

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

Ana Betine Beutinger Bender

**MICRONIZAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA VALORIZAÇÃO DO  
BAGAÇO DE UVA: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM SNACK  
EXTRUSADO**

Santa Maria, RS.  
2020



**Ana Betine Beutinger Bender**

**MICRONIZAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA VALORIZAÇÃO DO BAGAÇO DE UVA: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM SNACK EXTRUSADO**

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  
2020

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

Bender, Ana Betine Beutinger

Micronização como alternativa para valorização do bagaço de uva: caracterização e aplicação em snack extrusado / Ana Betine Beutinger Bender.- 2020.  
130 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, 2020

1. Extrusão 2. Moagem ultrafina 3. Resíduo agroindustrial 4. Vitivinicultura 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, ANA BETINE BEUTINGER BENDER, 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.

Ana Betine Beutinger Bender

**MICRONIZAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA VALORIZAÇÃO DO BAGAÇO  
DE UVA: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM SNACK EXTRUSADO**

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 20 de janeiro de 2020:**



---

**Neidi Garcia Penna**  
(Presidente/ Orientadora)



---

**Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo (UNIPAMPA)**



---

**Sabrina Sauthier Monteiro (UFAM)**



---

**Tatiana Emanuelli (UFSM)**



---

**Cristiano Augusto Ballus (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2020



## AGRADECIMENTOS

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

À professora Neidi, pela orientação, auxílio, amizade e incentivo ao meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço e levo como exemplo sua leveza na condução dos trabalhos. À professora Leila pela coorientação e suporte científico, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional. Agradeço por sua confiança e incentivo nesses 12 anos de convivência. À banca avaliadora, pelas valiosas contribuições.

Aos amigos e amigas do Laboratório de Piscicultura, estagiários, professoras, colegas de Pós-Graduação da Zootecnia e Ciência e Tecnologia dos Alimentos, pelos momentos de aprendizado e descontração compartilhados (com um bom chimarrão). Em especial, gostaria de agradecer à Carol e Karine pela amizade e companheirismo para todos os momentos, sejam de angústias e/ou alegrias.

À Vinícola Velho Amâncio pela doação do bagaço de uva para a execução deste trabalho. À Pazze Alimentos pelo fornecimento da farinha de batata doce.

Ao professor Danilo e Laboratório de Solos da UFSM, pelo auxílio na execução da análise granulométrica. Ao professor Fernando Morisso, da Feevale, pela contribuição nas análises de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier. À USP/ESALQ pela realização das análises de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e minerais. Ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFSM pela execução das análises microbiológicas.

Agradeço a meus pais, Vilmar e Rosane, pelo amor, incentivo e apoio nas minhas decisões e pela compreensão nos momentos de ausência. Obrigada pela confiança e por estarem sempre presentes, vibrando com minhas conquistas. Vocês são os meus bens mais preciosos! À minha família, meu eterno agradecimento.

Ao meu noivo Artur pelo amor, incentivo, compreensão e paciência, e por cada “Calma, vai dar tudo certo” nos momentos de incerteza. Obrigada pelo companheirismo e por compartilharmos a vida juntos.

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





*O que vale na vida não é o ponto de partida e sim  
a caminhada. Caminhando e semeando, no fim  
terás o que colher.*

(Cora Coralina)



## RESUMO

### MICRONIZAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA VALORIZAÇÃO DO BAGAÇO DE UVA: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM SNACK EXTRUSADO

AUTORA: ANA BETINE BEUTINGER BENDER

ORIENTADORA: NEIDI GARCIA PENNA

O bagaço de uva, resíduo da vinificação, caracteriza-se por apresentar quantidade significativa de fibra alimentar e compostos fenólicos. Grande parte destes compostos encontra-se associada à matriz fibrosa. Modificações físicas, como a micronização, vêm sendo utilizadas para alterar a funcionalidade da fibra alimentar, através da quebra de seus constituintes poliméricos. Por tratar-se de material subutilizado pela indústria vinícola, há crescente interesse pelo seu aproveitamento. Poucos estudos avaliam o efeito da incorporação dos ingredientes micronizados em produtos alimentícios bem como a influência destes na digestibilidade *in vitro*. Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da micronização sobre as características físico-químicas da fibra do bagaço de uva com o intuito de potencializar as propriedades funcionais de um produto extrusado. Foram avaliados os efeitos da micronização do bagaço de uva e do seu concentrado de fibra nas frações de fibra alimentar, propriedades físico-químicas, compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Delineamento fatorial com duas variáveis independentes ( $2^2$ ) - rotação e tempo - foi utilizado para determinar as melhores condições de moagem para aumentar o teor de fibra solúvel. Os constituintes da fibra insolúvel, como celulose e lignina, foram degradados parcialmente e os teores diminuíram após a moagem, resultando em maior teor de fibra solúvel, o que demonstra a redistribuição dos compostos. A micronização teve efeito significativo na redução do tamanho de partícula, como evidenciado pela microscopia eletrônica de varredura. Os espectros de FT-IR revelaram alterações nas bandas de absorção típicas de polissacarídeos. Após a moagem, a solubilidade dos pós aumentou e as capacidades de retenção de água, ligação ao óleo e a cátions diminuíram. Além disso, a micronização melhorou a extração de compostos fenólicos, principalmente catequina e epicatequina, e a capacidade antioxidante avaliada pelos métodos ABTS e ORAC. Os resultados obtidos indicam que a micronização modifica a composição da fibra alimentar do bagaço de uva, aumentando as possibilidades de uso como ingrediente funcional na indústria de alimentos. Desta forma, o bagaço de uva e o bagaço de uva micronizado foram adicionados a um produto extrusado. Foram avaliadas as características físico-químicas, tecnológicas e sensoriais, incluindo o conteúdo de fenólicos e antocianinas, a capacidade antioxidante e a digestibilidade do amido *in vitro*. A adição de bagaço influenciou a taxa de expansão, densidade aparente e os índices de absorção e solubilidade em água. Quanto à composição, o teor de fibra alimentar total, insolúvel e solúvel aumentou nas formulações fortificadas. A inclusão de bagaço de uva e bagaço de uva micronizado aumentou o conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e, conseqüentemente, a capacidade antioxidante (métodos ABTS e ORAC). Os atributos cor e sabor apresentaram os maiores escores na análise sensorial. A digestibilidade do amido *in vitro* revelou aumento no teor de amido resistente nas formulações contendo bagaço de uva, que apresentaram menor índice glicêmico. Os resultados demonstram que os produtos extrusados fortificados com bagaço de uva e bagaço de uva micronizado apresentam características tecnológicas e funcionais interessantes e mostram-se como ingredientes promissores para utilização na indústria de alimentos.

**Palavras-chave:** Extrusão. Moagem ultrafina. Resíduo agroindustrial. Vitivinicultura.



## ABSTRACT

### MICRONIZATION AS AN ALTERNATIVE FOR VALUATION OF GRAPE POMACE: CHARACTERIZATION AND APPLICATION IN EXTRUDED PRODUCT

AUTHOR: ANA BETINE BEUTINGER BENDER  
ADVISOR: NEIDI GARCIA PENNA

Grape pomace, the winemaking by-product, is characterized by a significant amount of dietary fiber and phenolic compounds. Most of these compounds are associated with the fibrous matrix. Physical modifications, such as micronization, have been used to modify the functionality of dietary fiber by caused by the breakdown of its polymeric constituents. Because it is underused by the wine industry, there is growing interest in its use. Few studies evaluate the effect of incorporation of micronized ingredients in food products as well as their influence on *in vitro* digestibility. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of micronization on the physicochemical properties of dietary fiber from grape pomace in order to enhance the functional properties of an extruded product. The effects of micronization of grape pomace and its fiber concentrate on dietary fiber fractions, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity were evaluated. Factorial design with two independent variables ( $2^2$ ) – speed and time – was used to determine the best milling conditions to increase the soluble fiber content. The insoluble fiber constituents, such as cellulose and lignin, were partially degraded and the content decreased after milling, resulting in higher soluble fiber content, which demonstrates the compound redistribution. Micronization had a significant effect on reducing the particle size, as evidenced by scanning electron microscopy. FT-IR spectra revealed changes in typical absorption bands of polysaccharides. After milling, powder solubility increased and water holding, oil and cation binding capacities decreased. Furthermore, micronization enhanced phenolic compound extraction, mainly catechin and epicatechin, and the antioxidant capacity evaluated by ABTS and ORAC assays. The results obtained indicate that micronization modifies the dietary fiber composition of grape pomace, increasing possibilities for use as a functional ingredient in the food industry. In this way grape pomace and micronized grape pomace were added to an extruded product. Physicochemical, technological and sensory characteristics, including phenolic and anthocyanin content, antioxidant capacity, and *in vitro* starch digestibility, were evaluated. The addition of grape pomace influenced the expansion ration, bulk density, and water absorption and solubility indexes. Regarding the composition, total, insoluble and soluble fiber content increased in fortified formulations. The inclusion of grape pomace and micronized grape pomace increased the total phenolic content, total monomeric anthocyanin and, consequently, the antioxidant capacity (ABTS and ORAC assays). The color and flavor attributes had the highest scores at the sensory analysis. The *in vitro* starch digestibility showed an increased in resistant starch fraction with addition of grape pomace and micronized grape pomace, which had lower glycemic index. The results demonstrate that the extruded products fortified with grape pomace and micronized grape pomace have interesting technological and functional characteristics, and could be considered as promising ingredients for using in the food industry.

**Keywords:** Extrusion. Ultrafine grinding. Agro-industrial by-products. Vitiviniculture.



## SUMÁRIO

	<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	17
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
1.1	VITIVINICULTURA.....	19
1.2	BAGAÇO DE UVA .....	20
1.3	FIBRA ALIMENTAR.....	22
1.4	CONCENTRADOS DE FIBRA ALIMENTAR.....	25
1.5	MICRONIZAÇÃO .....	26
1.6	EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA.....	27
1.7	QUALIDADE NUTRICIONAL DOS PRODUTOS EXTRUSADOS.....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	31
2.1	OBJETIVO GERAL.....	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	31
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
3.1	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	32
<b>3.1.1</b>	<b>Obtenção do bagaço de uva</b> .....	32
<b>3.1.2</b>	<b>Obtenção do concentrado de fibra do bagaço de uva</b> .....	32
<b>3.1.3</b>	<b>Micronização</b> .....	32
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	33
<b>3.2.1</b>	<b>Composição centesimal</b> .....	33
<b>3.2.2</b>	<b>Características físico-químicas</b> .....	34
<b>3.2.3</b>	<b>Distribuição do tamanho de partícula</b> .....	34
<b>3.2.4</b>	<b>Microscopia eletrônica de varredura</b> .....	35
<b>3.2.5</b>	<b>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier</b> .....	35
<b>3.2.6</b>	<b>Compostos fenólicos e capacidade antioxidante</b> .....	35
3.2.6.1	<i>Obtenção do extrato</i> .....	35
3.2.6.2	<i>Determinação do conteúdo de fenólicos totais</i> .....	35
3.2.6.3	<i>Determinação das antocianinas monoméricas totais</i> .....	36
3.2.6.4	<i>Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência</i> .....	36
3.2.6.5	<i>Determinação da capacidade antioxidante</i> .....	36
3.3	PRODUÇÃO DOS <i>SNACKS</i> POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA .....	37
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS <i>SNACKS</i> EXTRUSADOS.....	39
<b>3.4.1</b>	<b>Densidade aparente e índice de expansão</b> .....	39
<b>3.4.2</b>	<b>Índices de absorção de água e solubilidade em água</b> .....	39
<b>3.4.3</b>	<b>Composição centesimal e conteúdo de minerais</b> .....	40
<b>3.4.4</b>	<b>Cor</b> .....	40
<b>3.4.5</b>	<b>Textura instrumental</b> .....	41
<b>3.4.6</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura</b> .....	41
<b>3.4.7</b>	<b>Compostos fenólicos, antocianinas monoméricas totais e capacidade antioxidante</b> .....	41
<b>3.4.8</b>	<b>Digestibilidade do amido <i>in vitro</i></b> .....	42
<b>3.4.9</b>	<b>Análise microbiológica e atividade de água</b> .....	43
<b>3.4.10</b>	<b>Análise sensorial</b> .....	43
<b>4</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS INTEGRADOS</b> .....	45
4.1	ARTIGO 1 - MICRONIZATION AND EXTRUSION PROCESSING ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF DIETARY FIBER .....	45

4.2	ARTIGO 2 - EFFECTS OF MICRONIZATION ON DIETARY FIBER COMPOSITION, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, PHENOLIC COMPOUNDS, AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF GRAPE POMACE AND ITS DIETARY FIBER CONCENTRATE .....	55
4.3	MANUSCRITO 1 - EXTRUDED PRODUCTS FROM SWEET POTATO FLOUR FORTIFIED WITH MICRONIZED GRAPE POMACE: EFFECTS ON PHYSICOCHEMICAL, SENSORY AND FUNCTIONAL PROPERTIES .....	85
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	113
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	118
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	119
	<b>APÊNDICE A – ETAPAS DE PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS, PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SNACKS EXTRUSADOS</b> .....	127
	<b>APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	128
	<b>APÊNDICE C – FICHA SENSORIAL</b> .....	130



## 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 Ciência Rural. 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 Bioscience. Os artigos bem como o manuscrito se encontram no item **DESENVOLVIMENTO**. Ao final dessa tese, encontram-se os itens **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÃO**, apresentando compilação de interpretações e comentários a respeito dos resultados apresentados nos artigos científicos. As **REFERÊNCIAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS** e **DISCUSSÃO** dessa tese.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de vinhos gera volumes consideráveis de resíduos orgânicos sólidos, os quais são descartados ou subaproveitados. Estima-se que 77 milhões de toneladas de uvas são produzidas mundialmente, principalmente cultivadas como *Vitis vinifera* (OIV, 2019), das quais o bagaço de uva representa, aproximadamente, 20% do volume total (ROCKENBACH et al., 2011). Os principais resíduos da vinificação são separados durante as etapas de esmagamento e prensagem das uvas, sendo que pequenas quantidades (3%) desses resíduos são valorizados ou aproveitados na alimentação animal (BRENES et al., 2016; MONRAD et al., 2010). Devido às propriedades químicas e biológicas de seus constituintes, apresentam potencial para diversas aplicações (MARTINS et al., 2016), tais como antioxidantes naturais e suplementos alimentares (CHAMORRO et al., 2012; MONRAD et al., 2010). Além disso, o seu reaproveitamento pode contribuir para reduzir impactos ambientais e perdas econômicas, além de representar avanço na manutenção do equilíbrio do meio ambiente.

O bagaço de uva é constituído principalmente de cascas, sementes e resíduos de polpa (BRENES et al., 2016). Este resíduo agroindustrial contém quantidades consideráveis de fibra alimentar (entre 43 a 75%) e compostos fenólicos (GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017; ZHU et al., 2015). Estima-se que, aproximadamente, 70% do conteúdo de compostos fenólicos permanecem no bagaço após o processamento (DWYER; HOSSEININAN; ROD, 2014; GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2010). Dentre estes, destacam-se antocianinas, catequinas, flavonóis, estilbenos e ácidos fenólicos (MELO et al., 2015). Fibra alimentar e compostos fenólicos apresentam inúmeros benefícios para a saúde humana, incluindo a manutenção da saúde intestinal e a redução do risco de doenças crônicas, incluindo câncer (MACAGNAN; SILVA; HECKTHEUER, 2016).

A funcionalidade da fibra alimentar pode ser alterada através de tratamentos físicos, como a moagem ultrafina ou micronização, a qual reduz o tamanho das partículas para micro escala (CHAU; WANG; WEN, 2007). Com a aplicação deste método, ocorre a quebra das macromoléculas constituintes da fibra (hemicelulose, celulose e lignina), que são transformadas em compostos moleculares menores (ZHU; DU; LI, 2012). Consequentemente, tem-se melhora nas propriedades físico-químicas e na capacidade antioxidante como resultado da liberação de compostos fenólicos, fortemente ligados ou incorporados na matriz alimentar (SPERONI et al., 2019).

