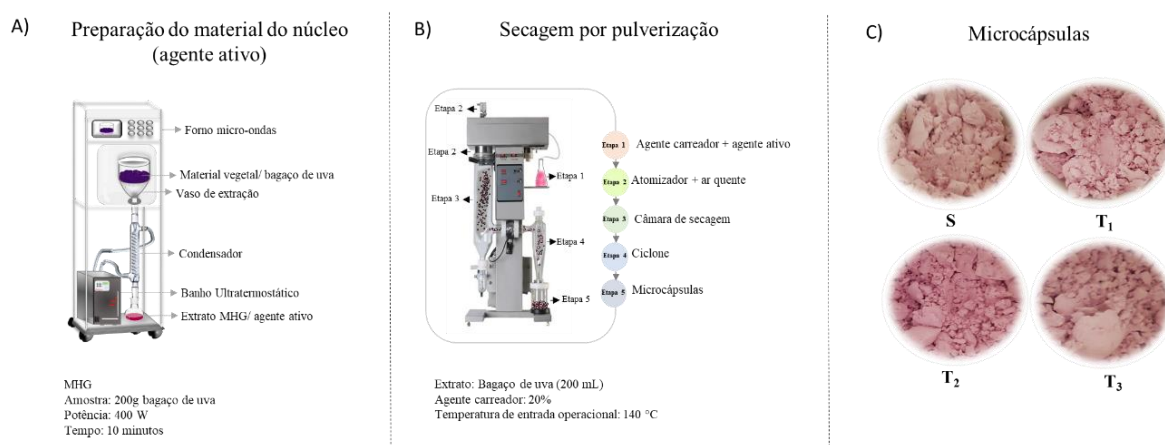
### 2.2 Material do núcleo (bagaço de uva)

Neste trabalho, foram utilizados subprodutos (cascas e sementes) de uvas tintas 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) da produção de vinho, fornecidos pela Vinícola Velho Amâncio (Itaara, RS, Brazil). Após a conclusão do processo de vinificação, o bagaço de uva foi prensado, coletado, fracionado (200 g) e armazenado em sacos de polietileno de baixa densidade a  $-18 \pm 0,1$  °C, para posterior utilização nos experimentos de extração.

### 2.3 Preparação do material do núcleo (agente ativo)

A extração por MHG dos polifenóis do bagaço de uva foi realizada em equipamento de micro-ondas NEOS-GR multimodo (Milestone, Bergamo, Italy) com frequência de 2450 MHz e potência máxima de 900 W. O procedimento MHG foi realizado à pressão atmosférica em um vaso de extração de material Pyrex com capacidade de 1,5 L. Duzentos gramas de amostra foram previamente umidificadas com 40 mL de água destilada e homogeneizadas até absorção completa do líquido ao material vegetal e posteriormente submetida ao MHG sob potência de

2 W g<sup>-1</sup>. As condições de extração foram definidas em um estudo anterior sobre a otimização de extração de polifenóis do bagaço de uva (Moro, Bender, Ferreira, et al., 2021). Os compostos liberados do material vegetal foram drenados por gravidade através de um condensador externo à cavidade do micro-ondas e coletados em um balão específico (aproximadamente 95 mL de extrato, para cada 200 g de bagaço de uva). O extrato polifenólico do bagaço de uva foi armazenado em frascos âmbar e mantido a  $-18 \pm 0,1$  °C até o processo de secagem por pulverização, realizado no dia posterior a extração. Um esquema do processo MHG pode ser observado na Fig. 1A.



**Fig. 1** A) Representação esquemática do processo de extração dos polifenóis do bagaço da uva por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG). Adaptado de Moro, Bender, Ferreira, et al. (2021). B) Representação esquemática do processo de secagem por pulverização. Adaptado de Moro, Bender, da Silva, et al. (2021). C) Fotografia das microcápsulas de extrato do bagaço de uva obtidas em secagem por pulverização utilizando quatro combinações diferentes de agentes carreadores: Tratamento padrão (S): maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; Tratamento T<sub>1</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; Tratamento T<sub>2</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; e Tratamento T<sub>3</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

## 2.4 Preparação do material microencapsulante

Microcápsulas do extrato obtido do bagaço de uva foram preparadas usando a secagem por pulverização com diferentes agentes carreadores. Maltodextrina DE20, goma arábica, hi-maize (amido resistente) e inulina, foram utilizados como agentes carreadores para uma concentração final de 20% (p/v). Os tratamentos foram denominados como: tratamento padrão (S), maltodextrina DE20 10% mais goma arábica 10%; tratamento T<sub>1</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; tratamento T<sub>2</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica

7,5% e inulina 5% e tratamento T<sub>3</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%. (Tabela 1).

**Tabela 1** Composição dos agentes carreadores da microencapsulação, tratamento padrão (S), T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, aplicados ao extrato do bagaço de uva obtido por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG).

Agentes carreadores (%)	Tratamentos			
	S	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Maltodextrina DE20	10	7,5	7,5	7,5
Goma arábica	10	7,5	7,5	7,5
Hi-maize	-	5	-	2,5
Inulina	-	-	5	2,5
Total	20%	20%	20%	20%

Para o preparo da solução de alimentação, os agentes carreadores foram solubilizados no extrato do bagaço de uva (200 mL). A solubilização foi realizada com barra de agitação magnética (2mm x 7 mm/300 rpm) durante 10 minutos antes de alimentar o secador por pulverização. O extrato polifenólico do bagaço de uva sem qualquer agente carreador foi congelado ( $-18 \pm 0,1$  °C) e denominado de extrato livre/puro, e foi utilizado para fins de comparação com as microcápsulas produzidas.

## 2.5 Secagem por pulverização

O processo de microencapsulação foi realizado em um secador de pulverização de escala laboratorial (MSD 1.0 Labmaq, São Paulo, Brazil), com temperatura operacional de entrada de 140 °C e a temperatura de saída de  $55 \pm 2$  °C. As soluções foram introduzidas continuamente na câmara de secagem usando uma bomba peristáltica com taxa de alimentação de  $0,8 \text{ L h}^{-1}$ , taxa de fluxo de ar de secagem de  $40 \text{ L h}^{-1}$ , pressão do ar de 1,5 MPa e bico de alimentação de 1,2 mm. A temperatura da solução de alimentação foi mantida constante a 20 °C e sob agitação durante o processo de secagem. As microcápsulas obtidas foram coletadas na base do ciclone em frasco âmbar, transferidas para frascos estéreis e armazenadas na ausência de luz. Um esquema do processo de secagem por pulverização pode ser observado na Fig. 1B.

## 2.6 Eficiência e rendimento da microencapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada de acordo com Yinbin et al. (2018), definida pela Eq. (1) como a razão entre os fenólicos microencapsulados e de superfície no produto seco por pulverização. O método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965), conforme descrito na Seção 2.12.2, foi usado para determinar o conteúdo fenólico total (TPC) das microcápsulas. Para esta avaliação, as microcápsulas foram rompidas de acordo com o método proposto por Tolun et al. (2016), descrito na Seção 2.10. A determinação do conteúdo fenólico de superfície seguiu o método proposto por Robert et al. (2010), com modificações. À amostra (0,2 g) foram adicionados 2 mL de uma solução etanol/metanol (1: 1, v/v). Após agitação por 2 minutos a amostra foi centrifugada (Eppendorf 5810R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) a 3500 rpm, durante 15 minutos a 15 °C e o sobrenadante foi coletado.

O rendimento da encapsulação ( $Y$ ) foi calculado através da divisão do peso da massa sólida das microcápsulas pela quantidade total de massa sólida a ser seca por pulverização (Eq. 2).

$$\text{Eficiência (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Fenólicos na superfície da microcápsula}}{\text{Fenólicos totais da microcápsula}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa de microcápsula (g)}}{\text{Massa inicial das substâncias (g)}} \times 100 \quad (2)$$

## 2.7 Caracterização das microcápsulas

O teor de umidade das amostras foi determinado através do método de secagem em estufa a 105 °C, até atingir peso constante conforme AOAC (1995). O teor de umidade foi calculado como a perda de peso após a secagem da amostra até que o peso constante fosse obtido, conforme demonstrado na Eq. (3).

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{\text{Peso da amostra úmida (g)} - \text{Peso da amostra seca (g)}}{\text{Peso da amostra úmida (g)}} \times 100 \quad (3)$$

A determinação da atividade de água foi mensurada em aparelho Aqualab®, modelo 4TEV (Decagon Devices, Pullman WA, USA), a temperatura de  $20 \pm 0,1$  °C. A avaliação da solubilidade das microcápsulas foi conduzida de acordo com o método descrito por Cano-Chauca et al. (2005), modificado por Oliveira et al. (2013). Para a solubilização da amostra (2 g), foram adicionados 20 mL de água destilada. Após foram submetidos a agitação magnética (1000 rpm/5 minutos), seguida por centrifugação (3000 rpm/5 minutos). Posteriormente, uma



alíquota (5 mL) do sobrenadante foi levada à estufa a 105 °C, até peso constante, e a solubilidade foi calculada pela diferença de peso (Eq. 4).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Massa de pó no sobrenadante}}{\text{Massa de pó total}} \times 100 \quad (4)$$

Higroscopicidade das microcápsulas foi mensurada pelo método proposto por Cai & Corke (2000), com modificações propostas por Subtil et al. (2014). Dois gramas de amostra foi adicionada em placa de Petri e mantida a 25 °C em um recipiente vedado contendo solução saturada de sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Após 7 dias, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade expressa em g de água absorvida por 100 g de amostra (Eq. 5).

$$\text{Higroscopicidade (\%)} = \frac{\text{Umidade absorvida (g)}}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100 \quad (5)$$

O tempo de dissolução foi mensurado conforme método proposto por El-Tinay and Ismail (1985), no qual foi feita a pesagem de 1 g de amostra à qual foram adicionados 25 mL de água destilada. Após foram submetidos a agitação magnética (892 rpm) e o tempo (minutos) foi determinado através da dissolução completa da amostra.

## 2.8 Caracterização estrutural das microcápsulas

### 2.8.1 Distribuição de tamanho de partícula

O perfil granulométrico das microcápsulas foi determinado por difração a laser utilizando a aproximação de Fraunhofer, em equipamento Mastersizer 2000 (Malvem, Germany), unidade de amostragem Hydro 3000MU (Malvem, Germany). As amostras foram dispersas em 25 mL de água destilada a temperatura ambiente, as quais, foram adicionadas com o auxílio de uma pipeta de Pasteur no béquer de leitura que continha 250 mL de água destilada.

### 2.8.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das microcápsulas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (model JSM-6510LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan). As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro e as imagens foram obtidas no modo de detecção de elétrons secundários com 10kV de energia no filamento, com ampliações de 2000x.

### 2.8.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os grupos químicos e o arranjo de ligações dos constituintes presentes nos agentes carreadores, nas microcápsulas e no extrato livre foram determinados por FT-IR realizada em espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum Two (Waltham, USA) equipado com refletância total atenuada universal (UATR) e cristal Diamond. O espectro foi coletado com 4 repetições entre 4000 e 450  $\text{cm}^{-1}$  e com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Esta análise não requer etapa prévia de preparo de amostra, tendo em vista que a mesma é depositada diretamente sobre o cristal de UATR.

### 2.8.4 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas em equipamento Shimadzu, modelo TGA 51H, na condição de temperatura ambiente até 600 °C com taxa de aquecimento de 10 °C  $\text{min}^{-1}$  em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50  $\text{mL min}^{-1}$ .

## 2.9 Análise colorimétrica

As microcápsulas foram transferidas à uma célula de vidro contra a fonte de luz e avaliadas quanto à cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) através do colorímetro CM-700d (Konica Minolta, Osaka, Japan), utilizando iluminante D65 e ângulo de 10°. A partir deste, foram obtidos os parâmetros de luminosidade  $L^*$  [0 (preto) a 100 (branco)],  $a^*$  [cromaticidade do verde (-60) a vermelho (+60)] e  $b^*$  [cromaticidade do azul (-60) a amarelo (+60)]. O ângulo de matriz ( $H^\circ = \tan^{-1} b^*/a^*$ ) foi calculado, o que indica a cor da amostra (0 ° ou 360 ° = vermelho, 90 ° = amarelo, 180 ° = verde e 270 ° = azul), enquanto Croma ( $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$ ) indica a pureza ou saturação da cor. Três leituras foram realizadas em 5 pontos distintos da amostra, totalizando 15 medições por amostra.

## 2.10 Rompimento das microcápsulas

Para a determinação do conteúdo fenólico total, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante, as microcápsulas foram primeiramente rompidas de acordo com o método proposto por Tolun et al. (2016). Foram pesados 250 mg de cada amostra e dissolvidos em 5 mL de etanol: ácido acético: água (50: 8: 42, v/v/v), esta mistura foi agitada em vórtice durante 2 min. Após agitação, as amostras foram centrifugadas (Eppendorf 5810R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) a 3500 rpm, durante 15 minutos a 15 °C e o sobrenadante foi removido para a avaliação da atividade antioxidante, antocianinas monoméricas totais e conteúdo fenólico total.

### 2.11 Atividade antioxidante

A capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) proposto por Ou et al. (2001) é baseada na geração do radical peroxil pela reação do oxigênio com AAPH [(dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)]. O composto reage com o indicador fluorescente (fluoresceína) para formar um produto não fluorescente. A atividade antioxidante é avaliada pela inibição da oxidação induzida pelo radical peroxil através da transferência de hidrogênio. Alíquotas das soluções (25  $\mu$ L) ou do padrão (Trolox) foram pipetadas em uma microplaca preta, adicionadas com 150  $\mu$ L de solução de fluoresceína (81 nM) e incubadas por 10 minutos a 37 °C. Subsequentemente, foram adicionados 25  $\mu$ L de solução de AAPH (152 nM). A redução da fluorescência foi medida durante 90 minutos em 485 nm (excitação) e 528 nm (emissão) em leitora de microplacas (Eppendorf, modelo AF2200, Hamburg, Germany). Soluções de Trolox foram utilizadas para construção da curva de calibração e os resultados foram expressos em mmol de equivalentes de Trolox (TE) em g de amostra em peso seco (DW).

As determinações de atividade antioxidante foram realizadas dentro de 1 dia após a secagem por pulverização.

### 2.12 Estabilidade dos compostos antociânicos das microcápsulas sob diferentes temperaturas de armazenamento

As microcápsulas obtidas foram adicionadas a frascos âmbar de 15 mL os quais foram armazenados em diferentes condições de temperatura. As análises de tempo zero foram concluídas dentro de 1 dia após a secagem. Para a análises de estabilidade de armazenamento, as amostras (5 g) foram mantidas nas seguintes condições de temperatura: temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$  °C), de refrigeração ( $3 \pm 4$  °C) e de congelamento ( $-18 \pm 0,1$  °C). As amostras foram armazenadas nessas condições durante 120 dias e analisadas a cada 15 dias para determinar o efeito da temperatura e do tempo na estabilidade dos compostos antociânicos por meio de medição da concentração de antocianinas monoméricas totais. Os resultados obtidos foram calculados e expressos seguindo a Eq. 6.

$$\ln (C_t/C_0) \tag{6}$$

Onde  $\ln$  é o logaritmo natural,  $C_t$  é a concentração de antocianinas no tempo  $t$ , e  $C_0$  é a concentração inicial de antocianinas (extrato puro/livre).

A constante de degradação ( $k$ ) e os tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) foram calculados conforme descrito em Tolun et al. (2020), com modificações, de acordo com as Eq. 7 e 8.

$$\ln (C_t/C_i) = -kt \quad (7)$$

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad (8)$$

Onde  $\ln$  é o logaritmo natural,  $C_i$  é a concentração inicial de antocianinas (dia 1),  $k$  é a constante de degradação cinética,  $t$  é o tempo em dias e  $t_{1/2}$  é o tempo de meia-vida em dias.

A perda total de antocianinas no período de armazenamento foi determinada pela relação entre os compostos antociânicos no último dia de armazenamento ( $C_{120}$ ) e a concentração inicial ( $C_0$ ) de acordo com a Eq. 9.

$$\text{Perda total (\%)} = \left(1 - \frac{C_{120}}{C_0}\right) \times 100 \quad (9)$$

As antocianinas monoméricas totais foram avaliadas de acordo com a metodologia de pH diferencial, descrita por Giusti & Wrolstad (2001). O método é baseado nas alterações estruturais sofridas pela antocianina na faixa de pH entre 1 e 4,5 e podem ser observadas por espectroscopia óptica. Os extratos foram diluídos em tampão de cloreto de potássio (KCl) 0,025 M (pH 1) e tampão acetato de sódio ( $C_2H_3NaO_2$ ) 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro, SP-220, Brazil) em 518 e 700 nm após 15 minutos de reação. Em seguida, o conteúdo total de antocianinas monoméricas foi calculado usando o peso molecular (493,5) e o coeficiente de extinção molar da malvidina-3-glicosídeo (29.500). Os resultados foram expressos como mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo por g de amostra em peso seco (DW).

### 2.13 Avaliação em condições gastrointestinais simuladas na liberação de compostos de antocianina

O método proposto por Madureira et al. (2011), adaptado por Rosa et al. (2019), foi utilizado para avaliar as microcápsulas sob condições gastrointestinais simuladas. A viabilidade de antocianinas monoméricas totais foi determinada em meios que simulam as diferentes seções do trato gastrointestinal, sendo elas, esôfago/estômago, duodeno e íleo. Para tanto, foi feita a pesagem de 1 g de microcápsula e à ela adicionou-se 9 ml de água destilada. Já para o extrato puro/livre a mesma diluição foi mantida. A viabilidade das antocianinas foi determinada continuamente em meio simulando as diferentes seções do trato gastrointestinal; ao final de cada estágio, alíquotas de 1,5 mL foram removidas para posterior análise.

Na etapa simulando a seção esôfago/estômago foi utilizado uma solução de pepsina à 20 mg mL<sup>-1</sup>, preparada em ácido clorídrico (HCl) 0,1 N, esta solução foi adicionada, em alíquotas iguais (0,05 mL mL<sup>-1</sup>), durante toda a fase gástrica (90 minutos), sendo o pH ajustado até 2 utilizando HCl 1 M. Na etapa de simulação da seção referente ao duodeno foi utilizada, uma solução de pancreatina (2 g L<sup>-1</sup>) e de sais biliares (12 g L<sup>-1</sup>) em uma concentração de 0,25 mL mL<sup>-1</sup>, preparada em bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) 0,1 M, sendo o pH ajustado para 5 utilizando NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M, por 20 min. Finalmente, a etapa de simulação da seção do íleo foi conduzida aumentando o pH para 7,5 através do uso de uma solução de NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M, por 90 min. Todas as soluções foram preparadas no momento da utilização. A análise foi conduzida em incubadora refrigerada tipo Shaker TE-421 (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brazil) mantida a 37 °C com o intuito de simular a temperatura do corpo humano e a agitação mecânica utilizada em paralelo para simular os movimentos peristálticos intestinais, com intensidades semelhantes às alcançadas em seção do trato digestivo. Ao final de cada etapa, foram retiradas alíquotas para determinar as antocianinas monoméricas totais, sendo que o método do pH diferencial foi seguido (Giusti & Wrolstad, 2001).