Os consumidores têm buscado alimentos funcionais, que, além do seu valor nutricional, propiciem benefícios às funções fisiológicas (SALGADO; GIRALDO;

ORREGO, 2017). A inclusão de ingredientes ricos em fibra alimentar e compostos fenólicos, como o bagaço de uva, em produtos alimentícios, tais como *snacks*, é uma ótima alternativa para inclusão destes na dieta (BENDER et al., 2016). Os *snacks* são produzidos através da extrusão termoplástica – processo térmico que combina mistura, formação, texturização e cozimento de uma matéria-prima em um produto alimentício (BRENNAN et al., 2013). A alta temperatura e o cisalhamento formam uma massa fundida a partir do ingrediente amiláceo e, em tempo de residência curto (15 a 30s), o material não coeso é convertido em nova estrutura texturizada (CIAN et al., 2014). Além disto, durante a extrusão pode ocorrer solubilização da fibra e melhora da digestibilidade e da biodisponibilidade dos nutrientes, visto que o processo ocasiona a degradação das ligações glicosídicas dos polissacarídeos e, conseqüentemente, expõe compostos de interesse (KHANAL; HOWARD; PRIOR, 2009; VITAGLIONE; NAPOLITANO; FOGLIANO, 2008). A inclusão de fibra alimentar também pode reduzir a degradação do amido por revestir os grânulos, inibindo a penetração da enzima e a liberação de glicose (SIMONATO et al., 2019).

## 1.1 VITIVINICULTURA

O cultivo de uvas para a produção de vinhos é considerada uma prática antiga no Brasil, tendo iniciado em 1532, com a introdução de *Vitis vinifera* na região Sudeste do país. O avanço na produção deu-se a partir de 1865, com a chegada de imigrantes italianos à região da Serra Gaúcha. 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 (OIV, 2019). A produção está dividida entre seis regiões, sendo que o Rio Grande do Sul concentra 64,30% desta área (MELLO, 2017). No estado, em busca de novas áreas de produção, o cultivo estendeu-se para a microrregião de Santa Maria, a qual apresenta microclima diferenciado, com boa amplitude térmica, excelente insolação e baixo índice pluviométrico durante o período de maturação. Em relação à produção de uvas do estado, em 2019, 614,3 milhões de quilos foram processados e, principalmente, utilizados para a elaboração de vinhos (finos e de mesa), sucos e derivados. No total, 41,61 milhões de litros de vinhos foram produzidos a partir de uvas viníferas (IBRAVIN, 2019).

Dentre as *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., 2017). Cultivada em menor área no estado, Malbec está entre as cultivares produzidas na microrregião de Santa

Maria. Com coloração vermelho intenso, apresenta aroma de frutas vermelhas, como ameixas, amoras e cerejas e exibe potencial para produção de vinhos varietais (BARROS et al., 2018). Em sua constituição, destacam-se a presença de flavanóis, principal classe de compostos fenólicos não antociânicos identificados em vinhos Malbec, com predominância de catequina, epicatequina e epicatequina galato e de malvidina, antocianina majoritária (FANZONE et al., 2012).

Diante da produção crescente de vinhos, há um aumento na geração de resíduos oriundos do processamento, com destaque para o bagaço de uva. Estima-se que o bagaço corresponda de 20 a 30% do peso da uva (DWYER; HOSSEINIAN; ROD, 2014). Pequena quantidade deste resíduo é reutilizada para produção de “grappa” e o restante da produção é desperdiçado ou subutilizado para adubação de solo e complemento de ração animal (BRENES et al., 2016; DWYER; HOSSEINIAN; ROD, 2014). Mesmo após a elaboração do vinho, com extração de compostos antioxidantes de interesse, tais como antocianinas e flavonoides, quantidades significativas destes permanecem no resíduo. Diante da busca pela valorização e reaproveitamento dos resíduos agroindustriais, o bagaço de uva mostra-se como alternativa promissora para esta finalidade (RONDEAU et al., 2013).

## 1.2 BAGAÇO DE UVA

O bagaço de uva compreende o resíduo sólido gerado a partir da elaboração do vinho após a prensagem (na vinificação em branco) e/ou o processo fermentativo (na vinificação em tinto) das uvas (BERES et al., 2017). Constituído principalmente de cascas, sementes e resíduos de polpa (BRENES et al., 2016), o bagaço de uva vem sendo objeto de estudos na área de alimentos. Estes têm demonstrado o potencial de reaproveitamento dos compostos fenólicos e fibras antioxidantes oriundas das cascas e do óleo proveniente das sementes (BERES et al., 2016; FERNANDES et al., 2013).

A composição química do bagaço apresenta variações em relação aos diferentes tipos de uva (branca ou tinta), às partes do tecido utilizado (casca ou semente) e às condições da vinificação (contato ou não com a casca durante o processo fermentativo). Além destes fatores, há influência de fatores agroclimáticos e de práticas enológicas da região do vinhedo, como sistema de condução da vinha (latada ou espaldeira) e estado sanitário das uvas no momento da colheita (BRENES et al., 2016; SHRIKHANDE, 2000).

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%) (BRAVO; SAURA-CALIXTO, 1998; DENG; PENNER; ZHAO, 2011). Em relação à 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). A fibra alimentar é amplamente reconhecida como um componente benéfico para uma dieta saudável. Estudos demonstram que a ingestão diária de fibras alimentares está correlacionada com a redução dos riscos associados à doença cardiovascular, câncer e diabetes e com a melhora do trânsito intestinal (BENÍTEZ et al., 2017; DENG; PENNER; ZHAO, 2011; MUDGIL; BARAK, 2013).

O bagaço de uva apresenta quantidade considerável de fibra alimentar e compostos fenólicos, fato que o torna adequado para uma série de aplicações como ingrediente ou suplemento alimentar (ZHU et al., 2015). Sanz-Pintos et al. (2017) destacam que o fato de uma matriz alimentar apresentar conteúdos significativos de fibra alimentar e compostos fenólicos, pode potencializar os efeitos biológicos do alimento, o que o torna especialmente relevante como fonte de compostos bioativos.

Durante a vinificação, as etapas de esmagamento e prensagem das uvas não acarretam alterações em sua composição química. Estas ocorrem, especialmente, durante a fermentação na elaboração dos vinhos tintos e correspondem às alterações na composição dos carboidratos. Entretanto, 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 compostos fenólicos permanecem no bagaço após o processamento (DWYER; HOSSEININAN; ROD, 2014; GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2010), variando entre 0,1 a 7,0 g equivalentes em ácido gálico em 100 g de bagaço de uva seco (BARCIA et al., 2015).

Estruturalmente, os compostos fenólicos contém um anel aromático, com um ou mais substituintes hidroxila, e variam desde moléculas elementares de fenol único até compostos altamente polimerizados. São classificados em dois grupos: não-flavonoides (ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico e seus derivados, estilbenos e ácidos fenólicos) e flavonoides (antocianinas, flavanóis, flavonóis e dihidroflavonóis) (FANZONE et al., 2012).

No bagaço de uva, os compostos fenólicos predominantes são antocianinas, flavanóis, flavonóis, ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico e estilbenos. Dentre as antocianinas,

destacam-se malvidina, peonidina, delphinidina e cianidina. Estes compostos são responsáveis pela coloração das uvas e se encontram em altas concentrações nas cascas de uvas tintas. Nos flavanóis, principal subclasse de compostos fenólicos presentes no bagaço de uva, especialmente nas sementes, evidenciam-se catequina, epicatequina e epicatequina galato. Entre as proantocianidinas, prevalecem procianidina B1 e procianidina B2, enquanto que entre os flavonóis, há predominância de quercetina glicosilada e kaempferol. Os ácidos gálico e siríngico são os compostos predominantes pertencentes à subclasse do ácido hidroxibenzóico. Resveratrol, composto pertencente à família dos estilbenos, também pode estar presente no bagaço de uva. Os ácidos ferúlico, cumárico, cafeico e caftárico destacam-se entre os ácidos hidroxicinâmicos. As concentrações dos compostos fenólicos são influenciadas, principalmente, pelos fatores genéticos da cultivar, condições ambientais de cultivo, grau de maturação dos frutos e processo de vinificação (BARCIA et al., 2015; MELO et al., 2015; PEIXOTO et al., 2018; ROCKENBACH et al., 2011). Estes compostos apresentam uma ampla série de efeitos fisiológicos, tais como antialérgico, anti-inflamatório, antimicrobiano, antioxidante, antitrombótico e cardioprotetor (BERES et al., 2017).

Uma parte da fração fenólica presente é facilmente extraída pelos métodos convencionais (métodos aquoso-orgânicos). Esta fração compreende os polifenóis extraíveis (EPP, do inglês, *Extractable Polyphenols*) e consiste principalmente em flavonoides (antocianinas, flavonóis, flavanóis) e ácidos fenólicos. Porém, há quantidade significativa de polifenóis não extraíveis (NEPP, do inglês, *Non-Extractable Polyphenols*), que não são extraídos pelos solventes orgânicos comumente utilizados (etanol, metanol e acetona) e requerem hidrólise (ácida a altas temperaturas) para sua determinação. Nestes estão incluídos os polifenóis hidrolisáveis e as proantocianidinas não extraíveis (NEPA, do inglês, *Non-Extractable Proantocyanidin*). Estes apresentam propriedades promissoras relacionadas à saúde, já que são liberados da matriz alimentar pela microbiota do cólon (PÉREZ-JIMÉNEZ; DÍAZ-RUBIO; SAURA-CALIXTO, 2013). A baixa solubilidade destas frações indica que elas não são extraídas durante o processo de vinificação e permanecem no bagaço de uva (BERES et al., 2017).

### 1.3 FIBRA ALIMENTAR

A fibra alimentar é definida como “parte comestível de plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à digestão e à absorção no intestino delgado humano, com fermentação completa ou parcial no intestino grosso. Fibra alimentar inclui polissacarídeos,

oligossacarídeos, lignina e substâncias associadas às plantas, tais como os compostos fenólicos” (AACC, 2001) sendo abundante em produtos vegetais como frutas, vegetais e grãos (DENG; PENNER; ZHAO, 2011).

Os polissacarídeos não amiláceos são considerados os principais componentes da fibra alimentar e são classificados em duas frações, de acordo com a sua solubilidade em água: fibras insolúveis e fibras solúveis (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014). A fração insolúvel é predominante em farelos, vegetais folhosos e grãos e é composta pelos componentes insolúveis da parede vegetal, os quais incluem a celulose, hemiceluloses insolúveis, lignina e taninos. A fração solúvel da fibra é formada por polissacarídeos não amiláceos hidrossolúveis estruturais, como as  $\beta$ -glicanas, arabinoxilanas, pectinas, algumas hemiceluloses solúveis, gomas e mucilagens. Esta é encontrada principalmente em leguminosas secas, aveia, cevada e frutas (ELLEUCH et al., 2011; MUDGIL; BARAK, 2013).

As propriedades físico-químicas e a composição da fibra alimentar influenciam os efeitos fisiológicos no organismo humano (BENÍTEZ et al., 2017). O efeito fisiológico da fração insolúvel é atribuído à melhora da motilidade intestinal. Essa fração provoca aumento do volume e peso fecal, devido à sua capacidade de retenção de água. Desta forma, contribui para um trânsito intestinal mais rápido, aliviando a constipação e regulando o tempo do trânsito intestinal. Os componentes desta fração da fibra, principalmente celulose e lignina, não são fermentados no cólon e, portanto, são pouco metabolizados (DAI; CHAU, 2017).

O efeito fisiológico da porção solúvel da fibra alimentar está associado à sua capacidade de ligação à água, formando gel. Esta é responsável pelo aumento do volume intraluminal e tempo do trânsito intestinal e pelo retardo no esvaziamento gástrico, causando maior saciedade. Ao provocar o aumento da viscosidade do conteúdo intraluminal, as fibras solúveis diminuem a migração de nutrientes para as paredes intestinais (DAI; CHAU, 2017). Desta forma, atuam como uma barreira na absorção de alguns metabólitos, retardando, por exemplo, a absorção de glicose e colesterol. Assim, diminuem o risco de diabetes, hiperlipidemias, obesidade e desordens gastrointestinais, como o câncer de cólon (CHAU; CHEN; LIN, 2004). No intestino grosso, a fibra solúvel é rapidamente fermentada pelas bactérias acidolíticas, produzindo altas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, butirato e propionato. Estes auxiliam na manutenção da integridade das células do cólon e desencadeiam efeitos benéficos adicionais. Concomitantemente, as fibras fermentadas convertem-se em substratos para o desenvolvimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, elevando os níveis destes (HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2009) e conseqüentemente, melhoram a saúde do hospedeiro (CHAWLA; PATIL, 2010).

A fibra alimentar inclui, em sua composição, macromoléculas que exibem ampla variedade de propriedades físico-químicas, as quais estão relacionadas aos seus efeitos fisiológicos e propriedades tecnológicas. Benítez et al. (2017) destacam que o estudo das características individuais da fibra alimentar obtida de diferentes fontes e sujeita a diferentes pré-tratamentos, é necessário tanto para conhecer o seu potencial benéfico quanto para estimar suas propriedades tecnológicas. Algumas propriedades nutricionalmente relevantes são a capacidade de retenção de água (CRA), capacidade de absorção de minerais (CAM) e capacidade de ligação ao óleo (GUILLON; CHAMP, 2000).

As propriedades de retenção de água da fibra alimentar estão relacionadas com a estrutura química dos polissacarídeos, porosidade, tamanho de partícula, forma iônica, pH e temperatura (ELLEUCH et al., 2011). Estas são relevantes do ponto de vista nutricional e tecnológico e podem influenciar na incorporação de ingredientes ricos em fibra em alimentos (CHAU, CHEN; LIN, 2004). Ingredientes com alta capacidade de retenção de água podem ser utilizados para evitar sinérese e modificar viscosidade e textura em produtos alimentícios (GRIGELMO-MIGUEL; GORINSTEIN; MARTÍN-BELLOSO, 1999), tais como sucos e iogurtes (NIETO-CALVACHE; DE ESCALADA PLA; GERSCHENSON, 2019). A capacidade de ligação ao óleo (CLO) é intimamente dependente da densidade aparente, ou seja, da porosidade do material. Partículas com baixa densidade aparente possuem maior área superficial e, conseqüentemente, maior capacidade para absorver ou ligar-se a componentes lipídicos (BENÍTEZ et al., 2017). Ingredientes com alta CLO permitem estabilização de produtos com elevado teor de lipídeos e emulsões, tais como derivados cárneos (ELLEUCH et al., 2011). Além disso, biologicamente, retém lipídeos no lúmen intestinal, provocando diminuição nos níveis de colesterol sanguíneos (NIETO-CALVACHE; DE ESCALADA PLA; GERSCHENSON, 2019). A CAM ou capacidade de ligação a cátions é uma propriedade interessante do ponto de vista nutricional. Materiais com alta CAM podem aprisionar, desestabilizar e desintegrar a emulsão lipídica, conduzindo à diminuição da difusão e absorção dos lipídeos (CHAU; WANG; WEN, 2007; FEMENIA et al., 1997). De maneira geral, a capacidade da fibra de formar géis, reter água e óleo e aumentar a viscosidade, influencia na textura do produto e estabilidade da emulsão, evitando a sinérese e melhorando a vida de prateleira dos produtos nos quais é adicionada (ELLEUCH et al., 2011).

A fibra alimentar pode ser obtida de uma variedade de resíduos agroindustriais, tais como frutas e vegetais (BENÍTEZ et al., 2017). Uma das formas de recuperá-la a partir destes resíduos, é o isolamento/concentração de polímeros da parede celular (NIETO-CALVACHE; DE ESCALADA PLA; GERSCHENSON, 2019). Além disso, modificações físicas podem ser



realizadas para alterar a sua composição e assim, influenciar nas propriedades tecnológicas e funcionais da fibra alimentar.

#### 1.4 CONCENTRADOS DE FIBRA ALIMENTAR

Estudos têm sido conduzidos com a finalidade de caracterização (BENÍTEZ et al., 2017; DE ESCALADA PLA et al., 2012) e aplicação (BENDER et al., 2017) de concentrados de fibras alimentares obtidos a partir de resíduos agroindustriais. Cascas, sementes e bagaço, com alto teor de fibra alimentar, são materiais que apresentam excelente potencial para obtenção de concentrados e para inclusão nas formulações de alimentos como ingredientes funcionais (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018a).

O uso de subprodutos do processamento de frutas e vegetais para a produção de ingredientes ricos em fibras alimentares ganhou atenção recentemente (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018b). Uma das formas de recuperação da fibra alimentar e consequente valorização dos resíduos agroindustriais são através da concentração e/ou isolamento de polímeros da parede celular (NIETO-CALVACHE; DE ESCALADA PLA; GERSCHENSON, 2019). Os concentrados de fibra alimentar são compostos por aproximadamente 9% de lipídeos e fibras alimentares totais de pelo menos 50% e podem ser aplicados em produtos alimentícios para aumentar o seu valor nutricional (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018b).

Como mencionado, a concentração de fibra alimentar apresenta potencial para geração de produtos inovadores para as indústrias de alimentos (NIETO-CALVACHE et al., 2016). O tratamento de resíduos agroindustriais, como casca de uva e casca e polpa de mamão, com etanol, seguido de um processo de desidratação, produz ingredientes concentrados em polímeros da parede celular, que podem ser compostos por fibras alimentares solúveis e insolúveis (BENDER et al., 2020; NIETO-CALVACHE et al., 2016). Além disso, estudos conduzidos por De Escalada Pla et al. (2012) e Rodríguez-González et al. (2018) revelaram melhora nas propriedades físico-químicas da fibra alimentar concentrada a partir da polpa e casca de pêssigo. Os autores constataram aumento na CLO e densidade aparente. Por outro lado, observou-se redução no conteúdo de fenólicos totais, fato também constatado por Bender et al. (2020) em concentrado de fibra alimentar obtido a partir de bagaço de uva. Os compostos fenólicos são facilmente solubilizados em misturas hidro alcoólicas, sendo a razão etanol/água importante para diminuir a lixiviação destes compostos (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2018).

Embora uma diminuição no conteúdo de fenólicos totais tenha sido observada, parte da capacidade antioxidante original foi mantida nos concentrados de fibra alimentar. Desta forma, estes podem representar não apenas uma fonte de fibra alimentar, mas também de compostos associados (fenólicos e carotenoides, por exemplo) com capacidade antioxidante (NIETO-CALVACHE et al., 2016). Além disso, os tratamentos para concentração de fibra alimentar podem melhorar a biodisponibilidade dos compostos fenólicos devido à ruptura da parede celular dos tecidos vegetais ou à dissociação dos complexos matriz-nutriente (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2018).

Assim, o uso de concentrados de fibra alimentar obtidos a partir de resíduos agroindustriais contribui para a redução da geração de resíduos, que representam grave problema ambiental (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018b) e também para a sua valorização, visto que constituem fonte de fibra alimentar de baixo custo para a indústria de alimentos (NIETO-CALVACHE; DE ESCALADA PLA; GERSCHENSON, 2019).

## 1.5 MICRONIZAÇÃO

As propriedades físico-químicas da fibra alimentar podem ser modificadas através de métodos químicos, enzimáticos e físicos. Os métodos químicos baseiam-se em hidrólises ácidas e/ou básicas para destruição da parede da célula e acarretam em aumento da concentração de fibras solúveis. O tratamento enzimático é capaz de modificar a relação entre fibra solúvel e insolúvel, atuando em sítios específicos de ligação das moléculas de fibra. Porém, sabe-se que as enzimas atuam em condições ótimas de temperatura e um tempo mínimo de incubação se faz necessário; essas condições, muitas vezes, inviabilizam sua utilização (ELLEUCH et al., 2011; GUILLON; CHAMP, 2000).

A micronização ou moagem ultrafina é um processo físico que reduz o tamanho das partículas para micro escala (tamanho entre 1 mm a 100  $\mu\text{m}$ ) (ZHANG et al., 2016). Este processo também melhora algumas das suas propriedades físico-químicas, como a capacidade de hidratação e de retenção ao óleo; a solubilidade; a capacidade de ligação a cátions e de adsorção da glicose; e a atividade inibitória da lipase pancreática e da  $\alpha$ -amilase (CHAU; WANG; WEN, 2007; DAOU; ZHANG, 2012).

O emprego da tecnologia de moagem ultrafina apresenta ótimo potencial para uso na manipulação de alimentos nutracêuticos e funcionais. Com a redução do tamanho da partícula, conseqüentemente ocorre aumento da área superficial e, desta forma, os constituintes das partículas ultrafinas são facilmente absorvidos no trato gastrointestinal,

umentando a qualidade dos produtos alimentícios em que são incorporados. Além disso, os componentes antioxidantes são mantidos (DU et al., 2014).

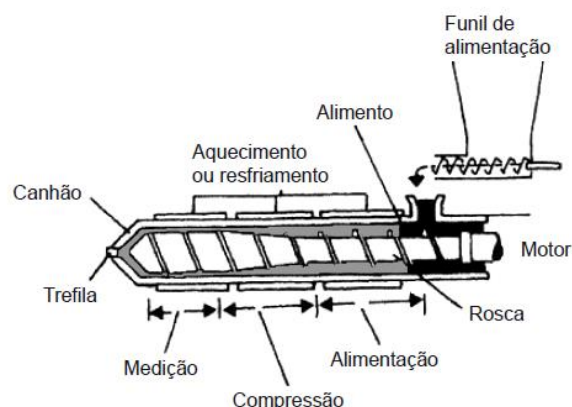
Diferentes técnicas podem ser utilizadas para produção de partículas ultrafinas. Uma das técnicas mais tradicionais faz uso do moinho de bolas (do inglês, *ball milling*), no qual há contato direto do equipamento com o material a ser moído e o recipiente é movido em três direções axiais. Desta forma, os materiais são misturados por repetidos impactos de alta energia. A fricção dos componentes do alimento e das moléculas de água umas contra as outras e contra as bolas e paredes do recipiente produzem aquecimento. Este contribui para modificar as propriedades dos grânulos de amido e também dos demais constituintes do alimento (fibra alimentar, por exemplo) (WANG; CIOU; CHIANG, 2009). A principal vantagem da utilização deste equipamento é o baixo custo do processo e a preservação do meio ambiente, devido a pouca ou nenhuma geração de resíduos (HE et al., 2014).

De maneira geral, com a micronização ocorre reorganização estrutural, ou seja, a estrutura passa de ordenada para desordenada (amorfa) pela quebra das ligações intermoleculares, com obtenção de frações menores após a moagem, ocasionando mudanças na estrutura original e conseqüentemente, mudanças nas propriedades físico-químicas (ZHAO et al., 2015). Os componentes da fibra alimentar são redistribuídos principalmente pela quebra/degradação da hemicelulose, celulose e lignina, que são transformadas em compostos moleculares menores (ZHU; DU; LI, 2012).

## 1.6 EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

A extrusão termoplástica é definida como um processo contínuo no qual cisalhamento mecânico é combinado com calor e provoca a modificação da matriz alimentícia por meio da associação entre temperatura e pressão (DAOU; ZHANG, 2012; EL-DASH, 1981). O processo de extrusão tem sido utilizado desde 1930, para a produção de *snacks* e cereais matinais (CIAN et al., 2014), sendo considerada tecnologia versátil, rápida e de baixo custo (BISHARAT et al., 2014; EL-DASH, 1981). Basicamente, o equipamento é composto por um sistema de alimentação, rosca ou parafuso sem fim, cilindro ou canhão, matriz ou molde e sistema de corte (Figura 1) (EL-DASH, 1981; LOPES-DA-SILVA; SANTOS; CHOUPINA, 2015). Na extrusora, a partir do funil de alimentação, o material sólido é forçado a fluir através de uma matriz (molde) até o orifício da saída, onde é moldado à sua forma final (LOPES-DA-SILVA; SANTOS; CHOUPINA, 2015).

Figura 1 – Constituição geral de uma extrusora mono rosca ou parafuso simples



Fonte: (LOPES-DA-SILVA; SANTOS; CHOUPINA, 2015).

Com o emprego do calor, além do cozimento dos materiais amiláceos até obtenção de massa plástica viscosa, ocorrem a gelatinização do amido, a inativação enzimática, a redução da flora microbiana e a destruição de toxinas termolábeis (FELLOWS, 2018), estes últimos contribuindo diretamente para o aumento da vida útil dos produtos.

Os cereais ricos em amido, tais como trigo, aveia, milho e arroz, além de farinha e fécula de mandioca, são as bases das formulações dos extrusados e responsáveis pelas características estruturais (expansão e textura) dos produtos. Estes ingredientes apresentam alta densidade energética, porém têm reduzido valor nutricional, em termos de vitaminas, minerais e fibra, exibindo alto índice glicêmico (BRENNAN et al., 2013).

Estudos vêm sendo realizados com o intuito de diversificar os ingredientes amiláceos utilizados nas formulações. Uma das alternativas é a farinha de batata doce, cultura alimentar mais importante depois de arroz, trigo, batata, milho e mandioca (WANG; NIE; ZHU, 2016). O Brasil é um dos principais produtores nas Américas, juntamente com os Estados Unidos (FAO, 2017). O amido de batata doce apresenta propriedades físico-químicas diferenciadas e tem sido valorizado como ingrediente funcional na indústria de alimentos (ZHU; WANG, 2014). Dentre seus constituintes, destacam-se os carboidratos (aproximadamente 80% de amido), proteínas (inferior a 5%), fibras (entre 3 e 15%), cinzas e lipídeos (inferiores a 1%) (RATHOD; ANNAPURE, 2016; WANG; NIE; ZHU, 2016).

## 1.7 QUALIDADE NUTRICIONAL DOS PRODUTOS EXTRUSADOS

Com a finalidade de melhorar o aporte nutricional e de compostos bioativos dos produtos extrusados, diversos ingredientes têm sido utilizados para este fim, tais como bagaço de cramberry (WHITE; HOWARD; PRIOR, 2010), bagaço de abacaxi (SELANI et al., 2014), casca de uva (BENDER et al., 2016) e bagaço de cenoura (ALAM; PATHANIA; SHARMA, 2016). Nestes estudos foi demonstrado que é possível adicionar ingredientes funcionais aos produtos extrusados amiláceos, apresentando características tecnológicas, nutricionais e sensoriais satisfatórias.

A concentração dos compostos bioativos nos produtos extrusados é influenciada diretamente pelos parâmetros do processo, tais como cisalhamento, temperatura, tempo de residência e umidade (BRENNAN et al., 2011). O processo de extrusão termoplástica tem a habilidade de elevar a capacidade antioxidante do alimento, devido este processo romper as ligações de compostos fenólicos associados à fibra alimentar, elevando a bioacessibilidade dos compostos bioativos presentes na matéria-prima (MORALES et al., 2015). A redução na degradação dos compostos bioativos pode ser decorrente da complexação dos compostos com as proteínas e/ou amido. Ao ingerir o alimento, as enzimas humanas são capazes de quebrar essa estrutura, permitindo a liberação dos compostos antioxidantes (BRENNAN et al., 2011).

Além disso, durante a extrusão, a fibra alimentar pode ser significativamente modificada. A fibra possui capacidade de absorver água, dificultando sua evaporação, levando à formação de um produto compacto e menos expandido. Desta forma, a adição de ingredientes com quantidade significativa de fibra pode ocasionar aumento da densidade aparente dos produtos extrusados (ALAM; PATHANIA; SHARMA, 2016). A solubilidade em água pode ser aumentada devido ao aumento da energia mecânica provocada no processo. Estas mudanças nas propriedades estruturais e solubilidade da fibra alimentar provocadas pela extrusão conduzem a diferenças significativas nas suas propriedades funcionais, quando comparadas com o ingrediente rico em fibra, antes do processo (ROBIN; SCHUCHMANN; PALZER, 2012). Por isso, torna-se de fundamental importância otimizar o processo de extrusão, para que o produto formulado atenda aos requisitos tecnológicos, nutricionais e sensoriais.

Estudos indicam que a extrusão melhora a digestibilidade e biodisponibilidade dos nutrientes. Khanal, Howard e Prior (2009) ao avaliarem o conteúdo de procianidinas de semente e bagaço de uva relataram que a extrusão aumentou o conteúdo total desta fração fenólica, em decorrência da ruptura da matriz fibrosa provocada pelo cisalhamento

concomitante com alta temperatura e pressão. Além disso, os autores destacam que a extrusão mantém componentes desejáveis e destrói microrganismos. White, Howard e Prior (2010) avaliando a composição fenólica e a capacidade antioxidante de extrusados contendo bagaço de cramberry, relataram perdas no conteúdo de antocianinas nas formulações em que altas temperaturas foram empregadas. Em temperaturas mais baixas, não há influência sobre este parâmetro. Esse fato indica que ocorre possível proteção das antocianinas pelo amido presente.

A despolimerização do amido, combinada com as altas temperaturas associadas à extrusão, pode contribuir para a maior disponibilidade do amido às enzimas amilolíticas durante a digestão. Devido a este fato, os produtos extrusados tendem a produzir uma resposta glicêmica mais alta em comparação com ingredientes crus não processados (BRENNAN et al., 2013). Por outro lado, há evidências de que a inclusão de fibra alimentar cause redução da degradação do amido por revestir os grânulos de amido e inibir a penetração da enzima, reduzindo a liberação de glicose (SIMONATO et al., 2019).

Diante do exposto, estudos devem ser conduzidos para verificar a influência do processo de extrusão termoplástica na preservação dos compostos bioativos e o efeito destes sobre a digestibilidade do amido. Também, percebe-se a necessidade de elucidar os efeitos do uso de ingredientes amiláceos não convencionais na produção de extrusados.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da micronização sobre as características físico-químicas da fibra do bagaço de uva com o intuito de potencializar as propriedades funcionais de um produto extrusado.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar métodos físicos como micronização e extrusão para modificação da estrutura da fibra alimentar no bagaço de uva.
- Avaliar o efeito dos métodos físicos sobre a composição da fibra alimentar, propriedades físico-químicas, compostos fenólicos e capacidade antioxidante do bagaço de uva e do concentrado de fibra do bagaço de uva.
- Investigar a influência da inclusão do bagaço de uva sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e funcionais, incluindo o conteúdo de fenólicos e antocianinas, a capacidade antioxidante e a digestibilidade *in vitro* de um produto extrusado.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

##### 3.1.1 Obtenção do bagaço de uva

O bagaço de uva, proveniente da vinificação da cultivar Malbec (*Vitis vinifera* L.) (Itaara, RS, Brasil) nas safras 2016/2017 e 2017/2018, foi coletado após a etapa de fermentação, prensado e congelado a -18°C. Posteriormente, o material foi submetido à secagem em estufa com circulação de ar (50°C/24 horas), moído e armazenado a -18°C, até o momento de realização das análises (Apêndice A).