#### 2.14 Análise estatística

A análise de variância unilateral (ANOVA) com um nível de confiança de 95% foi usada para determinar diferenças significativas entre os tratamentos e as médias, seguido por um teste de Tukey. As análises foram realizadas com o software Statistica 9.0 (StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, EUA) licenciado para a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Todas as medições foram realizadas em triplicata e os dados foram expressos como média ± erro padrão à 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1 Eficiência e rendimento do processo de encapsulação

As microcápsulas produzidas nos quatro tratamentos deste estudo, utilizando ar de admissão a 140 °C, apresentaram alta eficiência de encapsulação, os valores foram 96,1%, 97,4%, 96,5% e 95,9% para S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, respectivamente (Tabela 2). Como em todas as formulações testadas, foi utilizada uma concentração final de 20% do agente carreador, sugere-se que os diferentes valores obtidos para a eficiência de encapsulação podem estar ligados às diferentes propriedades de solubilização dos agentes carreadores (Rosa et al., 2019). O método de secagem por pulverização é uma técnica favorável para a produção de microcápsulas com alta eficiência

de encapsulação (cerca de 90%). Neste estudo, as formulações testadas frente ao tratamento padrão apresentaram excelente retenção dos compostos polifenólicos. Estatisticamente somente o T<sub>1</sub> difere do S, os demais tratamentos (T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>) apresentaram eficiência estatisticamente igual ao S. No entanto em média, as microcápsulas produzidas com MD: GA: HM (T<sub>1</sub>) apresentaram maior eficiência de encapsulação (97,4%), seguida por MD: GA: IN (T<sub>2</sub>) (96,5%). Esses resultados indicam que os polissacarídeos usados como formulação padrão (MD e GA) associados ao HM e a IN, respectivamente aumentaram a eficiência de encapsulação neste trabalho, e a união de todos os agentes carreadores (MD: GA: HM: IN) desencadeou uma pequena diminuição na eficiência de encapsulação (95,9%). Esses achados são superiores aos relatados em outros estudos sobre microcápsulas carregadas com polifenóis (Li et al., 2018; Mahdi et al., 2020; Nguyen et al., 2021; Rezende et al., 2018).

Rezende et al. (2018), Li et al. (2018), Mendes et al. (2021) e Romanini et al. (2021), encapsularam extratos fenólicos de subprodutos alimentares com diferentes técnicas de encapsulamento, nomeadamente liofilização, secagem por pulverização, extrusão e geleificação iônica, obtendo eficiências de encapsulação de 69,3%, 78,6%, 42,2% e 62,5%, respectivamente. No que diz respeito ao bagaço de uva, Kuck & Noreña (2016), que encapsularam o extrato fenólico do bagaço de uva Bordô por secagem por pulverização usando GA, goma guar parcialmente hidrolisada e povidona como agentes carreadores, relataram percentagens de eficiência variando de 81,4% a 95,3%. Souza et al. (2015) obtiveram microcápsulas com alta retenção de antocianinas, variando de 88,3% a 97,3%, em extratos de subprodutos da vinificação usando MD como agente carreador. Zhang et al. (2020) relataram que a secagem por pulverização resultou em maior eficiência de encapsulação (75,1%) de antocianinas do que a liofilização (70%). Romanini et al. (2021) utilizaram a extração assistida por ultrassom para extrair compostos bioativos do bagaço de uva, com posterior encapsulação em alginato-Ca<sup>2+</sup> e relatam uma menor eficiência de encapsulação (62,5%), no entanto, o extrato encapsulado apresentou boa estabilidade e menor degradação na ausência de luz.

A eficiência de encapsulação representa um dos parâmetros de qualidade mais importante do processo de encapsulamento, independentemente do método aplicado e dos materiais do núcleo (Karrar et al., 2021). Baseia-se na obtenção de alta retenção do material do núcleo dentro do agente carreador, deixando uma quantidade mínima na superfície das microcápsulas (Ahmad et al., 2018). Fatores como, parâmetros de secagem, características da emulsão e propriedades dos agentes carreadores e do núcleo estão diretamente relacionados (Jafari et al., 2008; Rosa et al., 2021). No presente estudo, as microcápsulas contendo extrato do bagaço de uva apresentaram excelentes índices de eficiência de encapsulação para todos os tratamentos,

sugerindo que a concentração de agente carreador utilizada foi suficiente para cobrir de forma significativa os compostos polifenólicos contidos no extrato do bagaço de uva.

**Tabela 2** Análise da eficiência de encapsulação, rendimento, umidade, atividade de água, solubilidade, tempo de dissolução e higroscopicidade das microcápsulas de extrato do bagaço de uva obtidas utilizando diferentes agentes carreadores em secagem por pulverização.

Propriedades*	Tratamentos			
	S	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ef (%)	96,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	97,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	96,5 ± 0,1 <sup>ab</sup>	95,9 ± 0,4 <sup>b</sup>
Y (%)	55,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	54,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	43,2 ± 1,9 <sup>b</sup>	41,2 ± 0,5 <sup>b</sup>
Umidade (%)	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
Atividade de água	0,078 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,057 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,047 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,045 ± 0,0 <sup>c</sup>
Solubilidade (%)	75,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	64,9 ± 0,0 <sup>d</sup>	71,8 ± 0,0 <sup>b</sup>	70,0 ± 0,1 <sup>c</sup>
Tempo de dissolução (s)	289 ± 30,4 <sup>a</sup>	199 ± 4,2 <sup>ab</sup>	171,5 ± 0,4 <sup>ab</sup>	131,5 ± 4,2 <sup>b</sup>
Higroscopicidade (%)	10,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	11,5 ± 0,1 <sup>ab</sup>	12,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	11,7 ± 0,2 <sup>ab</sup>

\* Ef: Eficiência de encapsulação (%); Y: Rendimento de encapsulamento (%).

Tratamentos: S, maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; T<sub>1</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; T<sub>2</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; T<sub>3</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

Os resultados são expressos como média ± erro padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

A secagem por pulverização é considerada bem-sucedida quando um mínimo de 50% de rendimento (Y) é atingido (Bhandari et al., 1997; Moreno et al., 2018). Um alto Y do processo permite o estabelecimento de uma relação custo-benefício que determina a viabilidade da técnica de secagem em relação aos agentes carreadores. Nossos resultados de Y para relação fenólicos/agente carreador em S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> foram 55,2%, 54,9%, 43,2% e 41,2%, respectivamente (Tabela 2). O valor máximo médio foi obtido no tratamento S (MD: GA). A GA é conhecida por ter alta capacidade de formação de filme. Mahdi et al. (2020), afirmam que microcápsulas com alta percentagem de GA mostraram ter alto Y de encapsulação, corroborando com o resultado encontrado. O rendimento obtido no tratamento T<sub>1</sub> (MD: GA: HM) não apresentou diferença significativa quando comparado com o tratamento S e foi

significativamente maior que aos demais tratamentos ( $T_2$  e  $T_3$ ) à 5% de probabilidade. Além do mais, o baixo  $Y$  das microcápsulas é atribuído à perda de produto nas paredes da câmara de secagem. Apesar dos tratamentos  $T_2$  e  $T_3$  não terem atingido o limite mínimo de  $Y$  estabelecido, apresentaram bons rendimentos quando comparado com outros estudos (Çam et al., 2014; Tolun et al., 2016).

### 3.2 Conteúdo de umidade e atividade de água

O conteúdo de umidade variou de 1,8% a 2,1% e a atividade de água variou de 0,045 a 0,078 (Tabela 2). Esses valores estão de acordo com valores comumente observados de umidade e atividade de água na secagem por pulverização industrial (Masters, 1991). O conteúdo de umidade é uma propriedade importante dos pós microencapsulados e está correlacionado com a eficiência de secagem, fluidez, viscosidade, atividade de água, oxidação de compostos bioativos e crescimento microbiano. Além disso, o alto teor de umidade da microcápsula afeta a estabilidade no armazenamento, devido ao seu efeito na transição vítrea e comportamento de cristalização, resultando na liberação e degradação do material do núcleo durante o armazenamento (Kang et al., 2019; Mahdi et al., 2020; Rosa et al., 2021).

O presente estudo revelou que o tipo de agente carreador (MD, GA, HM e IN) não influenciou no teor de umidade, pois as combinações testadas foram significativamente iguais ao tratamento padrão à 5% de probabilidade. Achados semelhantes aos encontrados no presente estudo (entre 1,3 e 2,7%) foram relatados por Pieczykolan & Kurek (2019) ao analisarem o extrato de chokeberry microencapsulado usando goma guar, GA, pectina, beta-glucana, IN e MD como agentes carreadores. Kuck & Noreña (2016) relataram o teor de umidade variando de 2,4% a 2,5% para a casca da uva Bordô microencapsulada com GA, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada por secagem por pulverização. Além do mais, os teores de umidade encontrados são consistentes com aqueles relatados para subprodutos secos por pulverização de uvas Bordô (Souza et al., 2014) e extratos secos por atomização da fruta *Eugenia dysenterica* comparando GA e IN como agentes carreadores (Daza et al., 2016).

Os valores de umidade do presente estudo foram inferiores a 4%, especificação mínima para os pós que são utilizados para aplicação em alimentos, minimizando o risco de contaminação microbiana e oxidação lipídica (Edris et al., 2016; Karrar et al., 2021). Valores baixos de umidade são necessários para garantir a estabilidade dos pós atomizados, pois impossibilitam a aglomeração das partículas evitando o endurecimento dos pós, o que poderia reduzir a retenção de componentes ativos e outras propriedades como fluxo e dispersão dos pós (Silva et al., 2013; Daza et al., 2016). Portanto, as condições de percentagem de agente carreador e os parâmetros



de secagem por pulverização adotadas na presente investigação foram adequadas para a produção de microcápsulas do extrato do bagaço de uva com baixo teor de umidade.

A atividade de água é um índice essencial para pós microencapsulados, pois determina a vida útil do produto. Varia com o conteúdo de umidade, pois mede a disponibilidade de água livre em um sistema alimentar que é responsável por quaisquer reações bioquímicas, enquanto o conteúdo de umidade representa a composição da água em um sistema alimentar (Nawi et al., 2015). Como é mostrado na Tabela 2, a atividade de água das microcápsulas de extrato do bagaço de uva variou de 0,045 a 0,078. Esta faixa é considerada microbiologicamente estável. Contudo, o tratamento padrão (S) formulado com MD e GA difere estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos e o tratamento T<sub>1</sub>, formulados com MD: GA: HM, apresenta atividade de água significativamente superior os tratamentos T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>. Esse resultado pode ser atribuído à estrutura química da MD e da GA, que possuem elevado número de ramificações com grupos hidrofílicos e, portanto, resulta em uma maior capacidade de ligação à água (Silva et al., 2013; Pieczykolan & Kurek, 2019). No entanto, ambos os tratamentos são considerados estáveis em relação à possibilidade de contaminação microbiana onde os valores de atividade de água foram inferiores a 0,3. Karrar et al. (2021) apontam que pós com atividade de água inferior a 0,3 são considerados como possuidores de alta estabilidade de vida de prateleira contra o crescimento microbiano. O baixo conteúdo de umidade e atividade de água das microcápsulas são preferíveis, caso contrário, pode ocorrer a aceleração da degradação do material do núcleo e diminuição da fluidez do pó.

### 3.3 Solubilidade, dissolução e higroscopicidade

A solubilidade é um fator decisivo para a qualidade das microcápsulas a serem utilizadas como ingredientes na indústria alimentícia. Microcápsulas pouco solúveis podem causar dificuldades de processamento e perdas econômicas (Chew et al., 2018). Os resultados deste estudo mostram que as microcápsulas foram estatisticamente diferentes em termos de solubilidade (Tabela 2). A solubilidade das microcápsulas variou de 75,7% a 64,9%, valores semelhantes aos observados nos extratos microencapsulados de licopeno (Souza et al., 2018), cidra com dedos ou cidreira (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) (Mahdi et al., 2020) e mirtilo (Rosa et al., 2021), e superiores aos relatados no óleo essencial de alecrim (Fernandes et al., 2014). O tamanho de partículas e a composição do alimento são os principais fatores que estão diretamente relacionados com a solubilidade aquosa dos pós. Quanto menores forem as partículas, maior a área de superfície disponível para hidratação (Kuck & Noreña, 2016; Pieczykolan & Kurek, 2019). Resultados superiores para MD: GA eram esperados, uma vez

que este tratamento possui agentes carreadores amplamente utilizado em processos de secagem por pulverização devido à sua alta solubilidade. No entanto, os resultados para IN (Tratamento T<sub>2</sub>) comprovaram que esse material também é um bom carreador para processos de secagem por pulverização.

O teste de dissolução mede o tempo (em segundos) necessário para o pó se reconstituir totalmente em água usando barra magnética. Os resultados são mostrados na Tabela 2. As microcápsulas produzidas com uma combinação de MD: GA (Tratamento S) apresentaram maior tempo de dissolução, seguido pelas partículas produzidas com MD: GA: HM (Tratamento T<sub>1</sub>). As partículas produzidas com a combinação de todos agentes carreadores MD: GA: HM: IN (Tratamento T<sub>3</sub>) apresentaram o menor tempo de dissolução. A partir dos resultados, pode-se mencionar que o tratamento T<sub>3</sub> é altamente solúvel em comparação com o tratamento S. Nawi et al. (2015) descrevem que o tempo gasto no teste de dissolução pode estar relacionado ao teor de umidade do produto final, ou seja, quanto menor o teor de umidade do pó, mais difícil será para o pó ser reconstituído em água. No entanto, essa relação direta não corrobora com os resultados encontrados neste estudo. Os pós microencapsulados referentes ao tratamento T<sub>3</sub> apresentaram o menor conteúdo de umidade (1,8%) e, conseqüentemente, o menor tempo de dissolução (131,5 segundos). Enquanto o tratamento S, que apresentou o maior tempo de dissolução (289 segundos), apresenta teor de umidade superior (2,1%). No entanto, outros fatores podem estar influenciando essa propriedade, como a polaridade dos agentes carreadores (Subtil et al., 2014).

A higroscopicidade é um dos parâmetros mais importantes para determinar a estabilidade dos pós. Representa a capacidade de um material de absorver umidade da atmosfera. A higroscopicidade das microcápsulas obtidas variou entre 10,1% a 12,9% (Tabela 2), indicando baixa higroscopicidade, facilitando sua conservação e preservação de cor e compostos bioativos. Karrar et al. (2021), apontam que os tratamentos com menor teor de umidade teriam higroscopicidade crescente, pois a capacidade de absorver umidade está relacionada ao gradiente de concentração de água entre o produto e o ambiente, afirmação que corrobora com os resultados encontrados neste estudo. O menor valor desse parâmetro foi obtido no tratamento S (10,1%), afirmando que quanto maior a umidade menor a higroscopicidade, podendo-se concluir que esse pó terá tempo de prateleira significativo. Essa diferença pode ser atribuída a maior concentração de MD presente neste tratamento uma vez que a MD é pouco higroscópica. Rezende et al. (2018) encontraram valores de higroscopicidade de 12,4% para o extrato de polpa de acerola encapsulado com MD: GA em secagem por pulverização. Souza et al. (2018) encontraram valores de higroscopicidade que variaram entre 9 e 14% para extrato de licopeno

seco por pulverização. Resultados superiores foram relatados em estudos usando GA e IN como agentes carreadores (Silva et al., 2013; Daza et al., 2016). No entanto, diferenças na higroscopicidade de diferentes materiais resultam de estrutura química variada e diferentes reações com a umidade presente no ambiente (Pieczykolan & Kurek, 2019).

### 3.4 Características estruturais

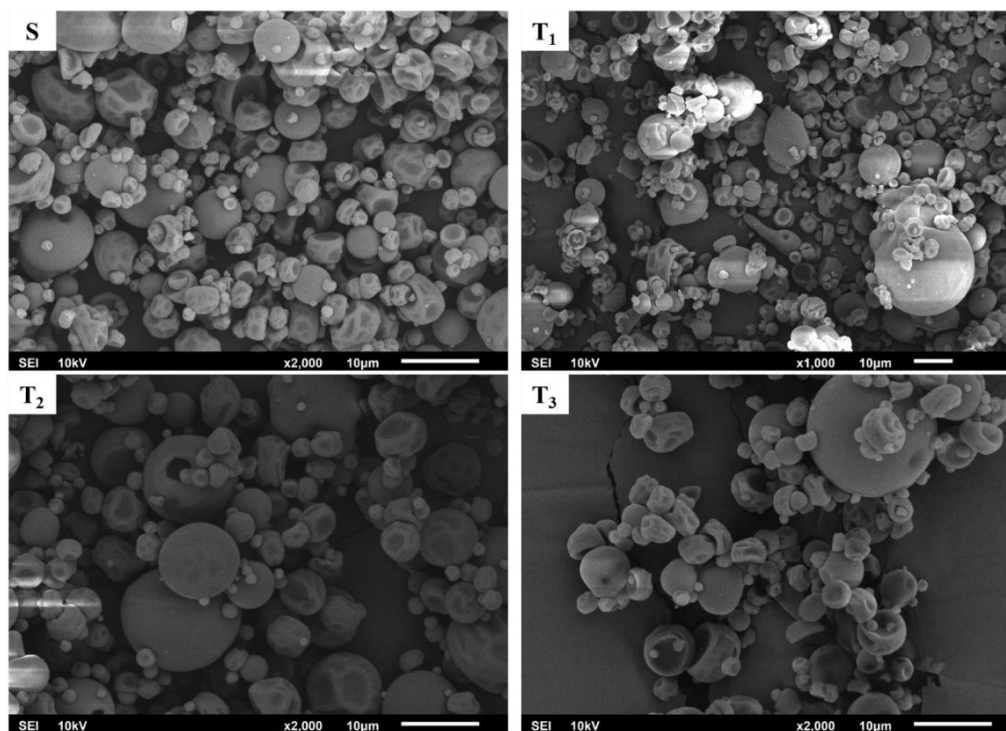
#### 3.4.1 Morfologia e distribuição de tamanho de partícula

A estrutura das microcápsulas pode ser significativamente revelada por sua morfologia, que fornece uma ideia básica a respeito da estabilidade e vida útil do composto encapsulado. As microestruturas das microcápsulas preparadas usando diferentes misturas de agentes carreadores (MD, GA, HM e IN) contendo extrato do bagaço de uva são representadas por meio de micrografias (Fig. 2). As microcápsulas foram examinadas por MEV, a fim de determinar a presença de fraturas, rachaduras ou quaisquer outros possíveis defeitos que poderiam expor o núcleo uma vez que qualquer fratura pode levar a degradação e oxidação do material encapsulado (Mahdi et al., 2020).

Semelhante ao presente estudo (Tratamento S), Mahdavi et al. (2016) e Tolun et al. (2020) elucidaram que pós contendo GA e MD como materiais de parede, fornecem microcápsulas adequadamente lisas e estruturas mais estáveis em relação ao revestimento, mas não uniformes, apresentando irregularidades morfológicas na superfície e ligeira aglomeração, corroborando com os resultados encontrados. O tratamento T<sub>1</sub> contendo MD: GA: HM apresentou partículas esféricas e lisas. Rosa et al. (2021), ao microencapsular extrato de mirtilo recoberto com os mesmos agentes carreadores utilizados neste estudo, obtiveram microcápsulas esféricas, porém rugosas, esses resultados podem ser atribuídos à concentração de agente carreador utilizado.

As microcápsulas contendo IN como agente carreador (Tratamento T<sub>2</sub>) diferem significativamente em aparência dos outros tratamentos. As partículas são esféricas, regulares, sem ramificações ou fissuras. Cápsulas revestidas com IN com a forma de bolas lisas e regulares, também foram observadas por Sun-Waterhouse et al. (2013) e Daza et al. (2016). No entanto, existem estudos (Pieczykolan & Kurek, 2019; Rosa et al., 2021) em que as cápsulas revestidas com IN apresentam tamanho e formas irregulares facilitando a formação de aglomeração, o que é indesejável. As microcápsulas desenvolvidas utilizando os quatro agentes carreadores testados nesse estudo (Tratamento T<sub>3</sub>) apresentaram maior aglomeração, resultados que corroboram com os apresentados por Rosa et al. (2021). De acordo com as imagens de MEV, em geral, as microcápsulas apresentam características morfológicas semelhantes,

indicando que o processo de secagem foi uniforme. Diferentes morfologias e superfícies irregulares podem estar relacionadas à diferenças na proporção de alimentação, tamanho de gota e temperatura durante o processo de secagem (Daza et al., 2016).



**Fig. 2** Imagens morfológicas do extrato do bagaço de uva microencapsulado com diferentes combinações de agentes carreadores. Tratamento padrão (S): maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10% (S a 2000x e 10 µm); T<sub>1</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5% (T<sub>1</sub> a 1000x e 10 µm); T<sub>2</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5% (T<sub>2</sub> a 2000x e 10 µm); e T<sub>3</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5% (T<sub>3</sub> a 2000x e 10 µm).

O tamanho das partículas secas em secagem por pulverização é um fator importante devido à sua forte influência em sua aparência, fluidez e dispensabilidade (Fernandes et al., 2014). A Tabela 3 mostra a distribuição do tamanho de partícula dos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>. O tamanho de partícula foi significativamente afetado ( $p < 0,05$ ) pelo tipo de agente carreador. As partículas produzidas com MD: GA: IN (Tratamento T<sub>2</sub>) apresentaram os maiores tamanhos, 11,4 µm, expressos como  $D_{[4,3]}$  (diâmetro médio de volume). Também para este tratamento, a faixa mais ampla de tamanhos de partícula foi encontrada ( $D_{v,10} = 2,3$  µm,  $D_{v,50} = 11,2$  µm e  $D_{v,90} = 19,2$  µm). Quando o HM (Tratamento T<sub>1</sub>), foi adicionado, o tamanho das partículas diminuiu e foi obtido um valor médio de 7,4 µm, apresentando diferença significativa entre os tratamentos. Rosa et al. (2021) apresentaram resultados semelhantes aos relatados neste estudo ao microencapsular extrato de mirtilo, utilizando os mesmos agentes carreadores. Pieczykolan

& Kurek (2019) relataram diâmetros maiores (53  $\mu\text{m}$ ) em microcápsulas de chokeberry, produzidas com MD e GA, resultado que não corrobora com os encontrados no estudo para a mesma condição (Tratamento S) que apresentou valores médios de partícula de 9  $\mu\text{m}$ .

De acordo com a literatura, o diâmetro das partículas secas por pulverização depende do método de atomização utilizado, das propriedades do material, da concentração e da viscosidade do material encapsulado e das condições de secagem (temperatura de entrada, fluxo de alimentação) (Jafari et al., 2008; Tupuna et al., 2018). Além do mais, o tamanho da partícula é afetado pela estrutura polimérica do agente carreador. Quanto mais curta for a cadeia do polímero, menor será o tamanho da partícula (Pieczykolan & Kurek, 2019). Os tamanhos obtidos neste trabalho estão dentro da faixa esperada para microesferas produzidas por secadores por spray comuns (sem pulverizador centrífugo de alta velocidade), 5–150  $\mu\text{m}$  (Favaro-Trindade et al., 2008) e, além disso, partículas com diâmetros abaixo de 100  $\mu\text{m}$  podem ser incorporadas alimentos sem interferir negativamente na textura do produto final e na percepção dos consumidores (Comunian et al., 2017; Rubio et al., 2020).

O espalhamento das partículas, calculado usando a equação de amplitude mostrou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos. Este valor variou de 1,4 (Tratamento T<sub>3</sub>) a 1,5 (Tratamento S), sendo MD: GA: IN (Tratamento T<sub>2</sub>) o agente carreador que resultou no maior valor de spam, diferindo estatisticamente à 5% de probabilidade dos demais tratamentos. Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Chew et al. (2018) e inferiores aos encontrados por Fernandes et al. (2014). O valor de amplitude baixo encontrado neste estudo ( $< 2,0$ ) auxilia em uma melhor capacidade de fluxo em pós devido à homogeneidade das microcápsulas (Fernandes et al., 2014), tendo em vista que não há alterações significativas nas propriedades físicas dos pós durante a secagem, resultados que corroboram com os bons índices de solubilidade encontrados neste estudo.

**Tabela 3** Distribuição do tamanho de partícula, diâmetro de volume médio (D 4,3) e amplitude das microcápsulas de extrato do bagaço de uva seco por pulverização usando diferentes agentes carreadores.

Tratamentos	Razão	D v,10 (µm)	D v,50 (µm)	D v,90 (µm)	D 4,3 (µm)	$Span = \frac{(Dv,90 - Dv,10)}{Dv,50}$
S	MD: GA	1,5 ± 0,0 <sup>d</sup>	9,4 ± 0,0 <sup>c</sup>	15,5 ± 0,0 <sup>c</sup>	9,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	1,5 ± 0,0 <sup>b</sup>
T <sub>1</sub>	MD: GA: HM	1,7 ± 0,0 <sup>c</sup>	7,5 ± 0,0 <sup>d</sup>	12,2 ± 0,0 <sup>d</sup>	7,4 ± 0,0 <sup>d</sup>	1,4 ± 0,0 <sup>c</sup>
T <sub>2</sub>	MD: GA: IN	2,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	11,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	19,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	11,4 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,0 <sup>a</sup>
T <sub>3</sub>	MD: GA: HM: IN	2,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	9,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	15,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	9,8 ± 0,0 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,0 <sup>c</sup>

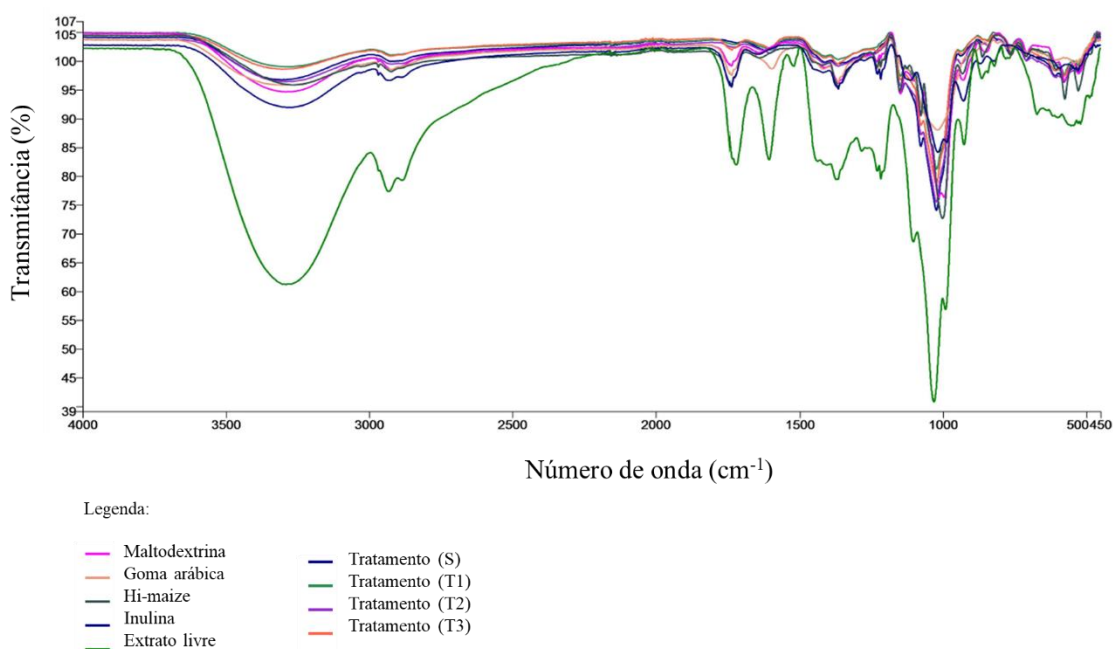
Tratamentos: S, maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; T<sub>1</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; T<sub>2</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; T<sub>3</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

D v,10 representa o valor abaixo de 10%; D v,50 representa o valor abaixo de 50%; D v,90 representa o valor abaixo de 90%.

Os resultados são expressos como média ± erro padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

### 3.4.2 Mudanças na organização molecular

Grupos funcionais orgânicos, especialmente O–H, N–H e C=O são medidos por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Neste contexto, a espectroscopia FT-IR foi conduzida para confirmar a encapsulação dos polifenóis dentro dos polímeros e para detectar as mudanças moleculares nas microcápsulas devido à interação dos polifenóis com o agente carreador. A Fig. 3 mostra os espectros de todos os componentes envolvidos no processo de microencapsulação e das microcápsulas produzidas, enquanto que os espectros individuais de cada componente podem ser verificados separadamente no material suplementar.



**Fig. 3** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), das microcápsulas (Tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>), dos agentes transportadores (maltodextrina, goma arábica, hi-maize e inulina) e do extrato do bagaço de uva cv. Merlot liofilizado (livre/puro).

Espectros de FT-IR dos agentes carreadores (MD, GA, HM e IN) (Fig. A.1, material suplementar) mostraram bandas largas na região espectral 3500–3000  $\text{cm}^{-1}$  que correspondem a grupos –OH de carboidratos, ácidos carboxílicos e água residual, enquanto as bandas em  $\sim 2900 \text{ cm}^{-1}$  resultaram da vibração de alongamento da ligação C–H (Kalušević et al., 2017; Karrar et al., 2021).

O espectro da MD (Fig. A.1a, material suplementar) mostrou ainda, bandas de absorção em 1634  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1366  $\text{cm}^{-1}$  (O–H), e 1148  $\text{cm}^{-1}$ , 1078  $\text{cm}^{-1}$ , 990  $\text{cm}^{-1}$  (C–O e C–O–H), 926, 849, 759, 600, 570 e 539 todas de grupos encontrados nos carboidratos corroborando com

resultados já relatados (Kang et al., 2019; Karrar et al., 2021; Mahdi et al., 2020; Moreno et al., 2018).

O espectro da GA (Fig. A.1b, material suplementar) apresentou bandas de absorção em  $1598\text{ cm}^{-1}$  (C=O ou N-H),  $1366\text{-}1418\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3$  e C-H), and  $1013\text{ cm}^{-1}$  (C-O), 840, e 750 (O-H), semelhantes aos relatados por Chew et al. (2018); Kang et al. (2019); Karrar et al. (2021); and Mahdi et al. (2020).

O espectro FT-IR do HM (Fig. A.1c, material suplementar) apresenta bandas na faixa entre  $1366$  e  $1419\text{ cm}^{-1}$  relacionadas a deformação de grupos metila (C-H). As bandas entre  $1100$  e  $1150\text{ cm}^{-1}$  são relatadas para indicar o alongamento C-O, C-C e C-O-H, enquanto os picos na região de  $1100\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  indicam dobra C-O-H. Bandas em região  $1634\text{ cm}^{-1}$  são características de deformação angular de ligações (-OH), indicando presença de água ligada na região amorfa dos grânulos de amido. A “região da impressão digital” para polissacarídeos é geralmente considerada na região do número de onda de  $1000$  a  $1220\text{ cm}^{-1}$  (Chakravarty et al., 2021), corroborando com os dados encontrados.

O espectro FT-IR da IN teve bandas de absorção em  $3287$ ,  $2970$ ,  $2965$ ,  $1739$ ,  $1690$ ,  $1419$ ,  $1366$ ,  $1222$ ,  $1217$ ,  $1159$ ,  $1113$ ,  $1092$ ,  $1017$ ,  $987$ ,  $928$ ,  $883$ ,  $866$ ,  $591$  e  $528\text{ cm}^{-1}$  (Fig. A.1d, material suplementar). As bandas que apareceram em  $1739$  e  $1690\text{ cm}^{-1}$  não são específicas para IN segundo El-Kholy et al. (2020), que devido as propriedades higroscópicas deste polissacarídeo pode ter ocorrido absorção de água.

Para as microcápsulas, (Fig. B.1a; B.1b; B.1c e B.1d; material suplementar), picos de hidroxila característicos (O-H) foram observados em torno de  $3280\text{ cm}^{-1}$ . Os picos correspondentes ao C-H que se estende do grupo carboxílico apareceram em torno de  $2900\text{ cm}^{-1}$ . Picos  $1150\text{ cm}^{-1}$ ,  $1075\text{ cm}^{-1}$  e  $1020\text{ cm}^{-1}$  que correspondem ao alongamento de C-O e curvatura de C-O-H apareceram em todos os tratamentos (Mahdi et al., 2020). Regiões entre  $1600\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  têm a região de distinção entre moléculas (impressão digital molecular) (Mendes et al., 2021). Esses picos estão relacionados aos polifenóis, o que implica na possível presença desses compostos nas microcápsulas produzidas (Kalušević et al., 2017). Observou-se que as bandas das microcápsulas são estreitas quando comparadas às do extrato livre, o que sugere que a incorporação dos polifenóis altera a ordem molecular, conforme relatado por Ahmad et al. (2018). Em comparação com as intensidades de pico dos agentes carreadores, as intensidades dos picos de hidroxila para todas as microcápsulas diminuíram consideravelmente. Isso implica que os grupos hidroxila dos agentes carreadores participaram de reações químicas durante a secagem por pulverização, como ligação de hidrogênio e/ou esterificação entre MD,



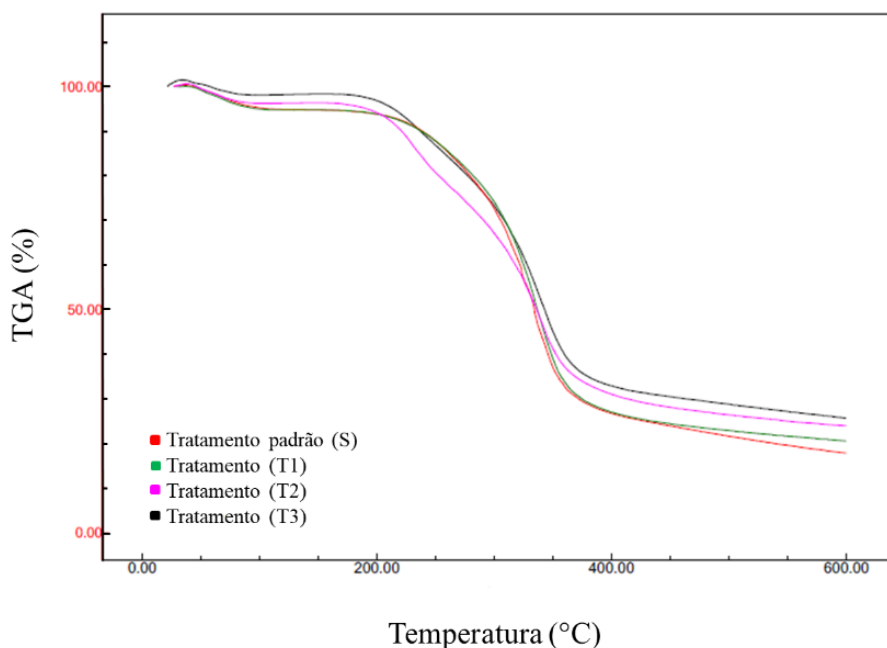
GA, HM e IN. A incorporação dos agentes carreadores (HM e IN, respectivamente) ao tratamento padrão (S) são quimicamente estáveis devido à ausência de deslocamento do número de onda e além do mais, nenhum novo grupo químico foi produzido, uma vez que picos semelhantes foram observados.

O extrato do bagaço de uva puro (Fig. C.1, material suplementar) exibiu bandas de absorção típicas de estruturas fenólicas. Foram observadas faixas de alongamento de O–H em  $3294\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a vibrações do grupo hidroxila da estrutura fenólica. O pico em  $2935\text{ cm}^{-1}$  foi atribuído ao trecho  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ , estando intimamente relacionado com compostos aromáticos com ligações fenil semelhantes às dos compostos polifenólicos, como os flavonóides (Ballesteros et al., 2017). As bandas a  $1722\text{ cm}^{-1}$  pertencem à vibração de alongamento do C–O e as bandas a  $1034\text{ cm}^{-1}$  correspondentes à vibração de flexão dos grupos C–O–C podem indicar a presença de carboidratos, enquanto pequenas bandas em torno deste pico poderiam aparecer devido à presença de ácidos orgânicos (Favaro et al., 2018). A banda de absorção de  $1372\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à deformação OH em plano nos polifenóis (Favaro et al., 2018). A região entre  $1280\text{--}1430\text{ cm}^{-1}$  compreende uma área importante onde bandas de polifenóis podem ser encontrados, como ácidos gálico e tânico e catequinas (Rubio et al., 2020). Picos em torno de  $1283\text{--}1217\text{ cm}^{-1}$  estão relacionados com a presença de taninos condensados (proantocianidinas) (Souza et al., 2015). Esses picos podem ser vistos principalmente no extrato puro, e menos intensamente, nas microcápsulas. As proantocianidinas são encontradas principalmente em sementes de uva, que faziam parte do subproduto usado. Bandas na região espectral  $1607\text{--}947\text{ cm}^{-1}$  foram encontradas, onde diversas bandas de polifenóis encontrados nas uvas podem ser observadas, provavelmente relacionadas a compostos orgânicos como açúcares, álcoois e ácidos orgânicos que provavelmente estão presentes no extrato (Kalušević et al., 2017).

### 3.4.3 Estabilidade térmica

A análise termogravimétrica (TGA) explora a degradação térmica da amostra por perda de massa em uma determinada faixa de temperatura. Esta análise permite conhecer as alterações que o aquecimento irá provocar no material e permite estabelecer a faixa de temperatura em que a amostra adquire uma composição química constante e a temperatura em que a amostra começa se decompor (Mendes et al., 2021; Denari & Cavalheiro, 2012). Para avaliar as alterações físico-químicas nas microcápsulas com o aumento da temperatura, os pós foram submetidos à TGA, considerando a perda de peso até  $600\text{ }^\circ\text{C}$  (Fig. 4). As curvas termogravimétricas em alimentos em pó apresentam 3 fases de perda de massa, sendo a primeira

próxima a 100 °C e representando a perda de umidade na superfície do material. O segundo estágio caracteriza a degradação do agente carreador e a volatilização do material do núcleo (agente ativo). A terceira fase caracteriza a degradação dos compostos orgânicos remanescentes e a formação de cinzas (Campelo et al., 2018).



**Fig. 4** Termogramas TGA das microcápsulas de extrato do bagaço de uva. Tratamento padrão (S): maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; T<sub>1</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; T<sub>2</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; e T<sub>3</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

Os resultados da perda de massa foram semelhantes em todos os tratamentos, sendo que o tratamento T<sub>2</sub> apresentou dois estágios de degradação. O primeiro estágio para os tratamentos S (entre 44,1 e 80,3 °C), T<sub>1</sub> (entre 51,1 e 88,2 °C), T<sub>2</sub> (entre 40,4 e 80,8 °C), e T<sub>3</sub> (entre 37 e 74,5 °C), envolve a perda de massa de umidade, com T °C<sub>max.</sub> a 66,8 °C (S), 65,2 °C (T<sub>1</sub>), 61,9 °C (T<sub>2</sub>), e 61,4 °C (T<sub>3</sub>). Essas informações são obtidas a partir da curva DrTGA (mg min<sup>-1</sup>) (Fig. A.2, material suplementar), que permite melhor visualização de alguns eventos térmicos por meio de picos e observação da T °C<sub>max.</sub>, correspondendo à temperatura na qual a perda de massa é máxima (Araújo et al., 2020).

O segundo estágio corresponde à região onde ocorrem as reações de decomposição e onde ocorreu a maior perda de peso das amostras. As taxas de decomposição dos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, foram máximas em 218,2, 322,9, 328,5 e 315,1 °C, respectivamente (Fig. A.2, material

suplementar). Sendo que a maior perda de massa foi observada no tratamento T<sub>1</sub> (69,1%), seguido do tratamento S (67,7%) e T<sub>3</sub> (65,1%). O tratamento T<sub>2</sub> apresentou a menor perda de massa (62,7%), no entanto apresentou dois picos de perdas em 224,2 °C (perda 17,5%) e 328,5 °C (perda 45,2%). Observa-se que as microcápsulas apresentam degradação térmica lenta. Inferindo que este comportamento pode estar associado à menor volatilização e degradação oxidativa do extrato do bagaço de uva devido à proteção conferida pelos agentes carreadores (Mäkelä et al., 2017). Como as análises foram realizadas em atmosfera inerte, a degradação total das microcápsulas ao teor de cinzas não foi concluída (esta parte relacionada à terceira etapa, a degradação total da amostra).

### 3.5 Análise colorimétrica

O processo de secagem por pulverização produziu pós (microcápsulas) de cor rósea, com variação de tonalidade de acordo com a concentração do agente carreador (Fig. 1C). As microcápsulas obtidas em secagem por pulverização mostraram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos parâmetros L\*, a\* e b\* conforme mostrado na Tabela 4.