##### 3.1.2 Obtenção do concentrado de fibra do bagaço de uva

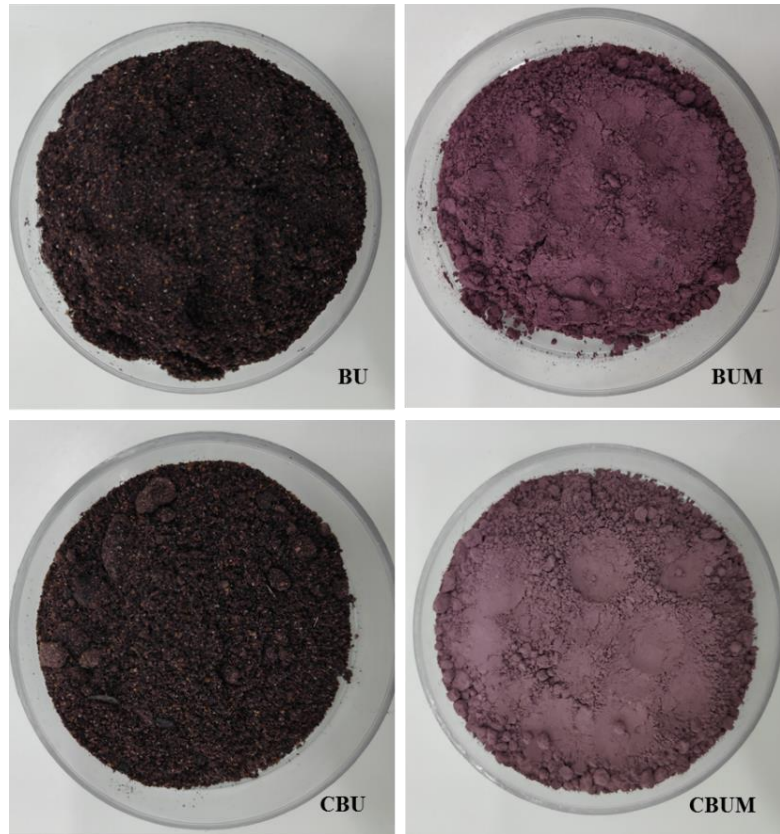
A concentração da fibra alimentar foi realizada de acordo com Bender et al. (2017) utilizando etanol aquecido (60°C), em uma proporção soluto:solvente de 1:2, sob agitação constante, por 30 minutos. Após a precipitação (30 minutos), o sobrenadante foi descartado. O processo foi repetido mais duas vezes. Ao final, o precipitado, correspondente ao concentrado de fibra, foi submetido à secagem em estufa com circulação de ar a 40°C por 24 horas.

##### 3.1.3 Micronização

As frações obtidas (bagaço de uva e concentrado de fibra do bagaço de uva) foram submetidas à moagem em moinho planetário de bolas (Retsch- PM 100, Germany). A fim de determinar as condições ótimas de micronização, o ensaio foi realizado utilizando delineamento fatorial com duas variáveis independentes ( $2^2$ ) (rotação: 300, 375 e 450 rpm e tempo: 30, 60 e 90 minutos). Através deste planejamento experimental, foram definidas as melhores condições para o aumento do teor de fibra solúvel. Para isto, o teor de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foi estimado através do método enzimático-gravimétrico (AOAC, 1995). A partir dos resultados obtidos na micronização, foram definidos os ensaios a serem conduzidos (Figura 2).



Figura 2 – Amostras de bagaço de uva (BU) e concentrado de bagaço de uva (CBU) antes e após a micronização (BUM e CBUM, respectivamente)



Fonte: (AUTOR, 2019).

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização foi realizada no bagaço de uva, concentrado de fibra do bagaço de uva e nas respectivas amostras micronizadas que apresentaram maiores concentrações de fibra solúvel segundo o planejamento experimental.

#### 3.2.1 Composição centesimal

As amostras foram analisadas quanto à composição centesimal – matéria seca (MS) (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 e Dyer (1959) e os teores de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foram estimados através do método enzimático-

gravimétrico da AOAC (1995). Os conteúdos de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido foram estimados segundo Goering e Van Soest (1970) e utilizados para determinação dos teores de celulose, hemicelulose e lignina. Os resultados da composição centesimal foram expressos em g/100 g de amostra seca.

### **3.2.2 Características físico-químicas**

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 (1,0 g) foram adicionados 15 mL de água destilada (para CRA) ou óleo de soja (para CLO). Após 24 horas de repouso em temperatura ambiente, 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 capacidade de ligação a cátions foi estimada pela capacidade de ligação ao cobre (MCBURNEY et al., 1983). Soluções de nitrato de cobre foram utilizadas na curva padrão. Os resultados foram expressos em gramas de cobre retidos em um grama de amostra seca.

A capacidade de inchamento foi avaliada de acordo com metodologia descrita por Raghavendra et al. (2004). Em proveta, a amostra (0,2 g) foi adicionada e homogeneizada com água destilada (10 mL). Após 18 horas de repouso em temperatura ambiente, anotou-se o volume deslocado pela amostra. O resultado foi expresso como volume atingido pela amostra hidratada por um grama de amostra seca.

A solubilidade foi estimada pelo método de Chau et al. (2007), com modificações. À amostra (0,3 g) foi adicionada água destilada (30 mL). Após agitação (3 horas) e centrifugação (3000 rpm/10 minutos), o sobrenadante foi, cuidadosamente, transferido para placa de Petri previamente tarada. A placa contendo a amostra solubilizada foi liofilizada e pesada. O resultado foi expresso em grama de amostra solubilizada em 100 g de amostra seca.

O pH das amostras foi determinado em pHmetro após mistura da amostra (1,0 g) com água destilada (10 mL).

### **3.2.3 Distribuição do tamanho de partícula**

A distribuição do tamanho de partícula foi estimada utilizando analisador de tamanho de partícula com difração a laser equipado com unidade de controle com sonicação. Os parâmetros mensurados foram:  $D_{10}$  ( $\mu\text{m}$ ),  $D_{50}$  ( $\mu\text{m}$ ) e  $D_{90}$  ( $\mu\text{m}$ ), os quais indicam a

porcentagem das partículas que apresentam volume igual ou inferior ao tamanho indicado. O valor de *span*, indicativo da amplitude de distribuição das partículas, foi calculado subtraindo-se do valor de  $D_{90}$ , o valor de  $D_{10}$ , sendo o resultado dividido pelo valor de  $D_{50}$ .

### **3.2.4 Microscopia eletrônica de varredura**

A morfologia das partículas foi obtida através de microscópio eletrônico de varredura com feixe de elétrons de 10 kV. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro e as imagens foram coletadas com ampliações de 500X.

### **3.2.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier**

Os espectros de infravermelho foram obtidos no equipamento Spectrum Two (Perkin Elmer, Waltham, USA) utilizando modo de reflectância total atenuada universal e cristal de diamante. As análises foram realizadas na região do infravermelho médio (faixa de 4000/cm a 400/cm) com resolução de 32/cm e 4 varreduras.

### **3.2.6 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante**

#### *3.2.6.1 Obtenção do extrato*

A extração dos compostos fenólicos foi realizada segundo Pérez-Jiménez et al. (2008). À amostra (0,5 g) foi adicionada solução metanol/água (50/50, v/v, pH 2,0) (20 mL). Após agitação (1 hora) e centrifugação (3000 rpm/10 minutos), o sobrenadante foi coletado. Ao precipitado, foi adicionada solução acetona/água (70/30, v/v) (20 mL). Posteriormente à agitação (1 hora) e centrifugação (3000 rpm/10 minutos), o sobrenadante foi coletado e misturado ao anterior. O extrato obtido foi utilizado para a determinação do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e capacidade antioxidante.

#### *3.2.6.2 Determinação do conteúdo de fenólicos totais*

O conteúdo de fenólicos totais foi estimado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2003). Ao extrato da amostra (20  $\mu$ L) adicionou-se água destilada (1,58 mL) e o reagente de Folin-Ciocalteu 2 N (100  $\mu$ L). Após repouso em temperatura ambiente (8

min), a solução de carbonato de sódio 20% foi adicionada. A reação foi conduzida a 40°C por 30 minutos. O conteúdo de fenólicos totais foi mensurado em espectrofotômetro a 765 nm e os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico em 100 g de amostra seca.

#### *3.2.6.3 Determinação das antocianinas monoméricas totais*

As antocianinas monoméricas totais foram determinadas através da metodologia de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). O extrato da amostra foi diluído diretamente em tampão cloreto de potássio 0,025 M (pH 1,0) e em tampão acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida a 515 nm e 700 nm após 15 minutos de reação. 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 seca.

#### *3.2.6.4 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência*

A identificação e a quantificação dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método descrito por Melo et al. (2015). As amostras foram extraídas com solução metanol/água (80/20, v/v) e filtradas em filtro PTFE de 0,22 µm. Ácidos fenólicos, flavanóis e flavonóis foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna de fase reversa (ODS-A, 4,6 mm x 250 mm; 5 µm) acoplada a um detector de arranjo de diodos. Alíquotas do extrato (20 µL) foram injetadas em fluxo de 1,0 mL/minuto 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 minutos), 20% de B (0 minuto), 45% de B (70 minutos), 100% de B (85 minutos), mantendo 100% de B (10 minutos) e diminuindo para 5% de B (100 minutos). Foram utilizados os seguintes padrões: ácido gálico, ácido siríngico, procianidina B1, procianidina B2, catequina, epicatequina, epicatequina-3-O-galato e quercetina-3-beta-D-glicosídeo, todos da Sigma Aldrich.

#### *3.2.6.5 Determinação da capacidade 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). Ao

extrato da amostra (200 µL) adicionou-se a solução contendo o radical ABTS (1,8 mL). Após incubação (30°C/6 minutos), a absorbância foi mensurada a 750 nm. Os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox em 100 g de amostra seca.

A capacidade de absorção do radical oxigênio foi estimada pelo método de Ou et al. (2001). Solução de fluoresceína 81 nM (150 µL) foi adicionada ao extrato da amostra (25 µL), incubando-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 fluorescência foi medida durante 90 minutos em 485 nm (excitação) e 528 nm (emissão) em leitora de microplacas. Soluções padrões de Trolox foram utilizadas na curva de calibração e os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox em 100 g de amostra seca.

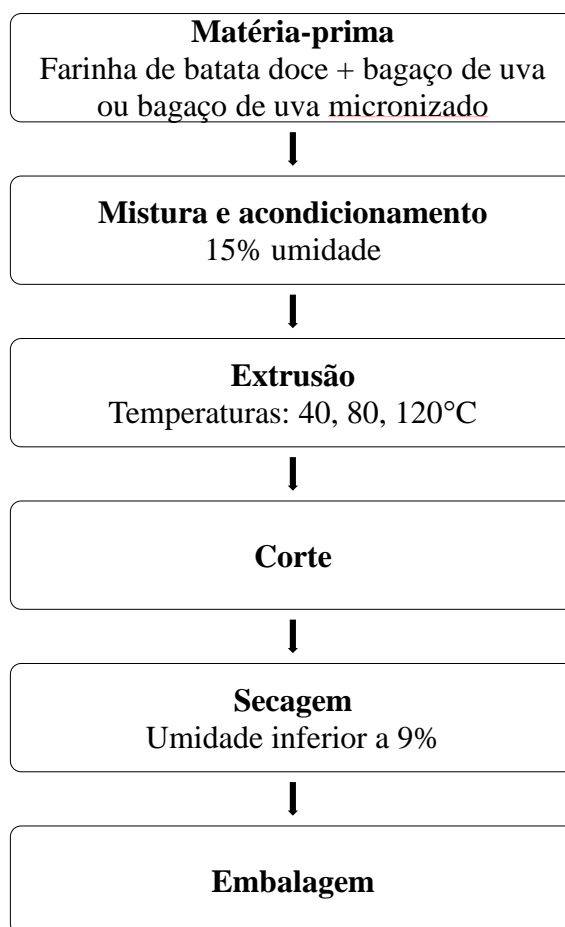
### 3.3 PRODUÇÃO DOS *SNACKS* POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

A extrusão termoplástica foi conduzida em extrusora mono rosca (INBRAMAQ, modelo Labor PQ30, Ribeirão Preto, Brasil) com adição de bagaço de uva e bagaço de uva micronizado em substituição à farinha de batata doce, seguindo as etapas descritas no fluxograma (Figura 3). As quantidades a serem adicionadas foram definidas levando-se em consideração o conteúdo de fibra total dos ingredientes para que o produto final atendesse à legislação quanto à classificação como alto conteúdo de fibra (mínimo de 6 g de fibra em 100 g de alimento) (ANVISA, 2012). Assim, foram acrescentados 6,25% de bagaço de uva e 6,25% de bagaço de uva micronizado em substituição à farinha de batata doce. Foram fixados os seguintes parâmetros: diâmetro da matriz (4,22 mm), velocidade de rotação (150 rpm), temperatura da 1ª (40°C), 2ª (80°C) e 3ª (120°C) zonas e taxa de alimentação (170 g/min).

As formulações foram ajustadas quanto à umidade de 15%, pela adição de água, homogeneizadas manualmente e acondicionados em estufa com circulação de ar a 50°C por 2 horas, para padronização da umidade.

Após o processo de extrusão, os *snacks* foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar a 50°C por 2 horas, atingindo umidade inferior a 9%. Em seguida, os produtos foram armazenados em embalagens de polietileno ao abrigo da luz e sob temperatura ambiente até o momento de realização das análises (Figura 4).

Figura 3 – Fluxograma representativo das etapas de produção dos *snacks* por extrusão termoplástica



Fonte: Adaptação de Carvalho, Ascheri e Azevedo (2005).

Figura 4 – *Snacks* extrusados de batata doce (BD), bagaço de uva (BU) e bagaço de uva micronizado (BUM)



Fonte: (AUTOR, 2019).

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS *SNACKS* EXTRUSADOS

#### 3.4.1 Densidade aparente e índice de expansão

A densidade aparente (DA) foi calculada segundo Alvarez-Martinez, Kondury e Harper (1988), de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Densidade aparente} = 4m/\pi d^2 L$$

Onde m é a massa (g) de um comprimento L (cm) de um extrusado de diâmetro d (cm). O resultado foi expresso em g/cm<sup>3</sup>.

O índice de expansão radial (IER) foi determinado com paquímetro digital ao estabelecer a relação entre o diâmetro central do extrusado (D) e o diâmetro da matriz (DO):

$$\text{Índice de expansão radial} = \left( \frac{\text{diâmetro central do extrusado}}{\text{diâmetro da matriz}} \right)^2$$

#### 3.4.2 Índices de absorção de água e solubilidade em água

O índice de absorção de água (IAA) e o índice de solubilidade em água (ISA) foram determinados segundo metodologia proposta por Anderson et al. (1969). Previamente, as amostras foram moídas e padronizadas quanto ao tamanho de partícula em peneiras de 0,42 mm. Para o IAA, à amostra (2,5 g) (PA) foram adicionados 30 mL de água destilada a 28°C e, após agitação (30 minutos) e centrifugação (3000 rpm/10 minutos), o sobrenadante foi transferido, cuidadosamente, para cadinho de porcelana previamente tarado. Em seguida, procedeu-se a secagem (105°C/12 horas) para obtenção do peso do resíduo de evaporação (PRE). O material remanescente, correspondente ao resíduo de centrifugação, também foi pesado (PRC). O IAA foi calculado como g de amostra em relação à g de gel:

$$\text{Índice de absorção de água} = \left( \frac{\text{PRC}}{\text{PA}} \right) - \text{PRE}$$

O ISA representa a relação entre o peso do resíduo de evaporação (PRE) e o peso inicial da amostra (PA), multiplicados por 100, segundo a fórmula:

$$\text{Índice de solubilidade em água} = \left( \frac{\text{PRE}}{\text{PA}} \right) \times 100$$

### 3.4.3 Composição centesimal e conteúdo de minerais

As amostras, previamente moídas e padronizadas quanto ao tamanho de partícula (0,42 mm), foram avaliadas quanto à composição centesimal, como descrito em 3.2.1.

O teor de amido total foi analisado segundo o método 996.11 da AOAC com modificações propostas por Walter, Silva e Perdomo (2005). Os resultados foram expressos em g por 100 g de amostra em base seca.