As microcápsulas preparadas com diferentes agentes carreadores apresentaram diferenças estatisticamente significativas. A diferença de cor foi evidenciada pelos valores de L\*, uma vez que as microcápsulas oriundas dos tratamentos T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> eram mais escuras, com valores de L\* entre 47 e 49,1, e os tratamentos S e T<sub>1</sub> eram mais claros com valores entre 50,7 e 50,3, estes resultados são notavelmente observados na Fig. 1C. Para o parâmetro de cor a\*, todas as microcápsulas apresentaram valores positivos variando de 4 a 6, indicando um vermelho mais profundo em todos os tratamentos. Enquanto que o parâmetro de cor b\*, apresenta valores negativos mais baixos, variando de -2 a -1,3, indicam um aumento da cor azul provavelmente relacionado à incorporação de pigmentos como as antocianinas (Ahmad et al., 2018), uma classe de polifenóis presente no extrato do bagaço de uva.

O tratamento T<sub>2</sub> (MD: GA: IN) diferiu marcadamente na cor em comparação com os demais tratamentos, com um valor L\* mais escuro, valor a\* mais vermelho e valor b\* mais azul. Isso provavelmente se deve à interferência da cor da IN na cor das microcápsulas, uma vez que a concentração de extrato do bagaço de uva foi igual em todos os tratamentos, comportamento semelhante ao observado por Castel et al. (2018).

Os valores do ângulo da matriz entre 341,7 e 342,3 confirmaram a tendência das microcápsulas para a tonalidade vermelha (Matriz = 360°). O Croma\* foi maior para o tratamento T<sub>2</sub>, o que significa que esse tratamento apresenta maior saturação ou pureza de cor, o que é uma característica desejável (Rezende et al., 2018).

**Tabela 4** Análise colorimétrica das microcápsulas de extrato do bagaço de uva usando quatro combinações diferentes de agentes carreadores.

Combinação de agentes carreadores		Cor				
Tratamentos	Razão	L*	a*	b*	Matriz (°)	Croma*
S	MD: GA	50,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>c</sup>	-1,3 ± 0,0 <sup>c</sup>	341,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,1 <sup>c</sup>
T <sub>1</sub>	MD: GA: HM	50,3 ± 0,7 <sup>ab</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	-1,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	342,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,1 <sup>b</sup>
T <sub>2</sub>	MD: GA: IN	47,0 ± 0,4 <sup>c</sup>	6,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	-2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	341,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,2 <sup>a</sup>
T <sub>3</sub>	MD: GA: HM: IN	49,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	-1,6 ± 0,0 <sup>b</sup>	341,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,1 <sup>b</sup>

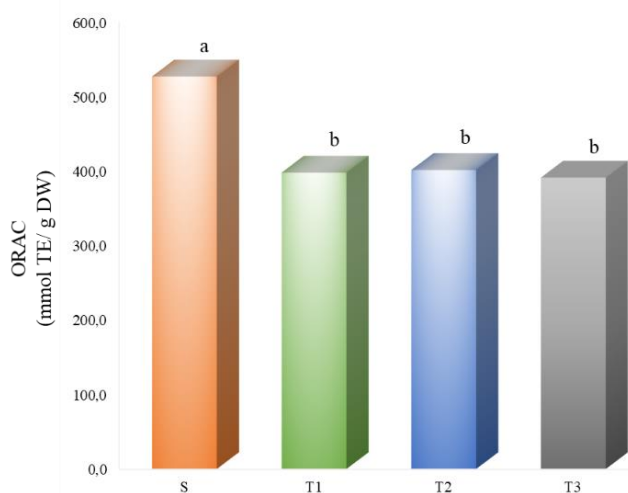
Combinações: MD: GA; Tratamento padrão (S): maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; MD: GA: HM; Tratamento T<sub>1</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; MD: GA: IN; Tratamento T<sub>2</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; e MD: GA: HM: IN; Tratamento T<sub>3</sub>: maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

No sistema CIE-Lab: L\* denota brilho na escala de 0–100 do preto ao branco; a\* (+) vermelho ou (-) verde; e b\* (+) ou amarelo (-) azul. Matiz (°): ângulo de matiz, indica a cor da amostra (0 ° ou 360 ° = vermelho, 90 ° = amarelo, 180 ° = verde e 270 ° = azul); Croma\* indica a pureza ou saturação da cor.

Os resultados são expressos como média ± erro padrão (n = 5). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

### 3.6 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi medida como a capacidade de eliminar os radicais peroxila e teve a seguinte ordem para as microcápsulas obtidas com diferentes agentes carreadores:  $527,1 \pm 0,9$  (Tratamento S, MD: GA),  $401,5 \pm 7,7$  (Tratamento T<sub>2</sub>, MD: GA: IN),  $398,1 \pm 6,5$  (Tratamento T<sub>1</sub>, MD: GA: HM) e  $391,4 \pm 8,6$  (Tratamento T<sub>3</sub>, MD: GA: HM: IN), dados expressos em mmol TE g<sup>-1</sup> de amostra em base seca. Observando a Fig. 5, não houve diferença significativa entre os tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, mas todos eles diferiram ao tratamento padrão (S), o qual apresentou atividade antioxidante maior em comparação com os 3 tratamentos. Altos valores de atividade antioxidante foram encontrados no extrato livre do bagaço de uva (Moro, Bender, Ferreira, et al., 2021), culminando com os bons índices de atividade antioxidante presentes nas microcápsulas produzidas.



**Fig. 5** Atividade antioxidante das microcápsulas produzidas com extrato do bagaço de uva. Tratamentos: S, maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; T<sub>1</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; T<sub>2</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; T<sub>3</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%. TE: equivalente Trolox; DW: peso seco. Os resultados são expressos como média ± erro padrão (n = 3). Os valores médios seguidos pelos mesmos sobrescritos não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Os resultados encontrados são superiores aos valores de ORAC relatados por Rosa et al. (2021) na microencapsulação de extrato de mirtilo, em secagem por pulverização, usando agentes carreadores equivalentes aos do presente estudo. A atividade antioxidante apresentada pelas microcápsulas sugere que os polifenóis presentes no extrato do bagaço de uva microencapsulado apresentam significativa capacidade sequestrante de radicais livres e, portanto, representa uma fonte promissora de agente antioxidante primário, de grande

importância para a indústria de alimentos (Bennemann et al., 2018; Moro, Bender, Ferreira, et al., 2021). É importante ressaltar que a aplicação de tecnologias limpas, como o MHG, para a recuperação de compostos bioativos se mostra bastante promissora. Assim, a associação desta tecnologia a processo de microencapsulação, como a secagem por pulverização, possibilita promover a estabilidade e integridade destes extratos sob ações adversas do meio, garantindo uma maior vida útil deste produto.

### 3.7 Estabilidade dos compostos antociânicos sob diferentes condições de armazenamento

Compreender os mecanismos de degradação é importante para maximizar a qualidade nutricional e sensorial dos produtos (Zhang et al., 2020). No entanto, devido a considerável sensibilidade dos compostos antociânicos, a degradação da concentração de antocianinas monoméricas totais é inevitável (Rosa et al., 2021). Pode-se observar que a estabilidade das antocianinas em todas as microcápsulas armazenadas a  $-18 \pm 0,1$  °C (Tabela 5) foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior do que as microcápsulas armazenadas a  $3 \pm 4$  °C e  $16,5 \pm 4$  °C, respectivamente. Inferindo que quanto maior a temperatura de armazenamento, menor a retenção de antocianinas.

Para a constante de degradação ( $k$ ) das microcápsulas expostas à diferentes condições de temperatura, observa-se que houve redução desse parâmetro, quando as microcápsulas foram armazenadas em baixas temperaturas. Comportamento semelhante aos observados por Rosa et al. (2021), ao microencapsular extrato de mirtilo. Os menores valores de  $k$  foram observados no tratamento T1 (MD: GA: HM) armazenado em temperatura de congelamento (0,00017) e refrigeração (0,00031). Enquanto que a maior perda foi observada no tratamento T3 em ambas as condições de armazenamento. Rosa et al. (2021) afirmam que o menor valor da  $k$  corresponde à menor perda durante o armazenamento e, conseqüentemente, a um maior tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ), afirmação que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo.

As meias-vidas mais curtas foram de 988 (ambiente), 1100 (refrigeração) e 1238 (congelamento) dias, ambas encontradas no tratamento T<sub>3</sub> e as meias-vidas mais longas, de compostos antociânicos das microcápsulas produzidas foram evidenciadas no tratamento T<sub>1</sub> para a temperatura ambiente (1233 dias), de refrigeração (2240 dias) e de congelamento (4088 dias), quando comparados ao tratamento S. No entanto, ambos os tratamentos apresentaram meias-vidas crescentes em função da temperatura de armazenamento, sendo que a temperatura de congelamento apresentou os melhores resultados de meias-vidas. Mahdavi et al. (2016) e Campelo et al. (2018) investigaram os efeitos das condições de armazenamento na estabilidade

de compostos bioativos e relataram uma maior estabilidade das microcápsulas em baixas temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 1$  °C).

**Tabela 5** Estabilidade dos compostos antociânicos presentes nas microcápsulas de extrato do bagaço de uva armazenadas em diferentes temperaturas (ambiente, refrigeração e congelamento).

Tratamentos	Dia 0	Dia 120	k	t½	% Perda total
Temperatura ambiente ( $16,5 \pm 4$ °C)					
S	$0,4609 \pm 0,0^{cd}$	$0,4375 \pm 0,0^f$	0,00043	1598	5,1
T <sub>1</sub>	$0,5288 \pm 0,0^a$	$0,4943 \pm 0,0^b$	0,00056	1233	6,5
T <sub>2</sub>	$0,4742 \pm 0,0^c$	$0,4409 \pm 0,0^{ef}$	0,00061	1137	7,0
T <sub>3</sub>	$0,4965 \pm 0,0^b$	$0,4564 \pm 0,0^{de}$	0,00070	988	8,1
Temperatura refrigeração ( $3 \pm 4$ °C)					
S	$0,4542 \pm 0,0^d$	$0,4342 \pm 0,0^d$	0,00038	1844	4,4
T <sub>1</sub>	$0,5154 \pm 0,0^{ab}$	$0,4965 \pm 0,0^{bc}$	0,00031	2240	3,7
T <sub>2</sub>	$0,5099 \pm 0,0^b$	$0,4765 \pm 0,0^c$	0,00056	1228	6,6
T <sub>3</sub>	$0,5344 \pm 0,0^a$	$0,4954 \pm 0,0^{bc}$	0,00063	1100	7,3
Temperatura congelamento ( $-18 \pm 0,1$ °C)					
S	$0,4876 \pm 0,0^{bcd}$	$0,4676 \pm 0,0^d$	0,00035	1983	4,1
T <sub>1</sub>	$0,5076 \pm 0,0^{ab}$	$0,4976 \pm 0,0^{bc}$	0,00017	4088	2,0
T <sub>2</sub>	$0,5076 \pm 0,0^{ab}$	$0,4809 \pm 0,0^{cd}$	0,00045	1539	5,3
T <sub>3</sub>	$0,5288 \pm 0,0^a$	$0,4943 \pm 0,0^{bc}$	0,00056	1238	6,5

Os resultados do teor de antocianinas monoméricas totais no dia 0 e no dia 120 são expressos em mg g<sup>-1</sup> de microcápsulas. R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; k: constante de degradação cinética; e t½: tempos de meia-vida. Tratamentos: S, maltodextrina DE20 10% e goma arábica 10%; T<sub>1</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e hi-maize 5%; T<sub>2</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5% e inulina 5%; T<sub>3</sub>, maltodextrina DE20 7,5%, goma arábica 7,5%, hi-maize 2,5% e inulina 2,5%.

Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (n = 3). Os valores médios indicados pela mesma letra em cada coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A indústria de alimentos tem investigado diversos métodos que visam buscar uma maior preservação de compostos bioativos perdidos ao longo de sua curta vida útil. A microencapsulação é uma técnica que tem sido utilizada como forma de preservação de alimentos uma vez que o uso de agentes carreadores na microencapsulação tende a proteger os compostos bioativos contra os fatores intrínsecos e extrínsecos do meio (Moro, Bender, da Silva, et al., 2021; Rivas et al., 2020). A meia-vida é usada para estimar o tempo que as microcápsulas levam para atingir 50% de sua concentração inicial, e é um parâmetro importante dentro da indústria alimentícia (Rosa et al., 2021). Valores elevados de meia-vida, como os encontrados nos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, são resultados importantes quando estão associados ao aumento da estabilidade e do prazo de validade dos compostos antociânicos, devido à instabilidade desses compostos.

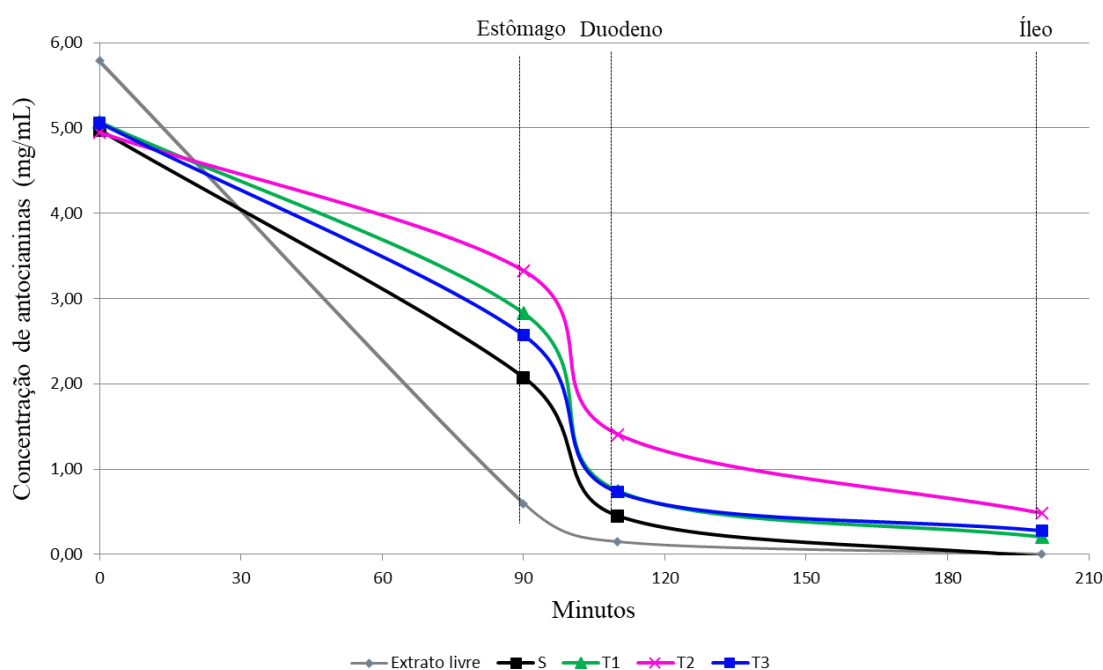
A perda total de antocianinas (%) no período de armazenamento foi determinada pela relação entre os compostos antociânicos no último dia de armazenamento (C<sub>120</sub>) e a concentração inicial (C<sub>0</sub>). Em todas as condições de armazenamento avaliadas a maior perda de antocianinas foi registrada no tratamento T<sub>3</sub>. Esses resultados sugerem que, a inclusão dos agentes carreadores HM e IN à formulação padrão, não foram eficientes em promover o aumento da estabilidade das antocianinas. No entanto, a adição apenas do HM à solução padrão, promoveu um aumento na estabilidade das antocianinas em temperatura ambiente (6,5 %), de refrigeração (3,7 %) e de congelamento (2 %). Valores de perda total variando de 2 a 20,4 % foram relatados por Rosa et al. (2021), Pieczykolan & Kurek (2019) e Moser et al. (2017).

Conclusivamente, os resultados de estabilidade dos compostos antociânicos demonstram que todas as microcápsulas possuem boa estabilidade de armazenamento sob as condições de temperatura avaliadas. No entanto, o tratamento T<sub>1</sub> armazenado a  $-18 \pm 0,1$  °C apresentou a menor taxa de degradação de antocianinas e, conseqüentemente, o maior tempo de meia-vida, enquanto que o tratamento T<sub>3</sub> apresentou a maior taxa de degradação nas condições e o menor tempo de meia-vida, sugerindo que a combinação de MD, GA, HM e IN não é eficaz na proteção de antocianinas quando comparado a adição de HM e IN separadamente ao tratamento padrão. Contudo, o uso combinado de agentes carreadores é frequentemente relatado como alternativas possíveis e viáveis para a microencapsulação de compostos bioativos, garantindo melhor estabilidade e preservação destes compostos (Moro, Bender, da Silva, et al., 2021; Sharif et al., 2020).



### 3.8 Efeito das condições gastrointestinais simuladas na liberação de compostos de antocianina

A liberação *in vitro* de antocianinas monoméricas das microcápsulas obtidas no presente estudo foi avaliada em fluidos gástrico e intestinal simulados. A porcentagem de liberação de compostos de antocianina das microcápsulas em várias condições do trato gastrointestinal é ilustrada na Tabela A.1 (material suplementar). Conforme mostrado na Fig. 6, a liberação de antocianinas foi efetivamente controlada pelo revestimento protetor dos agentes carreadores. O extrato livre apresentou concentração inicial de antocianinas monoméricas totais de  $5,8 \text{ mg mL}^{-1}$  (pH 2,98), sendo significativamente diferente da concentração inicial apresentada pelas microcápsulas: tratamento S ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ), tratamento T<sub>1</sub> ( $5,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ), tratamento T<sub>2</sub> ( $4,9 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e tratamento T<sub>3</sub> ( $5,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ), dados apresentados na Tabela A.1 (material suplementar).



**Fig. 6** Resistência dos compostos antocianínicos às condições gastrointestinais simuladas do extrato livre do bagaço de uva e dos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, na condição de congelamento, nas seguintes frações: esôfago/estômago (adição de pepsina, pH ajustado para 2,0 por 90 min); duodeno (adição de pancreatina e sais biliares, pH ajustado para 5,0 por 20 min); e íleo (pH ajustado para 7,5 por 90 min).

Na fração correspondente ao estômago (fase gástrica), estes foram adicionados à enzima pepsina e o pH ajustado para 2 ao longo de 90 min. Comparando o comportamento do extrato livre ( $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e dos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> ( $2,1$ ;  $2,8$ ;  $3,3$  e  $2,6 \text{ mg mL}^{-1}$ , respectivamente) nesta fração, foi possível observar o efeito protetor das microcápsulas em

relação ao extrato não encapsulado, que apresentou maior perda da concentração de antocianinas monoméricas totais, diferindo estaticamente das microcápsulas (Tabela A.1, material suplementar). De acordo com Rubio et al. (2018), os principais compostos bioativos são liberados durante a fase gástrica, pois o estômago é o principal local para a extração de bioativos, afirmação que confirma os resultados encontrados no presente estudo. Além do mais, os resultados sugeriram que as microcápsulas foram mais resistentes ao ambiente gástrico do estômago que o extrato livre e, conseqüentemente, protegem os compostos bioativos durante a passagem pelo estômago humano, corroborando com Mansour et al. (2020) e Burgos-Edwards et al. (2017).

Na fração intestinal que compõe o duodeno (pH 5), a concentração de antocianinas diminuiu significativamente em relação aos valores encontrados para a fração estomacal no extrato livre e em ambos os tratamentos. No entanto, apesar desta redução, ambas as microcápsulas diferiram do extrato livre apresentando maior preservação dos compostos, corroborando com os achados de Rosa et al. (2021), que avaliaram a resistência de compostos de antocianina de microcápsulas de mirtilo a condições gastrointestinais simuladas. O tratamento T<sub>2</sub> apresentou uma maior preservação de compostos antociânicos (1,4 mg mL<sup>-1</sup>), diferindo estaticamente dos demais tratamentos (Tabela A.1, material suplementar).

Na última fração do sistema gastrointestinal, correspondente ao íleo (pH 6,5), os valores obtidos também foram inferiores aos encontrados para as frações do estômago e duodeno, indicando perda dos compostos. No entanto, o tratamento S seguiu o mesmo comportamento do extrato livre, apresentando total degradação dos compostos antociânicos presentes. Os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>3</sub>, apresentaram ao final do sistema gastrointestinal concentração de antocianinas monoméricas equivalentes a 0,2 e 0,3 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. O tratamento T<sub>2</sub>, composto de MD: GA: IN apresentou a maior retenção de antocianina ao final da simulação gástrica (0,5 mg mL<sup>-1</sup>), inferindo, que a adição de IN ao tratamento padrão foi significativamente eficiente promovendo uma melhora na entrega de antocianinas em condições gastrointestinais simuladas, aumentando sua biodisponibilidade simulada em comparação com os demais tratamentos e ao extrato livre.

Os resultados observados no presente estudo nas diferentes frações do sistema gastrointestinal simulado estão de acordo com os achados descritos por Rosa et al. (2019) e Mansour et al. (2020), que analisaram o comportamento das antocianinas microencapsuladas e livres em relação à simulação gástrica. Eles relataram um menor nível de decaimento na concentração dos compostos nas microcápsulas, atribuindo essa diferença ao efeito protetor exercido pelos agentes carreadores.

#### 4. Conclusão

Os efeitos da microencapsulação, das condições de armazenamento e das condições gastrointestinais simuladas sobre os polifenóis extraídos do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L. ‘Merlot’) a partir da tecnologia verde de extração MHG foram extensivamente investigados neste estudo. Verificou-se que o uso de diferentes composições de material microencapsulante, MD e GA como formulação padrão, combinados com HM e IN, bem como uma combinação destes, levou a uma boa eficiência de encapsulação variando de 95,9 a 97,4% e um rendimento de processo aceitável (> 50%), foi evidenciado quando se adicionou HM ao tratamento padrão (Tratamento T<sub>1</sub>). A alta eficiência de microencapsulação resultou em uma alta atividade antioxidante para ambas as microcápsulas contendo compostos bioativos extraídos do bagaço de uva. As micrografias mostraram formas esféricas, lisas, irregularidades morfológicas e ligeira aglomeração, no entanto não foram observadas microcápsulas fraturadas, o que significa que as microcápsulas são menos permeáveis aos gases. As microcápsulas apresentaram tamanho variável de 7,4 a 11,4 µm, granulometria inferior à perceptível sensorial e degradação térmica lenta.

Os tratamentos formados a partir das diferentes combinações de agentes carreadores em relação ao tratamento padrão apresentaram as maiores concentrações iniciais de compostos antociânicos. O tratamento T<sub>1</sub> apresentou os menores valores de degradação constante (k) nas temperaturas de armazenamento testadas; principalmente na temperatura de congelamento, que correspondeu à menor perda durante o armazenamento e, conseqüentemente, maior meia-vida (t<sub>1/2</sub>). O tratamento T<sub>2</sub> foi eficaz na proteção dos compostos antociânicos do sistema gastrointestinal simulado quando comparado ao extrato livre, promovendo maior biodisponibilidade dos compostos. Os resultados mostram que a combinação de HM e IN separadamente ao tratamento padrão é mais eficiente quando comparada a combinação de ambos, uma vez que o tratamento T<sub>3</sub> exibiu uma maior taxa de degradação (k) de compostos antociânicos ao longo do armazenamento e, conseqüentemente, menor meia-vida (t<sub>1/2</sub>).

Estas descobertas provam que o uso combinado ou individual de MD, GA, HM e IN como agentes carreadores são eficazes e superiores ao tratamento padrão, uma vez que, resultou em microcápsulas com boa atividade antioxidante, estabilidade substancialmente melhorada dos compostos bioativos e proteção dos compostos antociânicos no sistema gastrointestinal simulado em comparação com as microcápsulas obtidas da formulação padrão. Usando as estratégias desenvolvidas neste estudo, o principal subproduto da cadeia vinícola, que têm pouco ou nenhum valor comercial, pode ser utilizado como ingrediente funcional pela indústria alimentícia. No entanto, estudos futuros são necessários para focalizar as aplicações dessas

microcápsulas em alimentos, a fim de investigar as propriedades físico-químicas e sensoriais dos produtos finais.

A tecnologia extrativa por MHG, seguida de microencapsulação consiste em uma alternativa robusta e eficiente para recuperação de polifenóis do bagaço de uva, permitindo sua sustentabilidade. Além do mais, a recuperação de polifenóis do bagaço de uva contribui para a redução dos impactos ambientais e perdas econômicas, estando desta forma, alinhada com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas.

### Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Os autores agradecem à Vinícola Velho Amâncio pela doação do bagaço de uva.

### Referências

- Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using  $\beta$  glucan and  $\beta$  cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122>
- Aizpurua-Olaizola, O., Navarro, P., Vallejo, A., Olivares, M., Etxebarria, N., & Usobiaga, A. (2016). Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes. *Food Chemistry*, 190, 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.117>
- Antonić, B., Jančíková, S., Dordević, D., & Tremlová, B. (2020). Grape pomace valorization: A systematic review and meta-analysis. In *Foods* (Vol. 9, Issue 11, p. 1627). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods9111627>
- AOAC. (1995). AOAC. Association of Official Analytical Chemists. In *Official Methods of Analysis* (16th ed.).
- Araujo-Díaz, S. B., Leyva-Porras, C., Aguirre-Bañuelos, P., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, Z. (2017). Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers*, 167, 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.065>

- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 237, 623–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Bennemann, G. D., Botelho, R. V., Torres, Y. R., Camargo, L. A., Khalil, N. M., Oldoni, T. L. C., & Silva, D. H. da. (2018). 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*, 21, e2017205. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.20517>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. *Drying Technology*, 15(2), 671–684. <https://doi.org/10.1080/07373939708917253>
- Bruno Romanini, E., Misturini Rodrigues, L., Finger, A., Perez Cantuaria Chierrito, T., Regina da Silva Scapim, M., & Scaramal Madrona, G. (2021). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca<sup>2+</sup> encapsulation. *Food Chemistry*, 338, 128101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128101>
- Burgos-Edwards, A., Jiménez-Aspee, F., Thomas-Valdés, S., Schmeda-Hirschmann, G., & Theoduloz, C. (2017). Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition and bioactivity of *Ribes magellanicum* and *R. punctatum* after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 237, 1073–1082. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.060>
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248–1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- Çam, M., İçyer, N. C., & Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011>

- Campelo, P. H., Sanches, E. A., Fernandes, R. V. de B., Botrel, D. A., & Borges, S. V. (2018). Stability of lime essential oil microparticles produced with protein-carbohydrate blends. *Food Research International*, 105, 936–944.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.034>
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420–428.  
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003>
- Castel, V., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R. (2018). Brea gum as wall material in the microencapsulation of corn oil by spray drying: Effect of inulin addition. *Food Research International*, 103, 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.036>
- Chakravarty, A., Tandon, M., Attri, S., Sharma, D., Raigond, P., & Goel, G. (2021). Structural characteristics and prebiotic activities of resistant starch from *Solanum tuberosum*: Kufri Bahar, a popular Indian tuber variety. *LWT*, 145, 111445.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111445>
- Chew, S. C., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2018). Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using  $\beta$ -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. *Journal of Food Engineering*, 237, 78–85.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.016>
- Comunian, T. A., Chaves, I. E., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Ferro-Furtado, R., de Castro, I. A., & Favaro-Trindade, C. S. (2017). Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. *Food Chemistry*, 237, 948–956.  
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.06.071>
- Da Silva, F. C., Da Fonseca, C. R., De Alencar, S. M., Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioprocess Technology*, 91(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.006>
- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I., & Marín-Arroyo, M. R. (2013). Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. *Food and Bioprocess Technology*, 6(4), 941–951.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-012-0848-z>
- Daza, L. D., Fujita, A., Favaro-Trindade, C. S., Rodrigues-Ract, J. N., Granato, D., & Genovese, M. I. (2016). Effect of spray drying conditions on the physical properties of

- Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 97, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.10.001>
- de Araújo, J. S. F., de Souza, E. L., Oliveira, J. R., Gomes, A. C. A., Kotzebue, L. R. V., da Silva Agostini, D. L., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., da Silva, A. L., & Cavalcanti, M. T. (2020). Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 991–999. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160>
- Denari, G. B., & Cavalleiro, E. T. G. (2012). Principles and applications of thermal analysis. University of São Paulo, Institute of Chemistry of São Carlos. IQSC/USP.
- Edris, A. E., Kalembe, D., Adamiec, J., & Piotkowski, M. (2016). Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. *Food Chemistry*, 204, 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.143>
- El-Kholy, W. M., Aamer, R. A., & Ali, A. N. A. (2020). Utilization of inulin extracted from chicory (*Cichorium intybus* L.) roots to improve the properties of low-fat synbiotic yoghurt. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(1), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.02.002>
- El-Tinay, A. H., & Ismail, I. A. (1985). Effect of some additives and processes on the characteristics of agglomerated and granulated spray-dried Roselle powder. *Acta Alimentaria Hung*, 14, 283–295.
- Favaro-Trindade, C. S., Pinho, S., & Rocha, G. A. (2008). Review: Microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2), 103–112.
- Favaro, L. I. L., Balcão, V. M., Rocha, L. K. H., Silva, E. C., Oliveira, J. M., Vila, M. M. D. C., & Tubino, M. (2018). Physicochemical characterization of a crude anthocyanin extract from the fruits of jussara (*Euterpe edulis* Martius): Potential for food and pharmaceutical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(10), 2072–2088. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180082>
- Fernandes, R. V. D. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 524–532. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.083>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. In *Food Research*

International (Vol. 40, Issue 9, pp. 1107–1121).

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>

- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1-F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gruz, A. P. G., Sousa, C. G. S. e, Torres, A. G., Freitas, S. P., & Cabral, L. M. C. (2013). Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4), 1147–1157. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400026>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. In *Drying Technology* (Vol. 26, Issue 7, pp. 816–835). Taylor & Francis Group . <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jara-Palacios, M. J., Hernanz, D., Cifuentes-Gomez, T., Escudero-Gilete, M. L., Heredia, F. J., & Spencer, J. P. E. (2015). Assessment of white grape pomace from winemaking as source of bioactive compounds, and its antiproliferative activity. *Food Chemistry*, 183, 78–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.022>
- Kalušević, A. M., Lević, S. M., Čalija, B. R., Milić, J. R., Pavlović, V. B., Bugarski, B. M., & Nedović, V. A. (2017). Effects of different carrier materials on physicochemical properties of microencapsulated grape skin extract. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3411–3420. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2790-6>
- Kang, Y. R., Lee, Y. K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>
- Karrar, E., Mahdi, A. A., Sheth, S., Mohamed Ahmed, I. A., Manzoor, M. F., Wei, W., & Wang, X. (2021). Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurum seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 171, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.045>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>
- Kuck, L. S., Wesolowski, J. L., & Noreña, C. P. Z. (2017). Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of



- Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. *Food Chemistry*, 230, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.038>
- Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. *Food Research International*, 107, 227–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.026>
- Leyva-Porras, C., Saavedra-Leos, M. Z., López-Pablos, A. L., Soto-Guerrero, J. J., Toxquiterán, A., & Fozado-Quiroz, R. E. (2017). Chemical, thermal and physical characterization of inulin for its technological application based on the degree of polymerization. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12333. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12333>
- Li, Y., Wu, L., Weng, M., Tang, B., Lai, P., & Chen, J. (2018). Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* lindl.). *Powder Technology*, 340, 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.049>
- Madureira, A. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44(1), 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.010>
- Mahdavi, A. S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I., & Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1125–1134. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.201>
- Mäkelä, M., Kwong, C. W., Broström, M., & Yoshikawa, K. (2017). Hydrothermal treatment of grape marc for solid fuel applications. *Energy Conversion and Management*, 145, 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.05.015>
- Mansour, M., Salah, M., & Xu, X. (2020). Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104927. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104927>

- Martins, I. M., Macedo, G. A., & Macedo, J. A. (2020). Biotransformed grape pomace as a potential source of anti-inflammatory polyphenolics: Effects in Caco-2 cells. *Food Bioscience*, 35, 100607. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100607>
- Masters, K. (1991). Spray drying handbook. In Longman Scientific and Technical. (George God). George Godwin Ltd.
- Maurer, L. H., Cazarin, C. B. B., Quatrin, A., Minuzzi, N. M., Costa, E. L., Morari, J., Velloso, L. A., Leal, R. F., Rodrigues, E., Bochi, V. C., Júnior, M. R. M., & Emanuelli, T. (2019). Grape peel powder promotes intestinal barrier homeostasis in acute TNBS-colitis: A major role for dietary fiber and fiber-bound polyphenols. *Food Research International*, 123, 425–439. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.068>
- Mendes, D. de C. S., Asquieri, E. R., Batista, R. D., de Moraes, C. C., Ascheri, D. P. R., de Macêdo, I. Y. L., & Gil, E. de S. (2021). Microencapsulation of jabuticaba extracts (*Myrciaria cauliflora*): Evaluation of their bioactive and thermal properties in cassava starch biscuits. *LWT*, 137, 110460. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110460>
- Moreno, T., Cocero, M. J., & Rodríguez-Rojo, S. (2018). Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. *Food and Bioprocess Technology*, 112, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.08.011>
- Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2021). Green Extraction Methods and Microencapsulation Technologies of Phenolic Compounds From Grape Pomace: A Review. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02665-4>
- Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., Ferreira, D. de F., Speroni, C. S., Barin, J. S., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2021). Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *LWT*, 150, 112066. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>
- Moser, P., Telis, V. R. N., de Andrade Neves, N., García-Romero, E., Gómez-Alonso, S., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2017). Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. *Food Chemistry*, 214, 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.081>
- Muhlack, R. A., Potumarthi, R., & Jeffery, D. W. (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. *Waste Management*, 72, 99–118. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.011>
- Nawi, N. M., Muhamad, I. I., & Marsin, A. M. (2015). The physicochemical properties of microwave-assisted encapsulated anthocyanins from *Ipomoea batatas* as affected by

- different wall materials. *Food Science and Nutrition*, 3(2), 91–99.  
<https://doi.org/10.1002/fsn3.132>
- Nguyen, V. T., Tran, A. X., & Le, V. A. T. (2021). Microencapsulation of phenolic-enriched extract from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Powder Technology*, 386, 136–143.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.03.033>
- Nunes, G. L., Etchepare, M. de A., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Jacob Lopes, E., Barin, J. S., Flores, É. M. de M., da Silva, C. de B., & de Menezes, C. R. (2018). Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 128–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>
- Oliveira, M. I. S., Tonon, R. V., Nogueira, R. I., & Cabral, L. M. C. (2013). Estabilidade da polpa de morango atomizada utilizando diferentes agentes carreadores. *Brazilian Journal of Food Technology*, 16(4), 310–318. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232013005000037>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626.  
<https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Pieczkolan, E., & Kurek, M. A. (2019). Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 665–671.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.073>
- Prozil, S. O., Evtuguin, D. V., & Lopes, L. P. C. (2012). Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.035>
- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Ribeiro, M. A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2019). Microencapsulation of polyphenols - The specific case of the microencapsulation of *Sambucus Nigra* L. extracts - A review. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.011>
- Rivas, J. C., Cabral, L. M. C., & Rocha-Leão, M. H. (2020). Stability of Bioactive Compounds of Microencapsulated Mango and Passion Fruit Mixed Pulp. *International*

Journal of Fruit Science, 20(S2), S94–S110.

<https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1707746>

Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010).

Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(7), 1386–1394.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x>

Rosa, J. R. da, Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rycheki

Hecktheuer, L. H., Muller, E. I., Ragagnin de Menezes, C., & Severo da Rosa, C. (2019).

Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742–748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>

Rosa, J. R. da, Weis, G. C. C., Moro, K. I. B., Robalo, S. S., Assmann, C. E., Silva, L. P. da,

Muller, E. I., Silva, C. de B. da, Menezes, C. R. de, & Rosa, C. S. da. (2021). Effect of wall materials and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated

blueberry extract. *Lwt*, 142, 111027. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111027>

Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., Martelli-Tosi, M., da Silva, M. P., Makimori, G. Y. F., &

Favaro-Trindade, C. S. (2020). Utilization of grape pomaces and brewery waste

*Saccharomyces cerevisiae* for the production of bio-based microencapsulated pigments.

*Food Research International*, 136, 109470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109470>

Rubio, F. T. V., Maciel, G. M., da Silva, M. V., Corrêa, V. G., Peralta, R. M., & Haminiuk, C.

W. I. (2018). Enrichment of waste yeast with bioactive compounds from grape pomace as an innovative and emerging technology: Kinetics, isotherms and bioaccessibility.

*Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 18–28.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.004>

S, J. S. R. I., Seethadevi, A., Prabha, K. S., & Muthuprasanna, P. (2012). *International Journal*

of Pharma and Bio Sciences MICROENCAPSULATION : A REVIEW INVOLVED. 3(1), 509–531.

Sharif, N., Khoshnoudi-Nia, S., & Jafari, S. M. (2020). Nano/microencapsulation of

anthocyanins; a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*,

132(October 2019), 109077. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109077>

Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T. P., Torres, C., Oliveira, A. M. P., Pereira, J. E.,

Amaral, J. S., & Poeta, P. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial

activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control*,

92, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.031>

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with acid reagents. *Phenolics Determination*, 16, 144–158.
- Sirohi, R., Tarafdar, A., Singh, S., Negi, T., Gaur, V. K., Gnansounou, E., & Bharathiraja, B. (2020). Green processing and biotechnological potential of grape pomace: Current trends and opportunities for sustainable biorefinery. In *Bioresource Technology* (Vol. 314, p. 123771). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123771>
- Souza, A. L. R., Hidalgo-Chávez, D. W., Pontes, S. M., Gomes, F. S., Cabral, L. M. C., & Tonon, R. V. (2018). Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. *LWT - Food Science and Technology*, 91, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.053>
- Souza, V. B. De, Fujita, A., Thomazini, M., Silva, E. R. Da, Lucon, J. F., Genovese, M. I., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, 164, 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.049>
- Souza, V. B. De, Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., & Favaro-Trindade, C. S. (2015). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and Bioprocess Technology*, 93, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.11.001>
- Souza, V. B. de, Thomazini, M., Chaves, I. E., Ferro-Furtado, R., & Favaro-Trindade, C. S. (2020). Microencapsulation by complex coacervation as a tool to protect bioactive compounds and to reduce astringency and strong flavor of vegetable extracts. *Food Hydrocolloids*, 98, 105244. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105244>
- Subtil, S. F., Rocha-Selmi, G. A., Thomazini, M., Trindade, M. A., Netto, F. M., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Effect of spray drying on the sensory and physical properties of hydrolysed casein using gum arabic as the carrier. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2014–2021. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0722-z>
- Sun-Waterhouse, D., Wadhwa, S. S., & Waterhouse, G. I. N. (2013). Spray-Drying Microencapsulation of Polyphenol Bioactives: A Comparative Study Using Different Natural Fibre Polymers as Encapsulants. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2376–2388. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0946-y>
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and

characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23–33.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001>

Tolun, A., Artik, N., & Altintas, Z. (2020). Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract.

*Food Chemistry*, 302, 125347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125347>

Tupuna, D. S., Paese, K., Guterres, S. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., & Rios, A. de O.

(2018). Encapsulation efficiency and thermal stability of norbixin microencapsulated by spray-drying using different combinations of wall materials. *Industrial Crops and Products*,

111, 846–855. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.001>

Vital, A. C. P., Santos, N. W., Matumoto-Pintro, P. T., da Silva Scapim, M. R., & Madrona,

G. S. (2018). Ice cream supplemented with grape juice residue as a source of antioxidants.

*International Journal of Dairy Technology*, 71(1), 183–189. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12412>

Yamashita, C., Chung, M. M. S., dos Santos, C., Mayer, C. R. M., Moraes, I. C. F., & Branco,

I. G. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-

product extract by freeze-drying. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 256–262.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.063>

Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliveira, H., Yang, N., Jin, W., Zhu, Z., Li, S., & He, J. (2020).

Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and

bioaccessibility. *LWT*, 123, 109097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109097>

## Material Suplementar

Efeito da combinação de diferentes agentes carreadores na microencapsulação de polifenóis do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L. ‘Merlot’) usando o método de secagem por pulverização

Karine Inês Bolson Moro<sup>a,2</sup>, Jéssica Righi da Rosa<sup>a</sup>, Ana Betine Beutinger Bender<sup>a</sup>, Tielle Moraes de Almeida<sup>b</sup>, Cristiane de Bona da Silva<sup>b</sup>, Fernando Dal Pont Morisso<sup>c</sup>, Juliano Smanioto Barin<sup>a</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>d</sup>, Neidi Garcia Penna<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>c</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Vila Nova, 93510-330, Novo Hamburgo, RS, Brasil

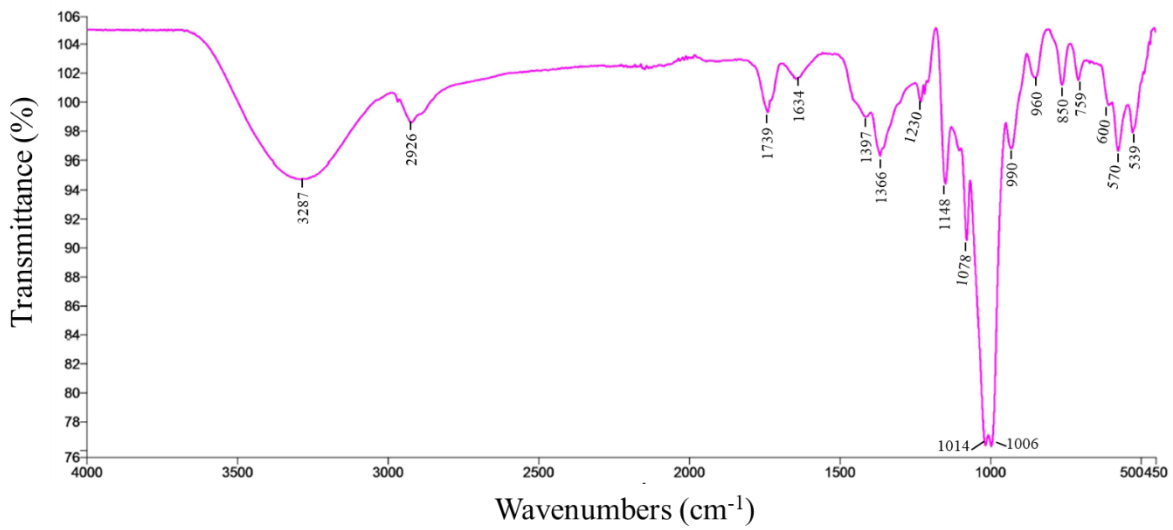
<sup>d</sup> Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

---

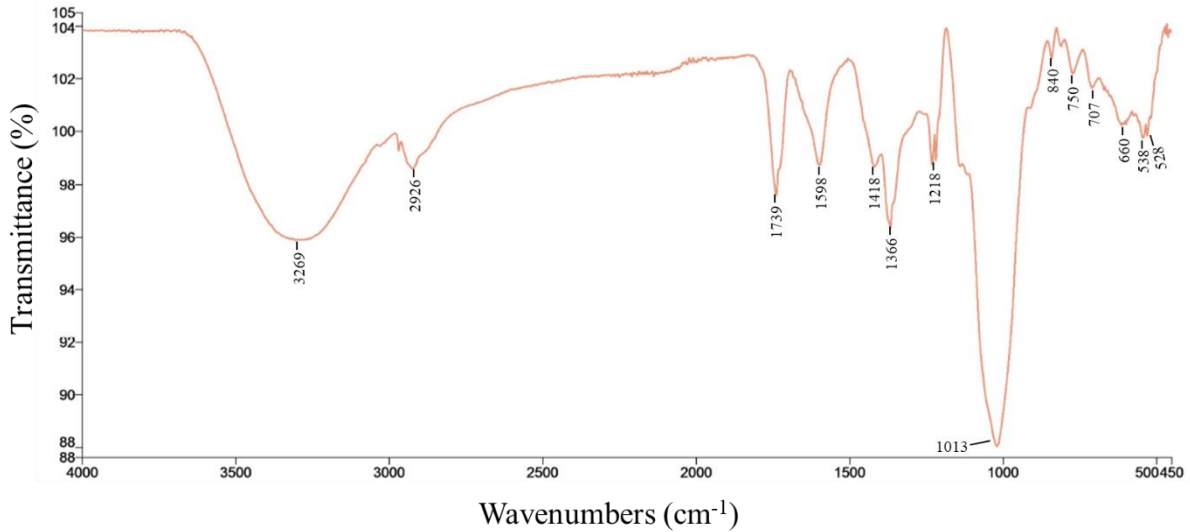
<sup>2</sup> Autor correspondente.

E-mail: [karini\\_moro@hotmail.com](mailto:karini_moro@hotmail.com)

Fone: +55 55 3220-8254

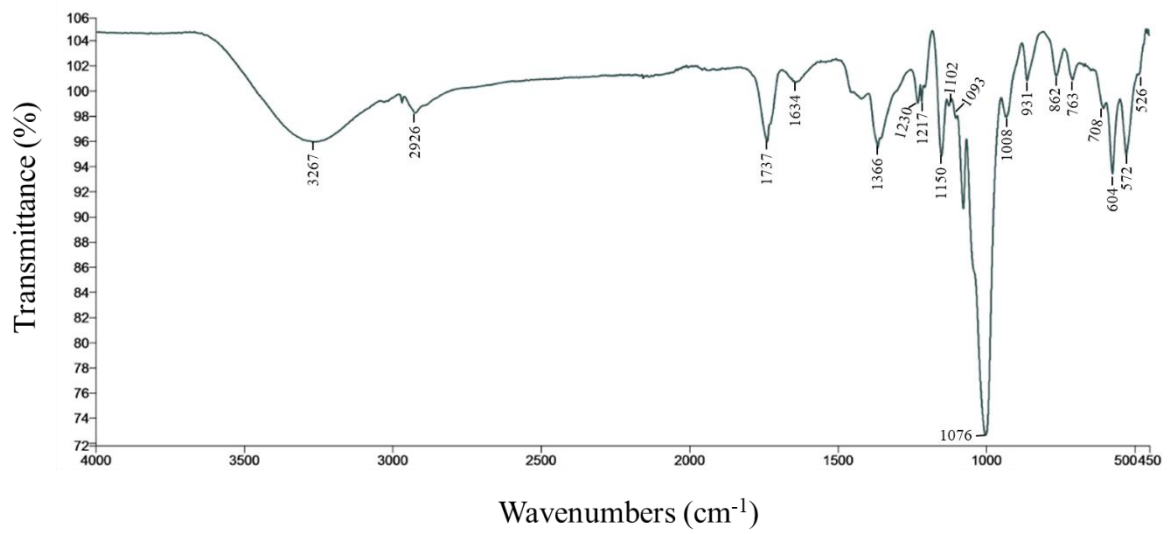


**Fig. A.1a.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) da maltodextrina DE20.

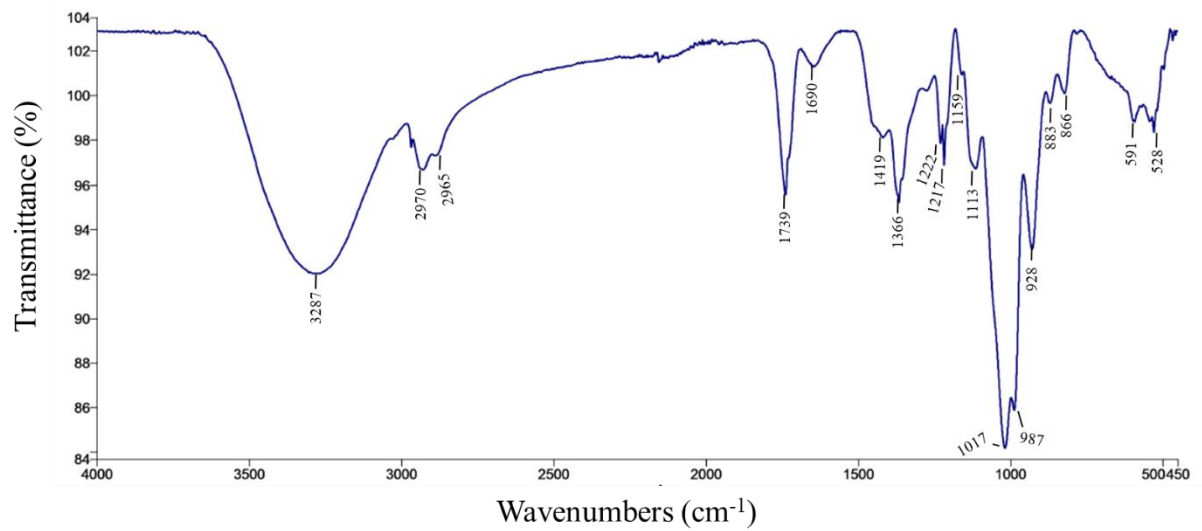


**Fig. A.1b.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) da goma arábica.

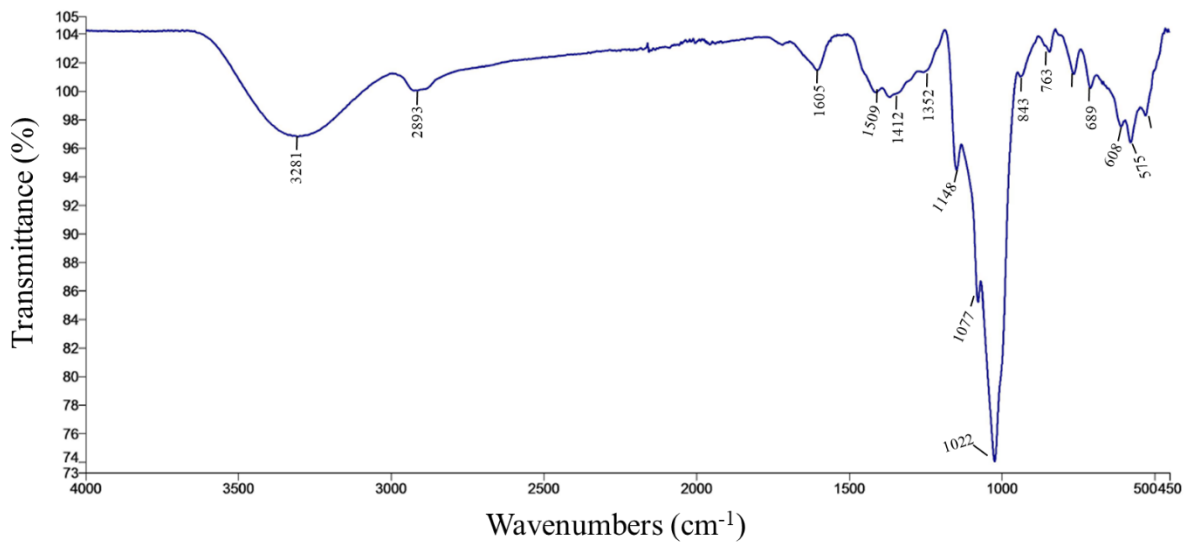




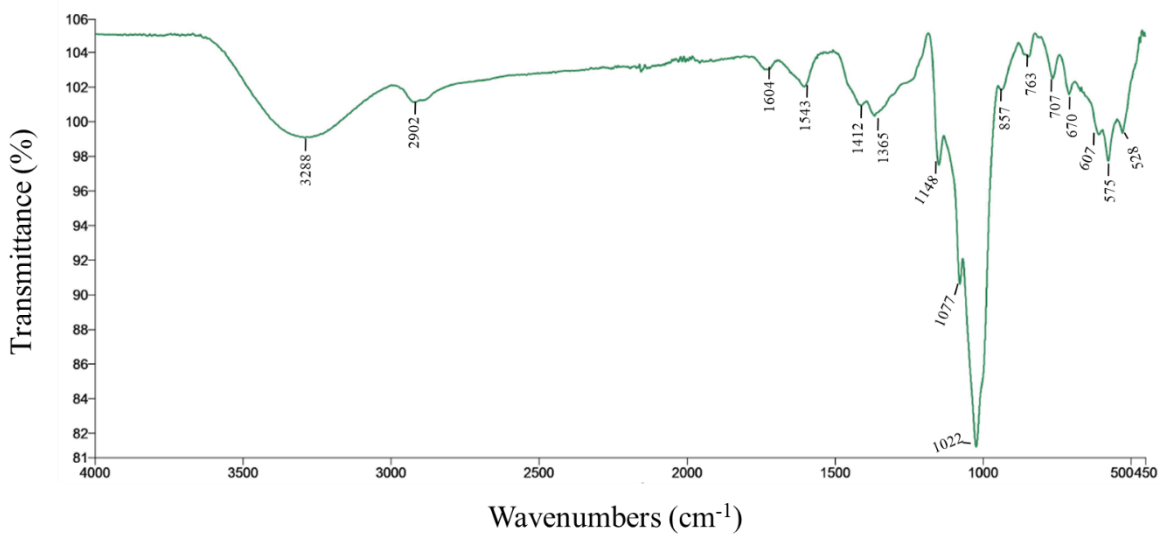
**Fig. A.1c.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do hi-maize (amido resistente).



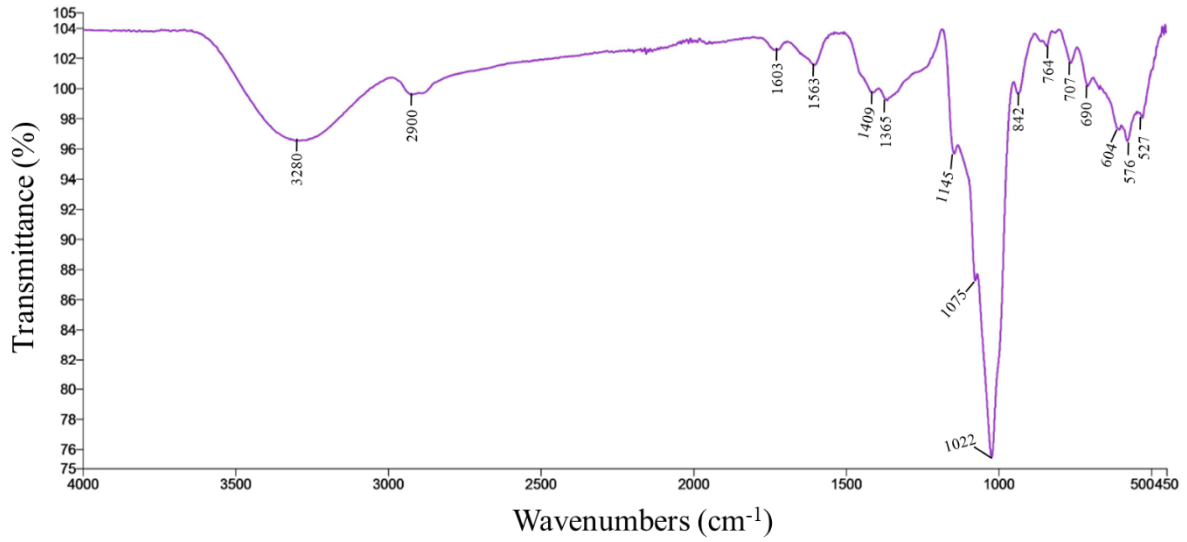
**Fig. A.1d.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) da inulina



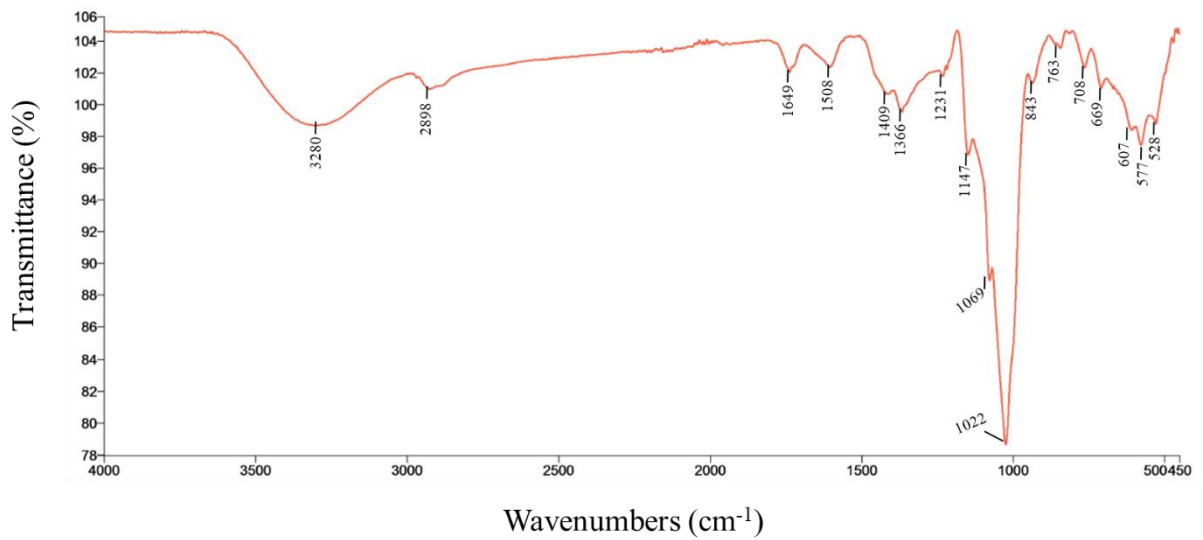
**Fig. B.1a.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do tratamento padrão (S).



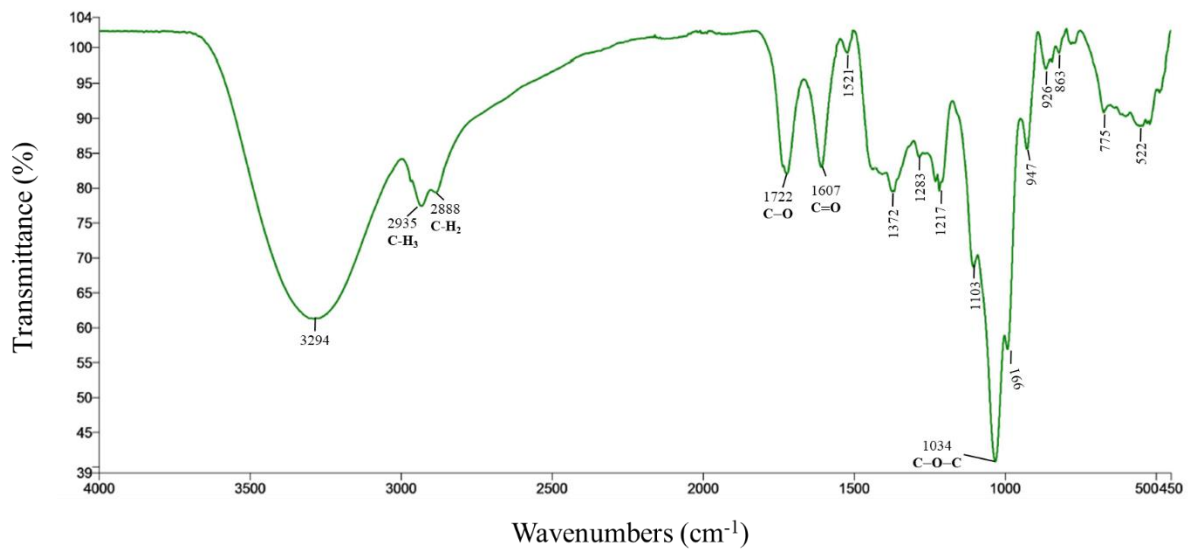
**Fig. B.1b.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do tratamento T<sub>1</sub>.