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

### 3.4.4 Cor

Os extrusados foram avaliados quanto à cor objetiva ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) através de colorímetro CM-700d (Konica Minolta, Osaka, Japão), utilizando iluminante D65 e ângulo de  $10^\circ$ . 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)]. As leituras foram realizadas em diferentes pontos da amostra, previamente moída e padronizada quanto ao tamanho de partícula (0,42 mm) como recomendado por Selani et al. (2014), totalizando 6 medições por formulação (Figura 5).

Figura 5 – Cor dos extrusados de batata doce (BD), bagaço de uva (BU) e bagaço de uva micronizado (BUM)



Fonte: (AUTOR, 2019).



### **3.4.5 Textura instrumental**

A textura instrumental foi avaliada utilizando texturômetro TA-XTPlus (Stable Microsystems, Ltd, Godalming, UK) segundo Bender et al. (2016). Utilizou-se probe HDP-BS, velocidade do pré-teste 1,5 mm/s, velocidade do teste 1,0 mm/s, velocidade do pós-teste 10,0 mm/s e distância 10 mm. A força de gatilho foi estabelecida como 0,049 N. A análise foi realizada com dez repetições e o resultado foi expresso como dureza em Newton (N).

### **3.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura**

A morfologia das partículas foi observada através de microscópio eletrônico de varredura com feixe de elétrons de 10 kV. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro e as imagens foram coletadas com ampliações de 50X.

### **3.4.7 Compostos fenólicos, antocianinas monoméricas totais e capacidade antioxidante**

Para obtenção do extrato, prosseguiu-se a extração como descrito em 3.2.6.1.

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada seguindo metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965) adaptada para microplaca. Ao extrato da amostra (20 µL) foram adicionados 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu 1N e 80 µL de carbonato de sódio 7,5%. Após 2 horas de repouso a temperatura ambiente, a absorvância 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) nas amostras contendo bagaço de uva e bagaço de uva micronizado. Previamente, o extrato da amostra foi diluído diretamente em tampão cloreto de potássio 0,025 M (pH 1,0) 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. 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 foram expressos em mg equivalentes de malvidina-3-glicosídeo em 100 g de amostra seca.

A capacidade antioxidante foi avaliada através da remoção do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>) segundo metodologia de Re et al. (1999)

adaptada para microplaca. Foram pipetados 270  $\mu$ L da solução contendo o radical ABTS e a leitura foi realizada a 750 nm em leitora de microplacas. Após, foram adicionados 30  $\mu$ L do extrato da amostra e monitorou-se a absorvância a 750 nm por 15 minutos. Os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox em 100 g de amostra seca.

A capacidade de absorção do radical oxigênio foi estimada como descrito em 3.2.6.5.

### 3.4.8 Digestibilidade do amido *in vitro*

A digestibilidade do amido foi avaliada através do método da AOAC 996.11 (AOAC, 1995) modificado por Walter, Silva e Perdomo (2005). À amostra (0,3 g) foram adicionados etanol aquoso 80% (0,2 mL), tampão fosfato de sódio pH 6,0 (3,0 mL) e 0,1 mL de alfa-amilase (Liquozyme Supra 2.2x, Novozymes Latin America, Araucária, Brasil), prosseguindo-se a hidrólise a 95°C por 5 minutos. Após, foram adicionados 0,1 mL de protease (Alcalase 2.4L, Novozymes Latin America, Araucária, Brasil) e incubou-se a 60°C por 30 minutos. Em seguida, tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 (4,0 mL) e 0,1 mL de amiloglicosidase (AMG 300L, Novozymes Latin America, Araucária, Brasil) foram adicionados. Após incubação (60°C/30 minutos) e centrifugação (3000 rpm/10 minutos), o sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 100 mL.

Ao precipitado, adicionou-se tampão acetato de sódio 50 mM pH 4,5 (10 mL), procedendo-se a centrifugação (3000 rpm/10 minutos). Esta etapa (lavagem) foi repetida mais duas vezes. Completou-se o volume do balão com água destilada e a solução foi utilizada para determinação do amido disponível. Ao resíduo, foram adicionados dimetilsulfóxido (2,0 mL) (95°C/5 minutos), tampão fosfato de sódio pH 6,0 (3,0 mL) e 0,1 mL de alfa-amilase. Após incubação (95°C/5 minutos), tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 (4,0 mL) e 0,1 mL de amiloglicosidase foram adicionados.

Na sequência, a hidrólise foi realizada a 50°C por 30 minutos e a centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 10 mL, o qual teve o volume aferido com água destilada. Esta solução foi utilizada para determinação do amido resistente. Para ambas as determinações, à alíquota (20  $\mu$ L) da amostra foram adicionadas 1,0 mL do reagente glicose oxidase peroxidase (Glicose Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). A glicose foi medida em espectrofotômetro a 505 nm e os conteúdos de amido disponível e resistente foram calculados multiplicando o resultado final por 0,9 (para converter glicose livre em amido). Os resultados foram expressos em g por 100 g de amostra em base seca.

O índice glicêmico foi estimado segundo Simonato et al. (2019) com modificações. À amostra (0,1 g) foram adicionados 4 mL de tampão fosfato de sódio (pH 6,0) contendo alfa-amilase pancreática (40 mg) e amiloglicosidase (4 µL). A reação foi conduzida em banho com agitação a 37°C por 0, 30, 60, 120 e 180 minutos e interrompida com adição de etanol absoluto. Após centrifugação (3500 rpm/10 minutos/8°C), o sobrenadante foi coletado e o teor de glicose foi mensurado, em espectrofotômetro, com o reagente glicose oxidase peroxidase (Glicose Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil) a 505 nm. O índice de hidrólise (IH) foi calculado como o percentual entre a área sob a curva de cada amostra e a área sob a curva de um alimento padrão (pão branco). O índice glicêmico predito (IGp) foi considerado segundo Goñi, Garcia-Alonso e Saura-Calixto (1997):

$$\text{IGp} = 39.71 + 0.549 \text{ IH}$$

### 3.4.9 Análise microbiológica e atividade de água

Segundo a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, da Anvisa, (ANVISA, 2001) as análises microbiológicas obrigatórias para a avaliação das condições higiênico-sanitárias de produtos sólidos prontos para o consumo (petisco e similares) são coliformes a 45°C e *Salmonella*. Além disso, foram avaliados bolores e leveduras. Estas análises foram realizadas segundo as metodologias propostas por Downes e Ito (2001) e ISO 6579 (2002).

A atividade de água (aw) foi mensurada em equipamento Aqualab® a  $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

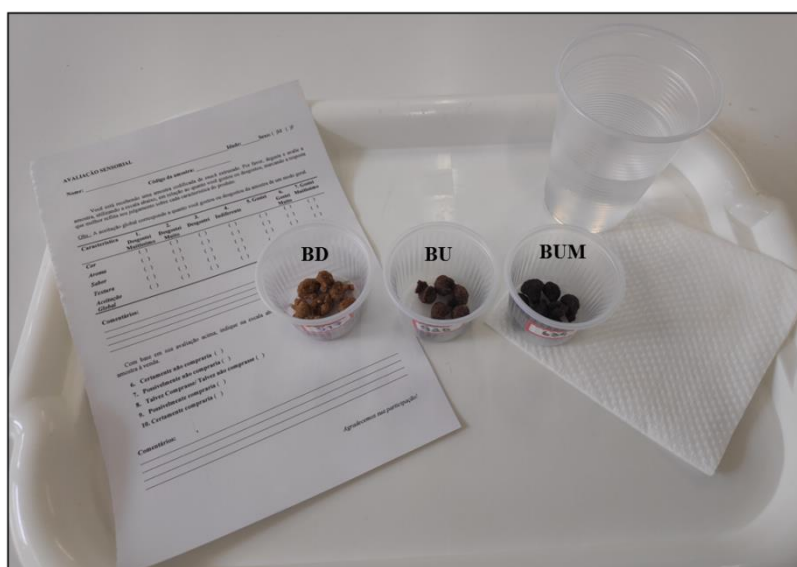
### 3.4.10 Análise sensorial

O teste afetivo de aceitação sensorial foi conduzido em cabines individuais com luz branca, a temperatura de 24°C, com 100 provadores não treinados, de ambos os sexos (57% sexo feminino e 43% sexo masculino) e idade média de 27 anos (19 a 64 anos). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, sob o número CAAE 98260718.2.0000.5346.

Todos os julgadores receberam informações a respeito dos objetivos e riscos da pesquisa, conforme os procedimentos éticos preconizados pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e puderam aderir livremente à pesquisa por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). A análise foi realizada através de ficha sensorial com escala hedônica de 7 (sete) pontos, variando de 1 – desgostei muitíssimo a 7 –

gostei muitíssimo (Apêndice C). As amostras codificadas aleatoriamente com três dígitos, foram oferecidas separadamente aos provadores em copos de polipropileno transparentes em quantidade suficiente (aproximadamente 2 g) para a análise dos atributos cor, aroma, sabor, textura e aceitação global (Figura 6). A intenção de compra foi avaliada utilizando escala de 5 (cinco) pontos, variando de 1 – certamente não compraria a 5 – certamente compraria (Apêndice C). Água foi fornecida aos provadores entre as amostras.

Figura 6 – *Snacks* extrusados de batata doce (BD), bagaço de uva (BU) e bagaço de uva micronizado (BUM) avaliados na análise sensorial



Fonte: (AUTOR, 2019).

#### **4 ARTIGOS CIENTÍFICOS INTEGRADOS**

##### **4.1 ARTIGO 1 - MICRONIZATION AND EXTRUSION PROCESSING ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF DIETARY FIBER**

**Artigo publicado no periódico Ciência Rural**

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20190154>



## Micronization and extrusion processing on the physicochemical properties of dietary fiber

Ana Betine Beutinger Bender<sup>1\*</sup>  Fernanda Rodrigues Goulart<sup>2</sup>   
Leila Picolli da Silva<sup>2</sup> Neidi Garcia Penna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: betinebender@hotmail.com. \*Corresponding author.

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

**ABSTRACT:** *Dietary fiber plays an important physiological role, which is directly linked to its physicochemical properties, water-holding, oil-binding, and cation-exchange capacities. These properties can be altered by employing enzymatic, mechanical, and physical processes. Enzymatic and chemical processes require solvents and special conditions that make it unfeasible to use. Thus, the use of physical methods, such as micronization and extrusion, make promising options to change the physicochemical properties of dietary fiber. In this way, this review aimed to approach relevant information about the use of physical processes, specifically micronization and extrusion, for this purpose. Furthermore, conceptual aspects, such as definition, classification, and properties of dietary fiber and mainly characteristics about the micronization and extrusion processes, are reported. Micronization and extrusion are based on the decrease of the particle size to a micro scale and on the combination of high temperature, mechanical shearing and pressure, respectively. Applying these methods, modifications on the food matrix occurred by increasing the surface area and disruption of the glycosidic bonds. Consequently, there is a change in physicochemical properties of dietary fiber, which predict the physiological effect associated with dietary fiber consumption, such as decrease in blood cholesterol and glucose levels and improvement of intestinal transit. Moreover, these changes increase the bio accessibility of bioactive compounds present in the food matrix and improve the antioxidant capacity of products.*

**Key words:** grinding, hydration properties, mechanical shearing, particle size, soluble dietary fiber.

### Efeito dos processos de micronização e extrusão nas propriedades físico-químicas da fibra alimentar

**RESUMO:** *A fibra alimentar desempenha importante papel fisiológico, o qual está diretamente ligado às suas propriedades físico-químicas de capacidade de retenção de água, ligação ao óleo e a cátions. Estas propriedades podem ser alteradas empregando-se métodos enzimáticos, químicos e físicos. Métodos enzimáticos e químicos requerem solventes e condições específicas que inviabilizam sua utilização. Assim, o emprego dos métodos físicos, tais como micronização e extrusão, tornam-se alternativas promissoras para alterar as propriedades físico-químicas da fibra alimentar. Desta forma, este trabalho visa abordar informações relevantes sobre o uso dos processos físicos, especificamente micronização e extrusão para essa finalidade. Além disso, aspectos conceituais como definição, classificação e propriedades da fibra alimentar e as principais características dos processos de micronização e extrusão são relatados. Micronização e extrusão baseiam-se na diminuição do tamanho de partícula para microescala e na combinação de alta temperatura, pressão e força de cisalhamento, respectivamente. Aplicando-se estes métodos, modificações na matriz alimentícia ocorrem pelo aumento da área superficial e rompimento das ligações glicosídicas da matriz alimentar. Consequentemente, são observadas alterações nas propriedades físico-químicas da fibra alimentar, as quais predizem o efeito fisiológico associado ao seu consumo, como diminuição dos níveis de colesterol e glicose sanguíneos e a melhora do trânsito intestinal. Ademais, essas alterações aumentam a bioacessibilidade dos compostos bioativos presentes na matéria-prima alimentícia e melhoram a capacidade antioxidante dos produtos obtidos.*

**Palavras-chave:** moagem, propriedades de hidratação, cisalhamento mecânico, tamanho de partícula, fibra alimentar solúvel.

### INTRODUCTION

In the face of increasing demand from consumers for a healthy and balanced lifestyle, besides that the population eats deficiently in quantity and quality, it is important to include dietary fiber in the diet. This nutrient plays important roles in the body, such as interference in the metabolism of lipids and carbohydrates

and in the physiology of the gastrointestinal tract, as well as ensuring slower absorption of nutrients and promoting a feeling of satiety.

Recent research has shown that a high fiber diet decreases the concentration of physiological markers associated with cardiovascular risk, such as total cholesterol, low density lipoprotein and triglycerides (CHEN et al., 2014). The effect is related



to the physicochemical properties of dietary fiber, water-holding, oil-binding, and cation-exchange capacities. Besides the absorption of bile acids, which have significant roles in the prevention of diet-dependent diseases (obesity, atherosclerosis and colon cancer), as well as nitrite absorption capacity, which is related to the protection against gastric cancer (ZHU et al., 2015).

The most pronounced beneficial effects of dietary fiber are associated with its soluble fraction. However, in most of cases, insoluble fiber is reported in higher amounts in food matrices. Thus, this fraction can be converted into soluble fiber by physical methods, which modify the nutritional properties of the final product (HUANG & MA, 2016). Changes in fiber structures, both internal and external, affect its physicochemical properties, through a larger surface and an internal area, and the activation of more water and oil molecules (YAN et al., 2015).

Micronization and extrusion processing are physical methods used to change the physicochemical properties of dietary fiber. Both processes could be considered not harmful to the environment due no residues generation, with great alternatives for this purpose. However, it is important to understand the processes for comprehending the changes that they occur. In this way, this review aimed to address the use of physical methods, micronization and extrusion, as alternatives to improve the physicochemical properties of dietary fiber.

#### *Definition, classification and composition of dietary fiber*

Dietary fiber is defined as “edible part of plants or analogous to carbohydrates that are resistant to digestion and absorption in the small intestine, with complete or partial fermentation in the large intestine. Dietary fiber includes polysaccharides, oligosaccharides, lignin and associated substances to plants” (AACC, 2001), such as phenolic compounds (VITAGLIONE et al., 2008). They are abundant in vegetable products such as fruits, vegetables and grains (DENG et al., 2011).

Dietary fiber consists of carbohydrate polymers that make up the cell wall of vegetables, including cellulose, hemicellulose and pectins, as well as polysaccharides from plants or obtained from algae, like gums and mucilages and oligosaccharides, such as inulin. In addition, associated substances, mainly lignin and minor compounds (cutin, saponin and polyphenols) are included as components of dietary fiber (VITAGLIONE et al., 2008; MUDGIL & BARAK, 2013).