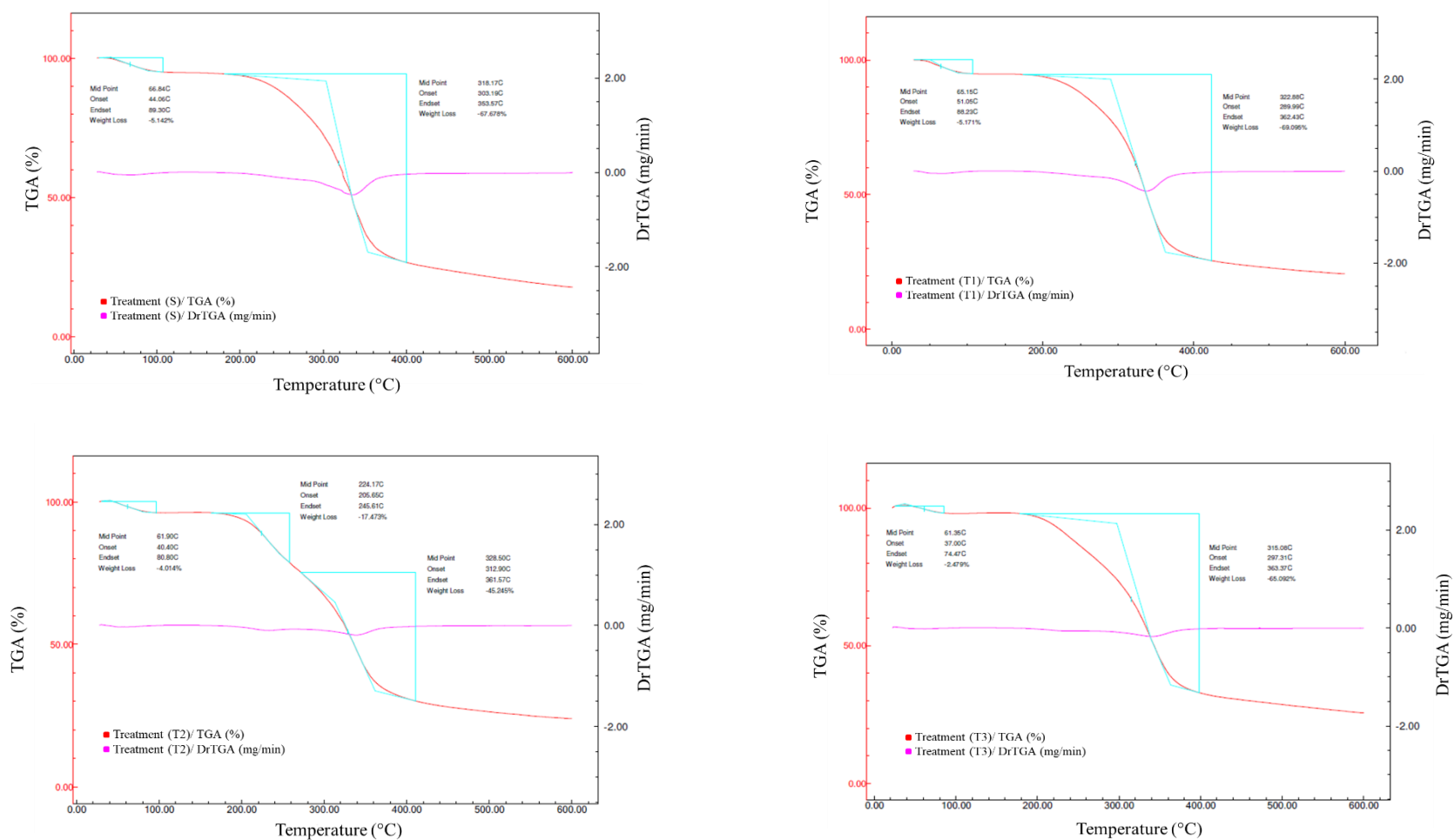
**Fig. B.1c.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do tratamento T<sub>2</sub>.



**Fig. B.1d.** Medições de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do tratamento T<sub>3</sub>.



**Fig. C.1.** Medidas de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) do extrato do bagaço de uva livre do cultivar Merlot.



**Fig. A.2.** Curvas TGA das microcápsulas de extrato do bagaço de uva microencapsuladas com diferentes combinações de agentes carreadores.

Tratamentos: S, 10% de maltodextrina DE20 e 10% de goma arábica; T<sub>1</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de hi-maize; T<sub>2</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de inulina; T<sub>3</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica, 2,5% de hi-maize e 2,5% de inulina.

**Tabela A.1.** Resistência dos compostos antociânicos às condições gastrointestinais simuladas do extrato livre do bagaço de uva e dos tratamentos S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, na condição de congelamento, nas seguintes frações: esôfago/estômago (adição de pepsina, pH ajustado para 2,0 por 90 min); duodeno (adição de pancreatina e sais biliares, pH ajustado para 5,0 por 20 min); e íleo (pH ajustado para 7,5 por 90 min).

Tratamentos	Antocianinas monoméricas totais (mg mL <sup>-1</sup> )				
	Extrato livre	S	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Concentração inicial	5,8 ± 0,0 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,0 <sup>b</sup>
Digestão					
Estômago	0,6 ± 0,0 <sup>c</sup>	2,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>ab</sup>	3,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>ab</sup>
Duodeno	0,1 ± 0,1 <sup>d</sup>	0,5 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,7 ± 0,0 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,0 <sup>b</sup>
Íleo	0,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,0 ± 0,1 <sup>c</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b</sup>

Estômago: Fase gástrica; Duodeno: Fração intestinal; Íleo: Última fração do sistema gastrointestinal.

Tratamentos: S, 10% de maltodextrina DE20 e 10% de goma arábica; T<sub>1</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de hi-maize; T<sub>2</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica e 5% de inulina; T<sub>3</sub>, 7,5% de maltodextrina DE20, 7,5% de goma arábica, 2,5% de hi-maize e 2,5% de inulina.

Os resultados são expressos como valor médio ± erro padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

## 6 DISCUSSÃO

Tecnologias e métodos inovadores menos danosos ao meio ambiente vêm sendo testados para extração de compostos polifenólicos de resíduos agroindustriais. Dentre estes métodos, destacam-se as tecnologias que atendem os princípios da “química verde”. Desta forma, métodos mais rápidos e automatizados têm sido empregados, como por exemplo, extração com fluido supercrítico, extração assistida por micro-ondas, extração em micro-ondas de hidrodifusão e gravidade, extração assistida por ultrassom, campo elétrico pulsado e aquecimento ôhmico (Artigo 1). Esses métodos apresentam vantagens em relação aos métodos convencionais, pois requerem períodos de extração mais curtos e consomem menos solventes, pois atuam em altas temperaturas e/ou pressões em ambientes inertes. Conseqüentemente, a extração verde é baseada na concepção de processos que reduzem o consumo de energia, permitem o uso de solventes alternativos, renováveis e que garantem produtos seguros e de qualidade. As tecnologias acima mencionadas despertam interesse na indústria de alimentos, pois permitem uma produção mais limpa, minimizando a geração de resíduos e maximizando o uso dos recursos empregados. Estima-se que o investimento nessas tecnologias permite um retorno em menos de 3 anos, com a disponibilidade de produtos seguros e de alto valor agregado (CHEMAT et al., 2020).

Trabalhos recentes assinalaram que o tratamento por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG) pode ser uma alternativa atraente para recuperar compostos bioativos de subprodutos agroindustriais (JACOTET-NAVARRO et al., 2016; RAZZAGHI et al., 2019; ZILL-E-HUMA et al., 2011a). Desta forma, o MHG pode ser considerado uma técnica inovadora de extração verde para recuperar compostos bioativos, óleos essenciais ou sucos sem a adição de solventes. Neste sistema, a água “*in situ*” atua como meio de transporte dos compostos de alto valor presentes no interior da célula, de modo que os compostos podem ser recuperados por fusão do aquecimento das micro-ondas com a gravidade da terra à pressão atmosférica em uma única operação unitária. Esta metodologia limpa, segura, robusta e controlada está de acordo com os princípios da extração verde como a redução de resíduos gerados, economia de tempo e recursos e diminuição do impacto ambiental, além de aumentar o rendimento da extração em comparação com outras técnicas de extração convencionais (SØLTOFT et al., 2009; ZILL-E-HUMA et al., 2011a). O MHG foi usado desde a última década em uma ampla gama de matérias-primas por exemplo, plantas aromáticas e medicinais (BENMOUSSA et al., 2019; BINELLO et al., 2014; FERREIRA et al., 2020; SANZ et al.,

2020; VIAN et al., 2008), frutas (CENDRES et al., 2011, 2014; HECK et al., 2020; RAVI et al., 2018; TURK et al., 2017), vegetais (ANGOY et al., 2018; FERREIRA et al., 2018; PÉRINO et al., 2016), cogumelos (PARADA et al., 2015; CHOUHAN et al., 2020) e algas marinhas (BARRAL-MARTÍNEZ et al., 2020; LÓPEZ-HORTAS et al., 2018; LÓPEZ-HORTAS; DOMÍNGUEZ; TORRES, 2019; PÉREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2014) para a recuperação de compostos bioativos, óleos essenciais ou sucos, dentre outros. Al Bittar et al. (2013) relataram o efeito do MHG no resíduo sólido do bagaço de uva oriundo da produção de suco de uva integral. Desta forma, este método foi utilizado no presente trabalho de forma pioneira, para recuperação de polifenóis do bagaço de uva procedente de processos vinícolas. Uma das novidades deste trabalho está na otimização do tratamento com MHG para recuperação de compostos polifenólicos deste subproduto de alto valor agregado, ainda subutilizado, e a utilização de técnicas de encapsulamento para sua preservação, disponibilidade e entrega.

O bagaço de uva (*Vitis vinifera* L.) tem sido amplamente pesquisado, e os estudos tem demonstrado o potencial de uso deste resíduo vitivinícola na alimentação humana, devido ao alto teor de polifenóis e fibras alimentares, que permanecem no bagaço de uva após a sua extração e transferência para o vinho (BENDER et al., 2020). Este fato, juntamente com seu notável conteúdo fenólico e antioxidante, sugere que a formulação de matrizes funcionais utilizando extratos do bagaço de uva pode ser uma alternativa interessante no campo de produtos de origem natural, devido a ampla gama de efeitos biológicos atribuídas a este resíduo como propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, anticâncer, antienvhecimento e antidiabéticas (BREZOIU et al., 2019; ROCHA; NOREÑA, 2020; TOLUN; ARTIK; ALTINTAS, 2020).

Outro desafio é o desenvolvimento e caracterização de métodos capazes de protegerem e assegurarem a disponibilidade destes compostos por mais tempo, devido a sua instabilidade a fatores ambientais. Embora haja um interesse crescente nos extratos polifenólicos do bagaço de uva, ainda são necessários estudos abrangentes onde suas propriedades fitoquímicas, antioxidantes e extrativas sejam cuidadosamente estudadas a fim de alcançar produtos finais competitivos e de alta qualidade.

No presente estudo, a extração dos compostos polifenólicos do bagaço de uva foi realizada através do método MHG. Bagaços de uva, cv. Merlot, foram submetidos a uma cinética de extração, a fim de determinar a melhor condição para as matrizes estudadas. Para determinar a cinética de extração, o volume de extrato obtido em diferentes potências (200, 300, 400 e, 500 W) foi plotado em função do tempo. A potência que expressou melhores volumes de extração em menor tempo, menos de 10 min foi a de 400 W. Foi observado que



uma maior potência de extração acarretou em um baixo rendimento de extrato, bem como uma potência mais branda desencadeou um maior tempo de extração. Devido ao aquecimento prolongado, baixas potências são ineficientes para uma recuperação completa dos compostos polifenólicos presentes na matriz, assim como potências maiores podem facilmente danificar os compostos presentes (Artigo 2). O conteúdo de fenólicos totais, a composição antioxidante e a identificação dos polifenóis mostraram que a condição extrativa otimizada foi consideravelmente eficiente para a recuperação dos compostos polifenólicos presentes nos bagaços de uva. Em todos os extratos obtidos foram identificados e quantificados catequina, quercetina e ácidos gálico, siríngico e vanílico. Os ácidos vanílico e gálico apresentam efeitos benéficos como antimicrobiano, antimutagênico e anticâncer (OLIVEIRA et al., 2013).

O resíduo remanescente, o coproduto, obtido após a extração com MHG, apresentou quantidades fenólicas e antioxidantes interessantes. O conteúdo de fenólicos totais foram significativamente maiores no bagaço de uva, no entanto ambos os resíduos, bagaço de uva e coproduto, apresentaram potencial antioxidante semelhantes nos três métodos avaliados (ABTS, FRAP e ORAC). Desta forma, assim como o bagaço de uva, o coproduto pode ser incorporado às matrizes alimentares possibilitando o desenvolvimento de produtos saudáveis e com potenciais benefícios à saúde humana.

A composição centesimal diferiu quanto ao teor de lipídeos e fibra insolúvel, sendo que o conteúdo lipídico foi menor no bagaço de uva. O conteúdo de fibra alimentar total foi semelhante em ambas as frações, demonstrando que o método MHG não altera a matriz fibrosa da matriz e atua principalmente na fração aquosa, mantendo a estrutura celular (ZILL-E-HUMA et al., 2009). Sendo assim, além do extrato polifenólico obtido, o resíduo remanescente, também demonstra ser uma amostra rica em polifenóis e fibra alimentar, possibilitando a recuperação total do bagaço de uva, devido a manutenção das suas propriedades físico-químicas.

Estudos para verificar formas de aproveitamento do coproduto devem ser conduzidos a fim de potencializar os efeitos benéficos de seus constituintes tanto nos produtos alimentícios quanto na nutrição humana. Assim como, estudos piloto em larga escala precisam ser realizados para adaptar e dimensionar a extração em MHG para a indústria de alimentos.

A extração das amostras do bagaço de uva revelou resultados interessantes. No entanto, torna-se necessário viabilizar sua estabilidade e biodisponibilidade, para a adição deste ingrediente na produção de alimentos. Extratos naturais têm atraído os consumidores que buscam por alimentos saudáveis. Contudo, a aplicação direta destes compostos aos alimentos promove sabores desagradáveis, baixa disponibilidade, devido à baixa solubilidade em água, e são instáveis em condições alcalinas encontradas nos fluidos biológicos. Diante disso, o extrato

polifenólico do bagaço de uva foi microencapsulado em diferentes combinações de agentes carreadores, a fim de estabelecer a melhor condição de armazenamento, disponibilidade e acessibilidade. Parâmetros físico-químicos, estruturais, morfológicos, antioxidantes e funcionais foram avaliados e indicaram diferenças entre as combinações (Manuscrito 1). As microcápsulas contendo extrato do bagaço de uva, testadas frente ao tratamento padrão, apresentaram excelente retenção e rendimento. Um alto rendimento do processo permite o estabelecimento de uma relação custo-benefício que determina a viabilidade da técnica de secagem em relação aos agentes carreadores.

O presente estudo revelou que o tipo de agente carreador (maltodextrina, goma arábica, hi-maize e inulina) não influenciou no teor de umidade, pois as combinações testadas foram iguais ao tratamento padrão. Valores baixos de umidade são necessários para garantir a estabilidade dos pós atomizados, pois impossibilitam a aglomeração das partículas evitando o endurecimento dos pós, o que poderia reduzir a retenção de componentes ativos e outras propriedades como fluxo e dispersão.

A solubilidade é um fator decisivo para a qualidade das microcápsulas a serem utilizadas como ingredientes na indústria alimentícia. Microcápsulas pouco solúveis podem causar dificuldades de processamento e perdas econômicas. Os resultados mostram que as microcápsulas foram estatisticamente diferentes em termos de solubilidade.

As combinações dos diferentes agentes carreadores não tiveram uma influência expressiva na morfologia das microcápsulas de extrato do bagaço de uva. As microcápsulas exibiram uma forma lisa e esférica, características típicas das partículas secas por pulverização. As micrografias também mostraram irregularidades morfológicas e ligeira aglomeração, no entanto não foi observado microcápsulas fraturadas. A ausência de trincas ou fissuras, indica que elas possuem baixa permeabilidade aos gases, o que aumenta a proteção e retenção do material do núcleo. As microcápsulas produzidas apresentaram bons índices de atividade antioxidante, culminando com os bons índices encontrados no extrato livre.

Compreender os mecanismos de degradação é importante para maximizar a qualidade nutricional e sensorial dos produtos (ZHANG et al., 2020). O teste de estabilidade em diferentes condições de armazenamento, revelou que a estabilidade das antocianinas em todas as microcápsulas armazenadas sob congelamento foi significativamente maior do que as armazenadas em temperatura de refrigeração ou ambiente, inferindo que quanto maior a temperatura de armazenamento, menor a retenção de antocianinas.

Os resultados observados nas diferentes frações do sistema gastrointestinal simulado analisaram o comportamento das antocianinas microencapsuladas e livres em relação à

simulação gástrica. Observou-se um menor nível de decaimento na concentração dos compostos nas microcápsulas, atribuindo essa diferença ao efeito protetor exercido pelos agentes carreadores.

A indústria de alimentos tem buscado métodos que visam uma maior preservação de compostos bioativos perdidos ao longo de sua curta vida útil. A microencapsulação é uma técnica que tem sido utilizada como forma de preservação de alimentos uma vez que o uso de agentes carreadores na microencapsulação tende a proteger os compostos bioativos contra os fatores intrínsecos e extrínsecos do meio.

É importante ressaltar que a aplicação de tecnologias limpas, como o MHG, para a recuperação de compostos bioativos se mostra bastante promissora. Assim, a associação desta tecnologia a processo de microencapsulação, como a secagem por pulverização, possibilita promover a estabilidade e integridade destes extratos sob ações adversas do meio, garantindo uma maior vida útil deste produto. Usando as estratégias desenvolvidas neste estudo, o principal subproduto da cadeia vinícola, que têm pouco ou nenhum valor comercial, pode ser utilizado como ingrediente funcional pela indústria alimentícia. No entanto, estudos futuros são necessários para focalizar as aplicações dessas microcápsulas em alimentos, a fim de investigar as propriedades físico-químicas e sensoriais dos produtos finais.



## 7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, descritos através dos artigos e manuscrito aqui apresentados e nas condições destes experimentos, pode-se chegar às seguintes conclusões:

- O método de extração por micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG) mostrou-se eficiente para recuperar compostos polifenólicos do bagaço de uva. Os resultados demonstram que em menos de 10 minutos de irradiação é possível obter resultados de extração satisfatórios aliados a maior sustentabilidade ambiental quando comparado a técnicas comumente empregadas para extração de compostos bioativos.

- Os extratos polifenólicos obtidos do bagaço de uva, apresentaram quantidades consideráveis de polifenóis, bem como expressiva atividade antioxidante. Os resultados demonstram que, na condição de extração otimizada, é possível obter a partir do bagaço de uva a produção sustentável, rápida e segura de compostos polifenólicos.

- O resíduo remanescente (coproduto) manteve significativas propriedades físico-químicas, tecnológicas e antioxidantes, oferecendo às indústrias de processamento de alimentos oportunidade de atender à demanda por produtos alimentícios saudáveis e de alto valor agregado.

- A microencapsulação do extrato de bagaço de uva, em diferentes combinações de agentes carreadores, possibilitou a obtenção de microcápsulas com boa eficiência de encapsulação, acima de 90%, e rendimento de processo aceitável (> 50%). A alta eficiência de microencapsulação resultou em uma alta atividade antioxidante em todas as microcápsulas contendo compostos bioativos extraídos do bagaço de uva.

- Nos tratamentos testados, a adição isolada ou combinada dos agentes carreadores, himeaize e inulina, ao tratamento padrão apresentaram estabilidade e proteção do conteúdo de compostos antociânicos frente ao armazenamento e no sistema gastrointestinal simulado.

- A tecnologia extrativa por MHG, seguida de microencapsulação, consiste em uma alternativa para recuperação de polifenóis do bagaço de uva, apresentando características tecnológicas e funcionais interessantes, permitindo sua sustentabilidade, além de reduzir impactos ambientais e perdas econômicas.



## REFERÊNCIAS

- ABE. **ABE | Agência Brasileira de Enologia** . Disponível em: <<https://www.enologia.org.br/noticia/safra-2021-colheita-da-uva-deve-passar-de-800-mil-toneladas-no-rs>>. Acesso em: 5 out. 2021.
- AGUIAR, J. et al. Design of microparticles containing natural antioxidants: Preparation, characterization and controlled release studies. **Powder Technology**, v. 313, p. 287–292, 2017.
- AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 21–39, 2016.
- AIZPURUA-OLAIZOLA, O. et al. Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes. **Food Chemistry**, v. 190, p. 614–621, 2016.
- AL BITTAR, S. et al. An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 3268–3272, 2013.
- ANGOY, A. et al. Development of microwave-assisted dynamic extraction by combination with centrifugal force for polyphenols extraction from lettuce. **LWT**, v. 98, p. 283–290, 2018.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th. ed., Washington: 1080p. 1995.
- ARAÚJO-DÍAZ, S. B. et al. Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. **Carbohydrate Polymers**, v. 167, p. 317–325, 2017.
- ASOFIEI, I. et al. Microwave-assisted batch extraction of polyphenols from sea buckthorn leaves. **Chemical Engineering Communications**, v. 203, n. 12, p. 1547–1553, 2016.
- BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623–631, 2017.
- BARBA, F. J. et al. Effect of alternative physical treatments (Ultrasounds, Pulsed Electric Fields, and High-Voltage Electrical Discharges) on selective recovery of bio-compounds from fermented grape pomace. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 5, p. 1139–1148, 2015.
- BARCIA, M. T. et al. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. **Food Chemistry**, v. 159, p. 95–105, 2014.
- BARRAL-MARTÍNEZ, M. et al. Tailoring hybrid carrageenans from *Mastocarpus stellatus* red seaweed using microwave hydrodiffusion and gravity. **Carbohydrate Polymers**, v. 248, p. 116830, 2020.
- BENDER, A. B. B. et al. Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an

extruded snack. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1–9, 2016.

BENDER, A. B. B. et al. Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. **LWT - Food Science and Technology**, v. 117, p. 108652, 2020.

BENMOUSSA, H. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from Tunisian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 633–642, 2018.

BENMOUSSA, H. et al. Enhanced solvent-free microwave extraction of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil seeds using double walled reactor. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 3863–3870, 2019.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BERES, C. et al. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581–594, 2017.

BINELLO, A. et al. Effect of microwaves on the in situ hydrodistillation of four different Lamiaceae. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 181–186, 2014.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BOONCHU, T.; UTAMA-ANG, N. Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 783–792, 2013.

BOUKROUFA, M. et al. Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 24, p. 72–79, 2015.

BOUSBIA, N. et al. A new process for extraction of essential oil from *Citrus* peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 3, p. 409–413, 2009a.

BOUSBIA, N. et al. Comparison of two isolation methods for essential oil from *rosemary leaves*: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 355–362, 2009b.

BOUSSETTA, N. et al. Scale-up of high voltage electrical discharges for polyphenols extraction from grape pomace: Effect of the dynamic shock waves. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 129–136, 2012.

BRAHIM, M.; GAMBIER, F.; BROSSE, N. Optimization of polyphenols extraction from



grape residues in water medium. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 18–22, 2014.

BRENES, A. et al. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 211, p. 1–17, 2016.

BREZOIU, A. M. et al. Polyphenols extract from grape pomace. Characterization and valorisation through encapsulation into mesoporous silica-type matrices. **Food and Chemical Toxicology**, v. 133, p. 110787, 2019.

BRIANCEAU, S. et al. Combined densification and pulsed electric field treatment for selective polyphenols recovery from fermented grape pomace. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 29, p. 2–8, 2015.

BURIN, V. M. et al. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 186–193, 2011.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, 2000.

CALDAS, T. W. et al. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 86–91, 2018.

CALINESCU, I. et al. Integrating microwave-assisted extraction of essential oils and polyphenols from *Rosemary* and *Thyme Leaves*. **Chemical Engineering Communications**, v. 204, n. 8, p. 965–973, 2017.

CĂLINESCU, I. et al. On the efficient extraction of essential oil from *mentha spicata*. **U. P. B. Sci. Bull., Series B**, v. 76, n. 4, p. 1454–2331, 2014.

CANO-CHAUCA, M. et al. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.

CASAS, L. et al. Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 2, p. 304–308, 2010.

CASAZZA, A. A. et al. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 1, p. 50–55, 2010.

CASAZZA, A. A. et al. High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 399–405, 2012.

CENDRES, A. et al. An innovative process for extraction of fruit juice using microwave heating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1035–1041, 2011.

CENDRES, A. et al. Comparison between microwave hydrodiffusion and pressing for plum juice extraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 229–237, 2012.

CENDRES, A. et al. Different compounds are extracted with different time courses from fruits during microwave hydrodiffusion: Examples and possible causes. **Food Chemistry**, v. 154, p. 179–186, 2014.

CHAMORRO, S. et al. Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 308–314, 2012.

CHAU, C. F.; WANG, Y. T.; WEN, Y. L. Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1402–1408, 2007.

CHEMAT, F. et al. Solvent-free extraction of food and natural products. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 157–168, 2015.

CHEMAT, F. et al. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 248–263, 2019.

CHEMAT, F. et al. A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. **Green Chemistry**, v. 22, n. 8, p. 2325–2353, 2020.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; VISINONI, F. **Microwave hidrodifusión for isolation of natural products.**, 2008.

DA PORTO, C.; NATOLINO, A. Supercritical fluid extraction of polyphenols from grape seed (*Vitis vinifera*): Study on process variables and kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 130, p. 239–245, 2017.

DA PORTO, C.; NATOLINO, A.; DECORTI, D. The combined extraction of polyphenols from grape marc: Ultrasound assisted extraction followed by supercritical CO<sub>2</sub> extraction of ultrasound-raffinate. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. 98–104, 2015.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076–1080, 2013.

DAVIDOV-PARDO, G.; AROZARENA, I.; MARÍN-ARROYO, M. R. Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 4, p. 941–951, 2013.

DELSART, C. et al. Effects of pulsed electric fields on Cabernet Sauvignon grape berries and on the characteristics of wines. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 2, p. 424–436, 2014.

DENG, Q.; PENNER, M. H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 2712–2720, 2011.

DHAKAL, S. P.; HE, J. Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. **Food Research International**, v. 137, p. 109326, 2020.

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

DWYER, K.; HOSSEINIAN, F.; ROD, M. The market potential of grape waste alternatives. **Journal of Food Research**, v. 3, n. 2, p. 91, 2014.

EL-TINAY, A. H.; ISMAIL, I. A. Effect of some additives and processes on the characteristics of agglomerated and granulated spray-dried Roselle powder. **Acta Alimentaria Hung**, v. 14, p. 283–295, 1985.

EL DARRA, N. et al. Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 5, p. 1281–1289, 2013.

FARHAT, A. et al. Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 26, p. 5077–5085, 2009.

FARHAT, A. et al. A surprising method for green extraction of essential oil from dry spices: Microwave dry-diffusion and gravity. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 47, p. 7345–7350, 2010.

FARIAS, C. A. A. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity as pretreatment for grape dehydration with simultaneous obtaining of high phenolic grape extract. **Food Chemistry**, v. 337, p. 127723, 2021.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S.; ROCHA, G. A. Review: Microencapsulation of food ingredients. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103–112, 2008.

FERNANDES, P. A. R. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity as a sustainable alternative approach for an efficient apple pomace drying. **Bioresource Technology**, p. 125207, 2021.

FERREIRA, D. F. et al. Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112094, 2020.

FERREIRA, S. S. et al. Microwave assisted dehydration of broccoli by-products and simultaneous extraction of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 246, p. 386–393, 2018.

FERRI, M. et al. Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. **New Biotechnology**, v. 33, n. 3, p. 338–344, 2016.

FRAGA, C. G. **Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition and pharmacology**. New Jersey: Wile & Sons, 2009.

GARCÍA-LOMILLO, J.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Applications of wine pomace in the food industry: Approaches and functions. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 1, p. 3–22, 2017.

GARRIDO, T. et al. Optimizing the extraction process of natural antioxidants from

chardonnay grape marc using microwave-assisted extraction. **Waste Management**, v. 88, p. 110–117, 2019.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 00, n. 1, p. F1.2.1-F1.2.13, 2001.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 76-87, 2016.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. et al. Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 10, p. 1580–1586, 2010.

GOULA, A. M.; THYMIATIS, K.; KADERIDES, K. Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 132–144, 2016.

GRUZ, A. P. G. et al. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1147–1157, 2013.

HECK, R. T. et al. Jaboticaba peel extract obtained by microwave hydrodiffusion and gravity extraction: A green strategy to improve the oxidative and sensory stability of beef burgers produced with healthier oils. **Meat Science**, v. 170, p. 108230, 2020.

IBRAVIN. **Ibravin | Instituto Brasileiro do Vinho - Dados estatísticos**. Disponível em: <<https://www.ibravin.org.br/dados-estatisticos>>. Acesso em: 7 jul. 2020.

IBRAVIN. **Panorama Geral**. Disponível em: <<https://www.ibravin.org.br/Panorama-Geral>>. Acesso em: 6 jul. 2020.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

JACOTET-NAVARRO, M. et al. Towards a “dry” bio-refinery without solvents or added water using microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products. **Green Chemistry**, v. 18, n. 10, p. 3106–3115, 2016.

JARA-PALACIOS, M. J. et al. Assessment of white grape pomace from winemaking as source of bioactive compounds, and its antiproliferative activity. **Food Chemistry**, v. 183, p. 78–82, 2015.

KALUŠEVIĆ, A. M. et al. Effects of different carrier materials on physicochemical properties of microencapsulated grape skin extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3411–3420, 2017.

KAMMERER, D.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Characterization and recovery of phenolic compounds from grape pomace - A review. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 79, p. 189–196, 2005.

- KHAN, M. K. I. et al. Sustainable dehydration of onion slices through novel microwave hydro-diffusion gravity technique. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 327–332, 2016.
- KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569–576, 2016.
- KUCK, L. S.; WESOLOWSKI, J. L.; NOREÑA, C. P. Z. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. **Food Chemistry**, v. 230, p. 257–264, 2017.
- LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, v. 107, p. 227–247, 2018.
- LEÃO, P. C. DE S. Breve histórico da vitivinicultura e a sua evolução na região semiárida brasileira. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 7, p. 81–85, 2010.
- LEYVA-PORRAS, C. et al. Chemical, thermal and physical characterization of inulin for its technological application based on the degree of polymerization. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, p. e12333, 2017.
- LI, Y. et al. Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1–11, 2013.
- LI, Y. et al. Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* lindl.). **Powder Technology**, v. 340, p. 459–464, 2018.
- LÓPEZ-HORTAS, L. et al. Flowers of *Ulex europaeus* L. – Comparing two extraction techniques (MHG and distillation). **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 6, p. 718–725, 2016.
- LÓPEZ-HORTAS, L. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG) processing of *Laminaria ochroleuca* brown seaweed. **Journal of Cleaner Production**, v. 197, p. 1108–1116, 2018.
- LÓPEZ-HORTAS, L. et al. Antioxidant capacity of the extracts from flowers of *Erica australis* L.: Comparison between microwave hydrodiffusion and gravity (MHG) and distillation extraction techniques - Formulation of sunscreen creams. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112079, 2020a.
- LÓPEZ-HORTAS, L. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity versus conventional distillation for *Acacia dealbata* flowers. Recovery of bioactive extracts for cosmetic purposes. **Journal of Cleaner Production**, v. 274, p. 123143, 2020b.
- LÓPEZ-HORTAS, L.; DOMÍNGUEZ, H.; TORRES, M. D. Valorisation of edible brown seaweeds by the recovery of bioactive compounds from aqueous phase using MHG to develop

innovative hydrogels. **Process Biochemistry**, v. 78, p. 100–107, 2019.

MADUREIRA, A. R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 465–470, 2011.

MAHDAVI, A. S. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379–385, 2016.

MÄKELÄ, M. et al. Hydrothermal treatment of grape marc for solid fuel applications. **Energy Conversion and Management**, v. 145, p. 371–377, 2017.

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 125–132, 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; DE OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1987.

MANFIO, V. A vitivinicultura no espaço geográfico do Rio Grande do Sul, Brasil: Uma abordagem sobre a Campanha Gaúcha. **Caminhos de Geografia**, v. 20, n. 70, p. 433–447, 2019.

MARTINS, I. M.; MACEDO, G. A.; MACEDO, J. A. Biotransformed grape pomace as a potential source of anti-inflammatory polyphenolics: Effects in Caco-2 cells. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100607, 2020.

MAURER, L. H. et al. Grape peel powder promotes intestinal barrier homeostasis in acute TNBS-colitis: A major role for dietary fiber and fiber-bound polyphenols. **Food Research International**, v. 123, p. 425–439, 2019.

MEDOUNI-ADRAR, S. et al. Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 123–132, 2015.

MELLO, L. M. R. Panorama da produção de uvas e vinhos no Brasil. **Informe Técnico. Campo e Negócios - Hortifrúti**, p. 54–56, 2017.

MELLO, L. M. R. et al. **Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. Embrapa. Brasília, DF: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/obracompleta.html>>. Acesso em: 7 jul. 2020a.

MELLO, L. M. R. et al. **Dados cadastrais da viticultura do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/176224/1/Dados-cadastrais-CAP-1-ebookA4-5.pdf>>. Acesso em: 7 jul. 2020b.

MELO, P. S. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of agroindustrial residues. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1088–1093, 2011.

MELO, P. S. et al. 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.

MONRAD, J. K. et al. Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 2862–2868, 2010.

MORENO, T.; COCERO, M. J.; RODRÍGUEZ-ROJO, S. Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 96–107, 2018.

MORO, K. I. B. et al. Green Extraction Methods and Microencapsulation Technologies of Phenolic Compounds From Grape Pomace: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 1407-131, 2021a.

MORO, K. I. B. et al. Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 150, p. 112066, 2021b.

MUHLACK, R. A.; POTUMARTHI, R.; JEFFERY, D. W. Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. **Waste Management**, v. 72, p. 99–118, 2018.

NUNES, G. L. et al. Microencapsulation of probiotic cultures: principles of spray drying method. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 132–141, 2015.

NUNES, G. L. et al. Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 128–133, 2018.

OIV. **International Organisation of Vine and Wine (OIV)**. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/statistiques/recherche?year=2016&countryCode=oiv>>. Acesso em: 5 ago. 2020.

OKOH, O. O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 308–312, 2010.

OLIVEIRA, M. I. S. et al. Estabilidade da polpa de morango atomizada utilizando diferentes agentes carreadores. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 4, p. 310–318, 2013.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4619–4626, 2001.

OZKAN, G. et al. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494–506, 2019.

PARADA, M. et al. Sequential extraction of *Hericium erinaceus* using green solvents. **LWT -**

**Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 397–404, 2015.

PEDRAS, B. et al. Valorization of white wine grape pomace through application of subcritical water: Analysis of extraction, hydrolysis, and biological activity of the extracts obtained. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 138–144, 2017.

PEIXOTO, C. M. et al. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p. 132–138, 2018.

PÉREZ, L.; CONDE, E.; DOMÍNGUEZ, H. Microwave hydrodiffusion and gravity processing of *Sargassum muticum*. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 6, p. 981–988, 2014.

PÉRINO-ISSARTIER, S. et al. Solvent Free Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Food By-Products. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 6, p. 1020–1028, 2011.

PÉRINO-ISSARTIER, S. et al. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 41–47, 2013.

PÉRINO, S. et al. Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. **Food Chemistry**, v. 204, p. 108–114, 2016.

PINTAĆ, D. et al. Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 379–390, 2018.

POVEDA, J. M. et al. Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 617–625, 2018.

RAGHAVENDRA, S. N. et al. Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 6, p. 563–567, 2004.

RAJHA, H. et al. Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18640–18658, 2014.

RAVI, H. K. et al. Biorefining of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) pomace using microwave hydrodiffusion and gravity, ultrasound-assisted, and bead-milling extraction. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 3, p. 4185–4193, 2018.

RAZZAGHI, S. E. et al. Operational efficiencies of six microwave based extraction methods for orange peel oil. **Journal of Food Engineering**, v. 241, p. 26–32, 2019.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REBELLO, L. P. G. et al. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Food Research**



**International**, v. 54, n. 1, p. 354–366, 2013.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, p. 281–291, 2018.

RIBEIRO, M. A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of polyphenols - The specific case of the microencapsulation of *Sambucus Nigra* L. extracts - A review. **Trends in Food Science and Technology**, 2019.

ROBERT, P. et al. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 7, p. 1386–1394, 2010.

ROCHA, C. B. DA; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace. **Drying Technology**, p. 1–15, 2020.

ROCKENBACH, I. I. et al. 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, n. 4, p. 897–901, 2011.

RODRÍGUEZ-SEOANE, P. et al. Innovative technologies for the extraction of saccharidic and phenolic fractions from *Pleurotus eryngii*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 101, p. 774–782, 2019.

RONDEAU, P. et al. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 251–254, 2013.

ROSA, J. R. DA et al. Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 742–748, 2019.

ROSA, J. R. DA et al. Effect of wall materials and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated blueberry extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 142, p. 111027, 2021.

RUBIO, F. T. V. et al. Utilization of grape pomaces and brewery waste *Saccharomyces cerevisiae* for the production of bio-based microencapsulated pigments. **Food Research International**, v. 136, p. 109470, 2020.

SAAVEDRA-LEOS, M. Z. et al. Physical properties of inulin and inulin-orange juice: Physical characterization and technological application. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 10–19, 2014.

SANZ, V. et al. Clean technologies applied to the recovery of bioactive extracts from *Camellia sinensis* leaves agricultural wastes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 214–221, 2020.

SELANI, M. M. et al. Characterisation and potential application of pineapple pomace in an

extruded product for fibre enhancement. **Food Chemistry**, v. 163, p. 23–30, 2014.

SILVA, V. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. **Food Control**, v. 92, p. 516–522, 2018.

SIMÕES, L. **Tudo o que você precisa saber sobre a uva Cabernet Sauvignon**. Disponível em: <<https://blog.famigliavalduga.com.br/tudo-o-que-voce-precisa-saber-sobre-a-uvacabernet-sauvignon/>>. Acesso em: 8 jul. 2020a.

SIMÕES, L. **Tudo o que você precisa saber sobre a uva Merlot**. Disponível em: <<https://blog.famigliavalduga.com.br/tudo-o-que-voce-precisa-saber-sobre-a-uva-merlot/>>. Acesso em: 8 jul. 2020b.

SINGH, B. et al. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. **Food Chemistry**, v. 206, n. 2, p. 1–11, 2016.

SINGH CHOUHAN, K. B. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity model with a blend of high and low power microwave firing for improved yield of phenolics and flavonoids from oyster mushroom. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 17, p. 100311, 2020.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with acid reagents. **Phenolics determination**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SØLTOFT, M. et al. Pressurised liquid extraction of flavonoids in onions. Method development and validation. **Talanta**, v. 80, n. 1, p. 269–278, 2009.

SOUZA, V. B. DE et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, v. 164, p. 380–386, 2014.

SOUZA, V. B. DE et al. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 39–50, 2015.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente/ Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, p. 12–20, 2006.

SUBTIL, S. F. et al. Effect of spray drying on the sensory and physical properties of hydrolysed casein using gum arabic as the carrier. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2014–2021, 2014.

TEIXEIRA, A. et al. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 19, p. 15638–15678, 2014.

TOLUN, A.; ALTINTAS, Z.; ARTIK, N. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. **Journal of Biotechnology**, v. 239, p. 23–33, 2016.

- TOLUN, A.; ARTIK, N.; ALTINTAS, Z. Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract. **Food Chemistry**, v. 302, p. 125347, 2020.
- 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.
- TURK, M. et al. Alternative process for strawberry juice processing: Microwave hydrodiffusion and gravity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 626–633, 2017.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Manual de dissertações e reses da UFSM: estrutura e apresentação**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2015. 88p.
- VIAN, M. A. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, n. 1–2, p. 14–17, 2008.
- YAMASHITA, C. et al. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 256–262, 2017.
- YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 221–237, 2013.
- ZHANG, R. et al. Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. **LWT - Food Science and Technology**, v. 123, p. 109097, 2020.
- ZHU, L.; ZHANG, Y.; LU, J. Phenolic contents and compositions in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 3, p. 3492–3510, 2012.
- ZILL-E-HUMA et al. Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: Optimising solvent free microwave extraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 45, p. 7700–7707, 2009.
- ZILL-E-HUMA et al. A novel idea in food extraction field: Study of vacuum microwave hydrodiffusion technique for by-products extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 351–360, 2011a.
- ZILL-E-HUMA et al. A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1472–1480, 2011b.