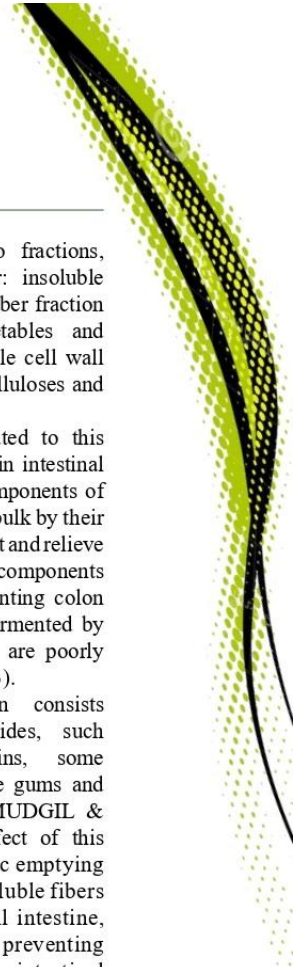
Fibers are divided into two fractions, according to their solubility in water: insoluble fraction and soluble fraction. Insoluble fiber fraction is predominant in bran, leafy vegetables and grains and it consists mainly of insoluble cell wall components (cellulose, insoluble hemicelluloses and lignin) (ELLEUCH et al., 2011).

The physiological effect related to this fraction is associated with the decrease in intestinal transit time (DAI & CHAU, 2017). Components of insoluble dietary fiber can increase fecal bulk by their water holding capacity that helping prevent and relieve constipation. By absorbing water, these components also absorb possible carcinogens, preventing colon cancer. However, they are minimally fermented by the intestinal microflora and; therefore, are poorly metabolized (MUDGIL & BARAK, 2013).

The soluble fiber fraction consists of structural non-starch polysaccharides, such as  $\beta$ -glycans, arabinoxylans, pectins, some hemicelluloses; and also substances like gums and mucilages (ELLEUCH et al., 2011; MUDGIL & BARAK, 2013). The physiological effect of this fraction is associated with delayed gastric emptying (greater satiety). Due their viscosity, soluble fibers form a superficial area along the small intestine, which slows digestion of nutrients by preventing bulk diffusion of foods across the intestinal lumen. Furthermore, the increased viscosity slows the absorption of glucose and lipids (KENDALL et al., 2010).

Unlike the insoluble fraction, the soluble fiber is selectively fermented in the large intestine by acidolytic bacteria, producing high concentrations of short chain fatty acids (SCFA), mainly acetate, propionate and butyrate. In the intestine, SCFAs function as protective agents for diseases like diarrhea, intestinal inflammation and colon cancer. Concomitantly, fermented fibers are converted into nutrients that stimulate growth and activity of beneficial bacteria, such as Bifidobacteria and Lactobacilli in the colon, increasing their levels (MUDGIL & BARAK, 2013). Consequently, this condition improves host health (DAI & CHAU, 2017).

In general, residues derived from processed fruits and vegetables contain high amounts of soluble dietary fiber and a better insoluble/soluble fiber ratio (HUANG & MA, 2016). This fact is relevant because the relation is important for both, food and physicochemical properties. The soluble fraction, in comparison to the insoluble portion, presents a greater ability to form gels (YAN et al., 2015) and greater effectiveness in the maintenance of systemic



health. The insoluble portion can be converted to soluble fiber by physical methods. So, changes in nutritional properties and texture of the product may occur (HUANG & MA, 2016).

#### *Physicochemical properties of dietary fiber*

The solubility of dietary fiber confers differences in functional and technological properties. Soluble fibers are characterized by the ability to increase viscosity, reduce glycemic response and plasma cholesterol (ABDUL-HAMID & LUAN, 2000; KENDALL et al., 2010) as well as to demonstrate a better ability to form gels and/or act as emulsifiers, compared to the insoluble fraction (ELLEUCH et al., 2011). Insoluble fibers are characterized by porosity, low density, ability to increase fecal bulk and decrease intestinal transit time that alleviating constipation and improving regularity (DAI & CHAU, 2017). These physiological effects of dietary fiber depend mainly on their physicochemical properties, such as water-holding, oil-binding and cation-exchange capacities (MUDGIL & BARAK, 2013).

Water-holding capacity is a measure used to evaluate the water absorption capacity of fibers. Its measurement is based on the amount of water that remains attached to hydrated fibers with the application of an external force (pressure or centrifugation) (DU et al., 2014). The hydration or water retention properties of dietary fiber are related to the chemical structure of the polysaccharides, besides the porosity, particle size, ionic form, pH and temperature. The fiber source is extremely related to the hydration capacity. Fibers from fruit by-products have higher affinity for water than residues from cereal processing. Such differences are related to the chemical properties of fibers (ELLEUCH et al., 2011).

Oil-binding capacity is defined as the amount of oil retained by fibers after mixing, incubation and centrifugation steps (ELLEUCH et al., 2011). This measure is influenced by the surface properties, as well as the density of the loads and hydrophobic nature of the constituents of dietary fiber. Increase in oil-binding capacity is directly related to the effects of cholesterol absorption. By attaching more effectively oil, the particulate material prevents or delays the absorption of blood cholesterol and thus decreases the circulating levels (CHAU et al., 2007).

According to water and oil-holding capacities, the use of fiber in food products is suggested. Dietary fibers with high oil-binding capacity can be used to stabilization of products with

high lipid content and emulsions, such as sausages. However, dietary fibers with high hydration capacity can be used as functional ingredients to prevent syneresis and to modify viscosity and texture in food products such as jellies and breads (GRIGELMO-MIGUEL et al., 1999; MUDGIL & BARAK, 2013).

Cation-exchange capacity relates the ability of the fibrous matrix to bind ions and hold them on its surface. Thus, the reduction of the bioavailability of minerals and trace elements to the body from the gastrointestinal tract, is one of the key elements of dietary fiber consumption (DAOU & ZHANG, 2012). As a result of the increase of cation-exchange capacity, a lipid emulsion destabilization occurs. Consequently, a reduction of lipid diffusion and absorption occurs, causing a decrease in blood triglyceride and cholesterol levels (CHAU et al., 2007).

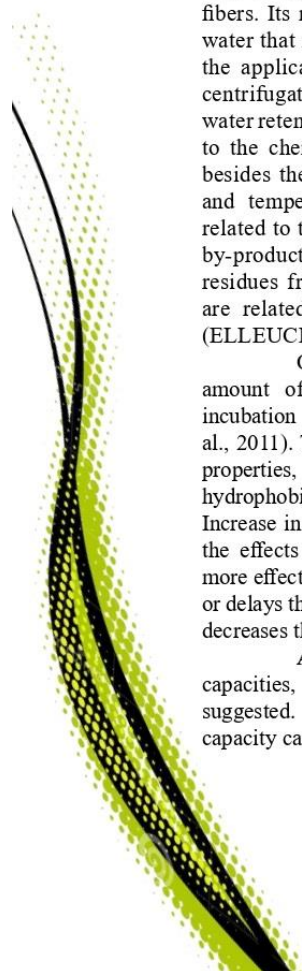
Other *in vitro* analyzes to evaluate the physicochemical properties of dietary fibers include nitrite ion absorption capacity and glucose absorption capacity. Nitrite is a reactive ion and may react with amines or amides under acidic conditions and form nitrous compounds with human carcinogenic potential. The ability of nitrite removal may be a contributing factor in the possible role of high-fiber ingredients for protection against gastric cancer (DU et al., 2014).

The absorption capacity of glucose is related to the ability of dietary fiber to hinder diffusion of glucose and adsorb glucose by imprisoning it in the fibrous matrix. Because of this, there is a decrease in postprandial glucose concentration available for absorption in the intestinal lumen, and thus, may have hypoglycemic effects (CHAU et al., 2007).

#### *Methods for dietary fiber modification*

The physicochemical properties of dietary fiber can be modified with chemical, enzymatic, and physical methods. Chemical methods are based on acidic and/or basic hydrolysis for destruction of the cell wall. Hydrolysis of the cell wall polysaccharides may lead to an increase in soluble fiber content. Enzymatic treatment is also able to modify the relation between soluble and insoluble fiber, acting in specific binding sites of the fiber molecules; for example, application of xilanases for disruption of the cell wall, increases the soluble fiber content. However, it is known that enzymes act under optimum temperature conditions and a minimum incubation time is necessary (GUILLON & CHAMP, 2000; ELLEUCH et al., 2011).

Therefore, the physical methods arise as an alternative for food processing that cause the





region-chemistry change of the surface area, directly related to the physicochemical properties (absorption or binding of molecules), being responsible for some physiological effects of dietary fiber in the body (GUILLON & CHAMP, 2000). Micronization and extrusion are examples of physical methods used to improve the functional properties of dietary fiber present in different food raw materials.

Micronization involves the reduction of particle size and is linked to changes in the surface area and functional properties of the ingredients tested. Extrusion involves heating in combination with homogenization, characteristics that also alter the functional properties of dietary fiber (DAOU & ZHANG, 2012).

#### *Micronization or ultrafine grinding*

Micronization or ultrafine grinding is a physical process that reduces the size of dietary fiber particles for a given micro scale (size from 1 nm to 100  $\mu\text{m}$ ) (ZHANG et al., 2016), improving some of its physicochemical properties, such as water-holding and oil-binding capacity; solubility; ability of "cation-exchange" and adsorption of glucose; and the inhibitory activity of pancreatic lipase and  $\alpha$ -amylase (CHAU et al., 2007; DAOU & ZHANG, 2012).

The use of ultrafine grinding technology presents great potential for use in nutraceutical and functional foods. By reducing the particle size; consequently, there is an increase in the surface area and, thus, the constituents of the ultra-fine particles are easily absorbed in the gastrointestinal tract by increasing the quality of the food products into which they are incorporated. In addition, the antioxidant components are maintained (DU et al., 2014).

Different techniques can be used to produce ultra-fine particles. One of the most traditional techniques makes use of the ball milling, which there is direct contact of the device with the material to be milled and the container is moved in three axial directions. Thus, the materials are sprayed and mixed by repeated high energy impacts. Friction of the starch and the water molecules against each other and against the balls and walls of the container produces heating that contributes to modify the properties of the starch granules and also of the other constituents of the food (dietary fiber and protein, for example) (WANG et al., 2009).

Another technique used is the jet milling, classified as a fluid energy impact milling technique, widely used for the production of ultra-fine powders. The jet mill is a static machine without milling media; the milling component consists of a chamber with a

nozzle or nozzles and the particles to be sprayed are accelerated by the air pressure or steam jet. The effect of milling is produced by the collision between the particles or by impact against the solid surfaces of the equipment (DRAKOS et al., 2017).

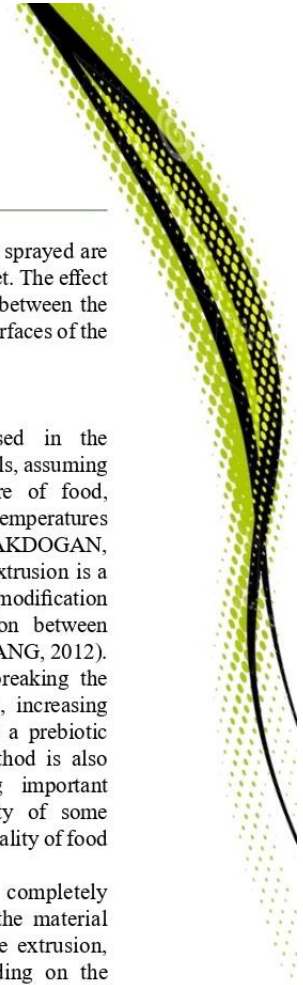
#### *Extrusion*

Extrusion is commonly used in the preparation of snacks and breakfast cereals, assuming that it changes the chemical structure of food, especially starch products, since high temperatures facilitate the gelatinization of starch (AKDOGAN, 1997; SOUZA & ANDRADE, 2000). Extrusion is a mechanical shear method involving the modification of the food matrix through association between temperature and pressure (DAOU & ZHANG, 2012). The mechanical stress is capable of breaking the glycosidic bonds of the fibrous matrix, increasing the soluble fiber content, often used as a prebiotic (VITAGLIONE et al., 2008). This method is also useful for protein breakdown, being important because it increases the bioavailability of some amino acids, improving the nutritional quality of food sources (ASCHERI et al., 2006).

The mechanical treatment completely disorganizes the original structure of the material (DAOU & ZHANG, 2012). During the extrusion, fiber solubilization may occur depending on the severity of the process (high temperature, high screw speed and low moisture content). Mechanical stress during the process may cause degradation of glycosidic bonds of the polysaccharides, leading to release of oligosaccharides and; consequently, the increase of the soluble fraction of fiber (VITAGLIONE et al., 2008).

Moreover, this mechanical modification has the ability to elevate the antioxidant capacity of the food, since this process breaks polyphenolic bonds associated to dietary fiber, increasing the bioaccessibility of the bioactive compounds present in raw material (MORALES et al., 2015). Since these compounds are sensitive to high temperatures, extrusion conditions (temperature, moisture, pressure, feed rate, screw speed) must be optimized for each array to be extruded (CHALERMCHAIWAT et al., 2015; LEVYA-CORRAL et al., 2016).

It is also worth noting that extrusion process can be considered environmentally friendly due to cost reduction, mainly with the treatment of the generated residues (CHEN et al., 2014), in relation to the chemical treatments of modification of dietary fiber.



### *Influence of physical methods on the physicochemical properties of dietary fiber*

As mentioned, the reduction of dietary fiber particle size to a micro scale improves its physicochemical properties (CHAU et al., 2007), such as water-holding, swelling, oil-binding and cation-exchange capacities (Table 1).

CHAU et al. (2007) evaluated different methods of micronization (ball milling, jet milling and high pressure micronizer) to reduce the particle size of insoluble fiber from carrot. The authors reported that the influence on the functional properties of raw material is greater when the particle size is smaller. These results represented an increase in water-holding, oil-binding and cation-exchange capacities. Increasing in water-holding capacity is due to increase in the number of water-binding sites (WANG et al., 2009) with consequent increase in solubility caused by the diffusion of the water-soluble molecules (ZHAO et al., 2015). During micronization, there is a change in the porosity of fibrous matrix, with an increase in the surface area, causing a redistribution

of insoluble components to soluble ones, through the solubilization of protein and pectic substances.

A similar result was reported by DU et al. (2014) in the production of ultra-fine powders from hull-less barley. In addition to the physical and chemical characteristics of the micronized products, the antioxidant capacity indicated an increase in DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical capture capacity and in Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). Main constituents responsible for this increase in antioxidant activity are the phenolic compounds, which are exposed after alteration or destruction of the macromolecular matrix caused by micronization process and, thus, act as inhibitors or free radical scavengers in the body (ZHU et al., 2014a; ZHAO et al., 2015).

In the study with hull-less barley bran, ZHU et al. (2015) related increase in soluble fraction of dietary fiber after ultra-fine milling as a beneficial factor. This portion helps to decrease blood cholesterol levels as well as control blood glucose levels. The reason for these benefits is the ability of soluble

Table 1 - Effect of micronization on the physicochemical properties and dietary fiber content of different food matrices.

Food matrix	Treatment	WHC (g water/g)	OBC (g oil/g)	TDF <sup>†</sup>	IDF <sup>†</sup>	SDF <sup>†</sup>	Reference
Carrot IDF	Control (123 µm)	12.5	1.92	-	-	-	CHAU et al., 2007
	Ball milling (12.4 µm)	13.00	1.99	-	-	-	
	Jet milling (28.3 µm)	12.6	3.22	-	-	-	
	High-pressure micronization (7.23 µm)	42.5	56	-	-	-	
Hull-less barley	Regular grinding (172.49 µm)	4.42	0.96	13.55	9.76	3.79	DU et al., 2014
	Ultra-fine grinding (11.74 µm)	3.19	4.83	14.27	7.64	6.63	
Grape pomace	Regular grinding (73.29 µm)	1.23	0.97	86.17	68.00	17.27	ZHU et al., 2014b
	Ultra-fine grinding (7.06 µm)	2.20	1.43	82.47	55.97	26.50	
Buckwheat hulls	Regular grinding (222.41 µm)	1.23	1.00	86.83	70.27	16.00	ZHU et al., 2014a
	Ultra-fine grinding (12.5 µm)	2.16	1.43	83.23	56.63	26.60	
Hull-less barley bran	Regular grinding (74.31 µm)	2.25	1.74	76.5	68.2	6.46	ZHU et al., 2015
	Ultra-fine grinding (14.06 µm)	19.53	2.03	72.00	54.4	16.1	

<sup>†</sup>Results are expressed as percentage of dry matter.

WHC=water-holding capacity. OBC=oil-binding capacity. TDF=total dietary fiber. IDF= insoluble dietary fiber. SDF= soluble dietary fiber.



fraction to absorb water and form gel, delaying the emptying of the stomach, which contributes with a weight control.

DRAKOS et al. (2017) used jet mill to produce ultra-fine powders from barley and rye flours and observed an increase of damaged starch with the ultra-fine milling process, which increased the water-holding capacity of the powders. This occurs due to greater water absorption and the interactions between the starchy and non-starchy components (proteins and fiber matrix). In the same study, authors pointed out that the decrease of particle size produces a decrease in the content of phenolic compounds, due to the formation of aggregates during milling. What is expected, as observed by HU et al. (2012), is an increase in this amount, with consequent increase in antioxidant activity.

In general, micronization method causes a structural reorganization and the structural changes from ordinate to disordered (amorphous) by breaking intermolecular bonds, obtaining smaller fractions after milling, causing changes in the original structure and; consequently, changes in physicochemical properties (ZHAO et al., 2015). The components of dietary fiber are redistributed mainly by the breakdown/degradation of hemicellulose, cellulose and lignin, which are converted into lower molecular compounds (ZHU et al., 2014b).

Using extrusion as a method to improve the functional properties of dietary fiber, attention should be paid to the temperature being used in the process (Table 2). JING & CHI (2013), while evaluating the effect of different extrusion conditions on the soluble fiber content of soybean residue, reported that the maximum temperature to be used

for extrusion of this raw material is 110°C; above this temperature, a decrease of the soluble fiber content occurs due to the depolymerization of the glycosidic bonds of the polysaccharides induced by the increase in temperature. In the same study, the authors obtained increased dietary fiber solubility (hydration capacity), as well as levels of soluble fiber and water-holding, and oil-binding capacity. High temperature used in the extrusion process modifies the structural characteristics of fiber, facilitating absorption of water and oil.

YAN et al. (2015) did not observe a significant difference for protein, lipid, ash and starch contents between non-extruded and extruded wheat bran samples. As well as HUANG & MA (2016) for the extruded orange pomace, these authors stated that heating during the extrusion process modifies the texture of the food material by breaking the structure of dietary fiber components of the vegetables, increasing levels of xylose, mannose, glucose and uronic acid. The extrusion process retains the water inside the fibrous matrix, so there is an increased water-holding capacity, while oil-binding capacity is related to the polysaccharide structure of the fiber and is influenced by the surface properties, charge density and the hydrophilic nature of the fiber particles (HUANG & MA, 2016).

Less pronounced increases in soluble fiber content were observed by HONCU et al. (2016) when evaluating changes in barley dietary fiber components during the extrusion process. This fact is due to dietary fiber content being dependent on the composition of the material being extruded and process parameters. By means of microscopy, the structure of the extruded material was shown

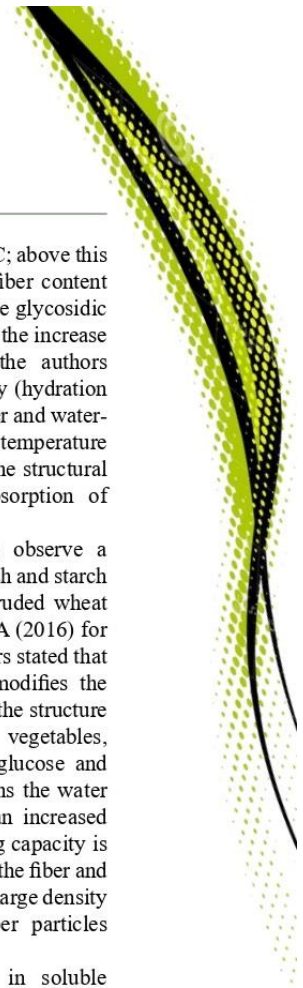


Table 2 - Effect of extrusion processing on the physicochemical properties and dietary fiber content of different food matrices.

Food matrix	Treatment	WHC (g water/g)	OBC (g oil/g)	TDF <sup>a</sup>	IDF <sup>a</sup>	SDF <sup>a</sup>	Reference
Soybean residue	Not extruded	7.99	77.42	63.03	60.82	2.05	JING & CHI, 2013
	Extruded	10.51	97.08	63.09	50.39	12.65	
Wheat bran	Not extruded	-	-	43.20	33.38	9.82	YAN et al., 2015
	Extruded	-	-	44.16	27.04	16.76	
Orange pomace	Not extruded	5.80	1.23	63.83	46.52	17.3	HUANG & MA, 2016
	Extruded	6.73	0.84	63.36	30.29	33.57	
Barley	Not extruded	-	-	18.14	10.00	6.80	HONCU et al., 2016
	Extruded	-	-	16.71	8.78	8.17	

<sup>a</sup>Results are expressed as percentage of dry matter.

WHC=water-holding capacity. OBC=oil-binding capacity. TDF=total dietary fiber. IDF=insoluble dietary fiber. SDF=soluble dietary fiber.

to be compact, with partially gelatinized starch, partially denatured protein and rearrangement of dietary fiber components. In addition, the increase in soluble fiber is due to the transglycosylation in which the 1,4 bonds between carbon and oxygen are cleaved and new anhydroglucose bonds are formed. Decrease in insoluble fiber levels may be due to the degradation of insoluble polysaccharides, cellulose and hemicellulose, into simple sugars (ELLEUCH et al., 2011).

One way of ascertaining the efficiency of *in vitro* test results is by *in vivo* analysis. CHEN et al. (2014) evaluated the effect of extrusion on the soluble fiber content from soybean residue in a mice fat- and cholesterol-rich diet. Initially, there was an increase in the content of soluble fiber in the extruded material compared to the non-extruded one. Regarding the *in vivo* assay, the incorporation of extruded dietary fiber into the diet decreased the concentration of physiological markers associated with cardiovascular risk, such as total cholesterol, low density lipoprotein and triglycerides and increased in the high density lipoprotein concentration. The authors reported that these effects may be due to the presence of carboxymethyl cellulose, which imprisons the cholesterol crystals, due to their well and pore morphology, forming a gel in the small intestine, which positively contribute to bind the crystals of excess cholesterol and facilitate excretion of the organism.

## CONCLUSION

Micronization and extrusion processes can be used to improve functional properties of dietary fiber, since both change its physicochemical properties, such as water-holding capacity, oil-binding, and cation-exchange capacities, associated with the beneficial effects of consumption of dietary fiber in the body. Research should be carried out in order to understand the role of improving the functional properties of dietary fiber in relation to the products in which they are incorporated. As well as the effect of these processes on improving the functional properties of dietary fiber *in vivo* must be investigated. Thus, it is possible to verify the improvement on the functional properties of dietary fiber in different food matrices.

## ACKNOWLEDGEMENTS

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

## DECLARATION OF CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflict of interest. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

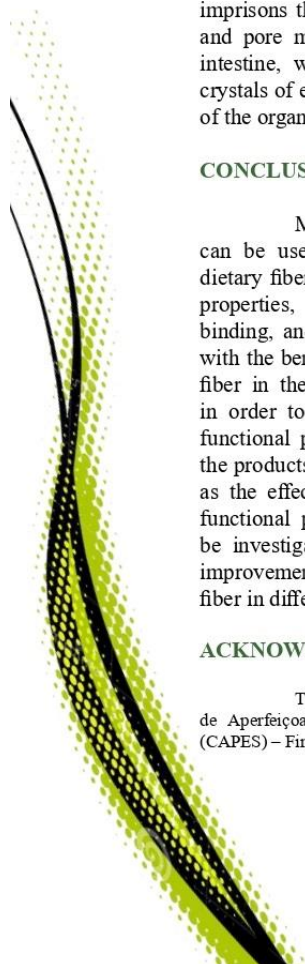
## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to the manuscript.

## REFERENCES

- ABDUL-HAMID, A.; LUAN, Y.S. Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**, v.68, p.15-19, 2000. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814699001454>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00145-4.
- AKDOGAN, H. Rheological properties of rice starch at high moisture contents during twin-screw extrusion. **LWT - Food Science and Technology**, v.30, p.488-496, 1997. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643896902157>>. Accessed: Nov. 16, 2016. doi: 10.1006/ftl.1996.0215.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC). **The definition of dietary fiber**. v.46, p.112-126, 2001. Available from: <<http://www.scisoc.org/aacc/DietaryFiber/report.html>>. Accessed: Nov. 16, 2016.
- ASCHERI, D.P.R. et al. Efeito da extrusão sobre a adsorção de água de farinhas mistas pré-gelatinizadas de arroz e bagaço de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.325-335, 2006. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612006000200015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000200015)>. Accessed: Mar. 05, 2017. doi: 10.1590/S0101-20612006000200015.
- CHALERMCHAIWAT, P. et al. Antioxidant activity, free gamma-aminobutyric acid content, selected physical properties and consumer acceptance of germinated brown rice extrudates as affected by extrusion process. **LWT - Food Science and Technology**, v.64, p.490-496, 2015. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815003485>>. Accessed: Nov. 18, 2017. doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.066.
- CHAU, C. F. et al. Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. **Food Chemistry**, v.100, p.1402-1408, 2007. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605010757>>. Accessed: Apr. 14, 2016. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.11.034.
- CHEN, Y. et al. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and in vivo evaluation. **Journal of Food Engineering**, v.120, p.1-8, 2014. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413003683>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.07.011.
- DAOU, C.; ZHANG, H. Study on functional properties of physically modified dietary fibres derived from defatted rice bran. **Journal of Agricultural Science**, v.4, n.9, p.85-97, 2012.

**Ciência Rural, v.49, n.7, 2019.**



Available from: <<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/16878>>. Accessed: May, 12, 2016. doi: 10.5539/jas.v4n9p85.

DENG, Q. et al. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v.44, p.2712–2720, 2011. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911003425>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.foodres.2011.05.026.

DRAKOS, A. et al. Influence of jet milling and particle size on the composition, physicochemical and mechanical properties of barley and rye flours. **Food Chemistry**, v.215, p.326–332, 2017. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27542482>>. Accessed: Jan. 24, 2018. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.169.

DU, B. et al. Physicochemical and antioxidant properties of dietary fibers from Qingke (hull-less barley) flour as affected by ultrafine grinding. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.4, p.170–175, 2014. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212619814000473>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.bcdf.2014.09.003.

ELLEUCH, M. et al. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v.124, p.411–421, 2011. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610007880>>. Accessed: Dec. 02, 2016. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.077.

GRIGELMO-MIGUEL, N. et al. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. **Food Chemistry**, v.65, p.175–181, 1999. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814698001903>>. Accessed: Dec. 02, 2016. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00190-3.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, v.33 p.233–245, 2000. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000387>>. Accessed: Mar. 02, 2016. doi: 10.1016/S0963-9969(00)00038-7.

HONCU, I. et al. The effects of extrusion on the content and properties of dietary fibre components in various barley cultivars. **Journal of Cereal Science**, v.68, p.132–139, 2016. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521016300121>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.jcs.2016.01.012.

HU, J. et al. Effect of superfine grinding on quality and antioxidant property of fine green tea powders. **LWT – Food Science and Technology**, v.45, p.8–12, 2012. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811002611>>. Accessed: Nov. 16, 2017. doi: 10.1016/j.lwt.2011.08.002.

HUANG, Y. L.; MA, Y. S. The effect of extrusion processing on the physicochemical properties of extruded orange pomace. **Food Chemistry**, v.196, p.363–369, 2016. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26304360>>. Accessed: Mar. 20, 2018. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.07.039.

JING, Y.; CHI, Y. J. Effects of twin-screw extrusion on soluble dietary fibre and physicochemical properties of soybean residues.

**Food Chemistry**, v.138, p.884–889, 2013. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612018754>>. Accessed: Jan. 24, 2017. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.12.003.

KENDALL, C. W. C. et al. The link between dietary fiber and human health. **Food Hydrocolloids**, v.24, p.42–48, 2010. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09001611>>. Accessed: Mar. 20, 2018. doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.08.002.

LEVYA-CORRAL, J. et al. Polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace in an extruded cereal. **LWT – Food Science and Technology**, v.65, p.228–236, 2016. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815300906>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.lwt.2015.07.073.

MORALES, P. Lentil flour formulations to develop new snack-type products by extrusion processing: Phytochemicals and antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**, v.19, p.537–544, 2015. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615004612>>. Accessed: Jan. 24, 2017. doi: 10.1016/j.jff.2015.09.044.

MUDGIL, D; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.61, p.1–6, 2013. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23831534>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão do amido de milho. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v.10, n.1, p.24–30, 2000. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-1428200000100006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-1428200000100006)>. Accessed: Dec. 02, 2016. doi: 10.1590/S0104-1428200000100006.

VITAGLIONE, A. et al. Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. **Trends in Food Science & Technology**, v.19, p.451–463, 2008. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224408000447>>. Accessed: Dec. 02, 2016. doi: 10.1016/j.tifs.2008.02.005.

WANG, C. C. R. et al. Effect of micronization on functional properties of the water caltrop (*Trapa taiwanensis* Nakai) pericarp. **Food Chemistry**, v.113, p.970–974, 2009. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608010066>>. Accessed: Dec. 02, 2016. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.048.

YAN, X. et al. Blasting extrusion processing: The increase of soluble dietary fiber content and extraction of soluble-fiber polysaccharides from wheat bran. **Food Chemistry**, v.180, p.106–115, 2015. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461500151X>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.127.

ZHAO, X. et al. Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders. **Powder Technology**, v.286, p.838–844, 2015. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032591015300735>>. Accessed: Mar. 05, 2017. doi: 10.1016/j.powtec.2015.09.025.

ZHU, F. et al. Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from



buckwheat hulls. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.3, p.30-34, 2014a. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818113001552>>. Accessed: Nov. 18, 2017. doi: 10.1016/j.bcab.2013.12.009.

ZHU, F. M. et al. Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace. **Food Science and Technology International**, v.20, p.55-62, 2014b. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23733819>>. Accessed: Nov. 18, 2017. doi: 10.1177/1082013212469619.

ZHU, F. et al. Superfine grinding improves functional properties and antioxidant capacities of bran dietary fibre from Qingke (hull-less barley) grown in Qinghai-Tibet Plateau, China. **Journal of Cereal Science**, v.65, p.43-47, 2015. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521015300187>>. Accessed: Mar. 20, 2017. doi: 10.1016/j.jcs.2015.06.006.



4.2 ARTIGO 2 - EFFECTS OF MICRONIZATION ON DIETARY FIBER COMPOSITION, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, PHENOLIC COMPOUNDS, AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF GRAPE POMACE AND ITS DIETARY FIBER CONCENTRATE

**Artigo publicado no periódico LWT – Food Science and Technology**

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652>

Configurado de acordo com as normas exigidas pelo periódico

**Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate**

Ana Betine Beutinger Bender<sup>a\*</sup>, Caroline Sefrin Speroni<sup>a</sup>, Karine Inês Bolson Moro<sup>a</sup>, Fernando Dal Pont Morisso<sup>b</sup>, Danilo Rheinheimer dos Santos<sup>c</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>d</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>Institute of Health Sciences, Feevale University, Vila Nova, 93510-330, Novo Hamburgo, RS, Brazil

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

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

\* Corresponding author. Tel.: +55 55 3220 8365

E-mail address: betinebender@hotmail.com



**Abstract**

In this study, the effects of micronization of grape pomace (GP) and fiber concentrate from GP (FC-GP) on dietary fiber fractions, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity were evaluated. A factorial design with two independent variables ( $2^2$ ) – rotational speed and milling time – was used to determine the best milling conditions to enhance the soluble dietary fiber (SDF) content. Constituents of insoluble dietary fiber, such as cellulose and lignin, were broken down and the content decreased after milling, resulting in increased SDF content, which indicates fiber compound redistribution. Ball milling had a significant effect on reducing the particle size, as evidenced by scanning electron microscopy. Moreover, FT-IR spectra revealed changes in typical absorption bands of polysaccharides. After milling, powder solubility increased and water holding, oil and cation binding capacities decreased. Furthermore, micronization enhanced phenolic compound extraction, mainly catechin and epicatechin, and the antioxidant capacity evaluated by ABTS and ORAC assays. The results obtained indicate that micronization modifies the dietary fiber composition of GP, increasing possibilities for use as a functional ingredient in the food industry.

*Keywords:* Ball milling; grape pomace; ORAC assay; solubility; soluble dietary fiber.

## 1. Introduction

The grape is one of the most cultivated fruit crops in the world and mainly used in winemaking. In general, 20-30% of the weight of processing grapes is grape pomace (GP), which is primarily composed of skins, seeds, stems, and the remaining pulp (Peixoto et al., 2018) and represents an ecological and economical waste management issue (Fontana, Antonioli, & Bottini, 2013; Dwyer, Hosseinian, & Rod, 2014). Due to its composition, GP can be used as a functional ingredient or to develop dietary supplements to increase dietary fiber (DF) and phenolic compound consumption (Zhao, Zhu, Zhang, & Tang, 2015; Melo et al., 2015). Dietary fiber and phenolic compounds present numerous benefits for human health, including maintaining intestinal health and reducing the risk of chronic diseases including cancer (Macagnan, Silva, & Hecktheuer, 2016; León-González, Jara-Palacios, Abbas, Heredia, & Schini-Kerth, 2017).

The most pronounced beneficial effects of dietary fiber are associated with its soluble fraction as a result of its fermentability and viscosity. Despite insoluble fiber being found in higher amounts in GP, this fraction can be converted into soluble fiber by chemical, enzymatic, and physical methods (Ain et al., 2019). Micronization is a physical process that involves particle size reduction (Zhang et al., 2016). Ball milling is one of the most common types of grinders used to micronize samples. It is a cost-effective milling method, simple to operate, and not harmful to the environment due to its little or no residue generation (He et al., 2014, Ramachandraiah & Chin, 2016). Milling balls and container walls move rapidly and collide repeatedly, causing the materials to be mixed by repeated high energy. The friction of the molecules against each other and against the balls and container walls contributes to modify the properties of the material constituents, such as dietary fiber (Zhang et al., 2016).

Studies have confirmed that micronization can affect solubility and hydration properties of dietary fiber (Zhao et al., 2015; Sheng et al., 2017; Hussain, Li, Jin, Yan, &

Wang, 2018; Yan, Ye, & Chen, 2019). Milling speed and time are variables that influence the ball milling process and require optimization (Ramachandraiah & Chin, 2016). Du, Zhu, & Xu (2014) and Speroni et al. (2019) have demonstrated that micronization may enhance the antioxidant capacity of dietary fiber as a result of release of phenolic compounds, which are strongly linked or embedded in the food matrix.

In this context, the present study aimed to establish the best condition for the micronization of GP and fiber concentrate from GP (FC-GP) using a factorial design with SDF as response. Additionally, the objective was to evaluate the proximate composition of GP and FC-GP and the effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity. Previously, Zhao et al. (2015) and Sheng et al. (2017) reported the effects of GP micronization. However, to our knowledge, there is no information regarding the influence of this process on the quantification of phenolic compounds and antioxidant capacity measured by ORAC assay. Therefore, the information obtained here will serve to help understand the effects of ball milling on the properties of dietary fiber from GP and may be used to develop dietary fiber supplement foods.

## **2. Material and methods**

### *2.1. Sample preparation*

Vinícola Velho Amâncio (Itaara, RS, Brazil) provided the grape pomace cv. ‘Malbec’ (*Vitis vinifera* L.), which is a red grape pomace from the winemaking process. After fermenting for nine days, the by-product was pressed and collected. The sample was dehydrated in a forced-air-drying oven at 50°C/24 h, milled, and sieved through a mesh (0.59 mm). The procedure for obtaining FC-GP was performed according to the method described by Bender et al. (2017). The sample was first extracted in boiling ethanol (92.8%, v/v) (1:2

solute: solvent ratio) and, after precipitation, the supernatant was discarded. Alcohol insoluble material was re-extracted in ethanol 80% (v/v) twice. In each step, the supernatants were discarded and the fiber concentrate dried in a forced-air-drying oven at 40°C/24 h.

The samples (GP and FC-GP) were evaluated for dry matter, ash, crude protein (N x 6.25), total dietary fiber (TDF), soluble dietary fiber (SDF), and insoluble dietary fiber (IDF) according to AOAC (1995) methods. Fat was measured according to the Bligh & Dyer (1959) method.

### *2.2. Ball milling treatment*

Samples were micronized using a high planetary ball mill (model PM100, Retsch Co., Haan, Germany). Six 30 mm stainless steel balls were added into a stainless steel container (250 mL) containing 15 g of the sample. A factorial design with two independent variables ( $2^2$ ) – rotation and time – was used to determine the best milling conditions to enhance the SDF content of each sample. The SDF content was measured according to AOAC (1995). Then, samples were milled at different rotational speeds (300, 375, and 450 rpm) and milling times (30, 60, and 90 min). The central design point was run in triplicate with 11 experiments for each fraction. The best condition to increase SDF content was established for GP and FC-GP.

### *2.3. Dietary fiber content*

The TDF, including SDF and IDF were determined according to AOAC (1995) methods. Neutral detergent fiber, acid detergent fiber, cellulose and lignin content were performed according to Goering & Van Soest (1970). Hemicellulose content was calculated as the difference between neutral detergent fiber and acid detergent fiber.

#### 2.4. Particle size distribution

Particle size distribution was estimated using a laser diffraction particle size analyzer equipped with a sonication control unit (Beckman Coulter, model LS 13 230, California, USA). Particle size distribution parameters were measured as different diameters, such as  $D_{10}$  ( $\mu\text{m}$ ),  $D_{50}$  ( $\mu\text{m}$ ), and  $D_{90}$  ( $\mu\text{m}$ ). The span value was calculated according to the equation  $\text{Span} = (D_{90} - D_{10}) / D_{50}$ .

#### 2.5. Scanning electron microscopy (SEM)

Morphological analyses were performed using a scanning electron microscope (model JSM-6510LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) and operated at 10 kV. Samples were metallized with a thin layer of gold and SEM images collected at 500 x magnifications.

#### 2.6. Fourier-transformed infrared spectroscopy (FT-IR)

Fourier-transformed infrared spectroscopy analysis was carried out using a PerkinElmer Spectrum Two spectrophotometer (PerkinElmer, Waltham, USA) equipped with universal attenuated total reflectance (UATR) and Diamond crystal. The analyses were performed in the range of 4000/cm to 400/cm and at a resolution of 32/cm by accumulating four scans.

#### 2.7. Physicochemical analyses

Water holding capacity (WHC) and oil binding capacity (OBC) were determined according to Raghavendra, Rastogi, Raghavarao, & Tharanathan (2004) with slight modifications. The sample (1.0 g) was weighed, mixed (15 mL) with distilled water (for WHC) or soybean oil (for OBC), and then hydrated for 24 h. The supernatant was discarded

after centrifugation (3000 rpm, 15 min). The results were expressed as grams of water/oil held by 1 g of sample in dry weight (DW), respectively.

Cation binding capacity (CBC) was estimated as copper binding according to McBurney, Van Soest, & Chase (1983). Solutions of  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  were used to prepare the standard curve ( $R^2 = 0.9988$ ). The results were expressed as grams of copper held by 1 g of sample (DW).

Swelling capacity was evaluated as described by Raghavendra et al. (2004). In a graduated test tube, the sample (0.2 g) was weighed, mixed (10 mL) with distilled water, and left at room temperature for 18 h. The swelling capacity was calculated according to the equation:

$$\text{Swelling capacity (mL/g)} = \frac{\text{Volume reached by the hydrated sample}}{\text{Initial sample weight}} \quad (1)$$

Solubility was quantified using the method of Chau, Wang, & Wen (2007) with slight modifications. The sample (0.3 g) was weighed and mixed (30 mL) with distilled water. After agitation (3 h) and centrifugation (3000 rpm, 10 min), the supernatant was, carefully, transferred to a Petri plate, which was previously weighed. Then, the plate was freeze-dried and weighed. Solubility was calculated as following:

$$\text{Solubility (g/100g DW)} = \frac{\text{Weight of supernatant after drying}}{\text{Initial sample weight}} \times 100 \quad (2)$$

The pH of samples was determined with a pH meter after blending 1 g of the sample in 10 mL of distilled water.

## 2.8. Phenolic compounds and antioxidant capacity

### 2.8.1. Sample extraction

Phenolic compound extraction was performed according to Pérez-Jiménez et al. (2008). The sample (0.5 g) was extracted with a methanol/water solution (50/50, v/v, pH 2.0) (20 mL). After agitation (1 h) and centrifugation (3000 rpm/10 min), the supernatant was collected and an acetone/water solution (70/30, v/v) (20 mL) added to the residue. After agitation (1 h) and centrifugation (3000 rpm/ 10 min), the supernatant was collected, mixed with the methanolic extract, and used to evaluate the phenolic compounds and antioxidant capacity.

### 2.8.2. Total phenolic content

Total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method (Waterhouse, 2003). The sample extract (20  $\mu$ L) was mixed with 1.58 mL of distilled water and 100  $\mu$ L of Folin-Ciocalteu reagent (2N). After remaining in room temperature for 8 min, a 300  $\mu$ L sodium carbonate solution (20%) was added. The reaction was complete after 30 min at 40°C. The total phenolic content was performed by spectrophotometry in 765 nm and the results expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per 100 g (DW).

### 2.8.3. Total monomeric anthocyanin

Total monomeric anthocyanin was evaluated according to the pH differential method (Giusti & Wrolstad, 2001). The sample extract was diluted in a 0.025 M potassium chloride solution (pH 1.0) and 0.4 M sodium acetate buffer (pH 4.5). The absorbance was measured at 515 and 700 nm after 15 min. Then, total monomeric anthocyanin content was calculated using the molecular weight (493.5) and molar extinction coefficient of malvidin-3-glucoside (29,500). The results were expressed as mg equivalent malvidin-3-glucoside per 100 g (DW).

#### 2.8.4. Phenolic compounds by HPLC

Phenolic compounds were analyzed according to the method described by Melo et al. (2015). Samples were extracted with water/methanol (80/20, v/v) and filtered (0.22 µm, PTFE). Phenolic acids, flavanols, and flavonols were quantified by analytical high performance liquid chromatography (HPLC) (Shimadzu Co., Kyoto, Japan) with a reversal phase column (ODS-A, 4.6 mm x 250 mm; 5 µm) and photodiode array detector (SPD-M10AVp, Shimadzu Co., Kyoto, Japan). Extract aliquots (20 µL) were injected at a flow rate of 1.0 mL/min at 28 °C. The mobile phase consisted of: phase A (water/formic acid; 99.9/0.1, v/v) and phase B (acetonitrile/formic acid; 99.9/0.1, v/v), starting with 5% B and increasing to 7% B (7 min), 20% B (50 min), 45% B (70 min), 100% B (85 min), held at 100% B for 10 min, and decreasing to 5% B (100 min). The following standards (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) were examined: gallic acid, syringic acid, procyanidin B1, procyanidin B2, catechin, epicatechin, epicatechin-3-O-gallate, and quercetin-3-beta-D-glucoside.

#### 2.8.5. Antioxidant capacity

The capacity to remove the ABTS<sup>•+</sup> radical (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) was evaluated according to Re et al. (1999). A sample extract (200 µL) was mixed with a 1.8 mL ABTS<sup>•+</sup> solution. After incubation (6 min/30°C), the absorbance was measured at 750 nm. The results were expressed as mmol Trolox equivalent (TE) per 100 g (DW). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) was performed according to Ou, Hampsch-Woodill, & Prior (2001). An extract sample (25 µL) was mixed with 150 µL of fluorescein solution (81nM) and incubated for 10 min at 37°C. Subsequently, 25 µL of AAPH solution (152 mM) was added and fluorescence reduction measured for 90 min at 485 nm excitation and 528 nm emission in a microplate reader (model AF2200, Eppendorf, Hamburg,



Germany). Trolox solutions were used for calibration and the results expressed as mmol TE per 100 g (DW).

### 2.9. Statistical analysis

All parameter measurements were conducted in triplicate. The data obtained for proximate composition of GP and FC-GP was analyzed by the Student's T test ( $P < 0.05$ ) and expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Two-way ANOVA was conducted for the other results obtained. Concentration and micronization were established as fixed factors. Means were compared by Tukey's test and expressed as mean  $\pm$  SEM. Differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## 3. Results and discussion

### 3.1. Proximate composition of GP and FC-GP

The proximate composition of GP and FC-GP are shown in Table 1. Ash content was higher in FC-GP than GP ( $P < 0.05$ ). Crude protein content was similar in both samples. The procedure of fiber concentration with successive washes with ethanol retained fat in the supernatant. Thus, fat content was lower in FC-GP than GP ( $P < 0.05$ ). Dietary fiber was the main constituent of GP and FC-GP. Studies have demonstrated that treating vegetable materials with ethanol produces ingredients concentrated in cell wall compounds (Benítez et al., 2017). In the present study, TDF content increased in FC-GP compared to GP, especially the insoluble fraction ( $P < 0.05$ ). The high IDF content may be considered an advantage for food application due to possible use as an ingredient to increase indigestible insoluble compound content (Martínez et al., 2012). On the other hand, Sheng et al. (2017) reported that the low SDF content of GP limits their use for food application due to the healthier benefits for human nutrition being related to SDF fraction. Thus, GP and FC-GP proved to be

interesting samples to apply micronization while aiming to convert insoluble into soluble fiber.

**Table 1** Proximate composition of GP and FC-GP.

Constituent (g/100 g DW)	GP	FC-GP
Ash	5.14 ± 0.00	5.36 ± 0.06*
Crude protein	14.17 ± 0.08	14.79 ± 0.24
Fat	8.50 ± 0.00*	5.76 ± 0.03
Total dietary fiber	65.56 ± 0.83	74.69 ± 1.05*
Insoluble dietary fiber	61.20 ± 0.64	72.03 ± 0.38*
Soluble dietary fiber	4.06 ± 1.31	4.35 ± 0.35

Values followed by \* in the same row are significant different by T test ( $P < 0.05$ ). GP = grape pomace; FC-GP = fiber concentrate from grape pomace; DW = dry weight. Results are expressed as mean ± standard error of the mean.

### 3.2. Experimental design for ball milling

The highest value of SDF content was found in a rotation at 450 rpm for 90 min ( $13.76 \pm 1.26$  g/100 g DW) for GP after milling (Table 2). For FC-GP after milling, the highest SDF content was observed in a rotation at 375 rpm for 60 min ( $14.46 \pm 2.74$  g/100 g DW). The model was not significant, presented a lack of fit, and no appropriate condition was obtained. Thus, the best micronization condition was estimated experimentally from the highest SDF response for each sample. For GP, the best micronization condition was at 450 rpm for 90 min, whereas for FC-GP it was at 375 rpm for 60 min. These conditions were selected to increase the SDF content of GP, and FC-GP and samples obtained were used for further analysis.

**Table 2** Experimental design and the results obtained for each ball-milling condition in GP and FC-GP.

Experiment	Variables		Response	
	Rotational speed (rpm) ( $X_1$ )	Milling time (min) ( $X_2$ )	SDF (g/100g DW)	
			After milling	
			GP	FC-GP
1	-1	-1	8.78	7.31
2	1	-1	10.92	13.40
3	-1	1	9.11	9.84
4	1	1	13.76	11.12
5	0	0	9.83	9.85
6	0	0	12.46	14.46
7	0	0	12.87	10.92
8	-1.414	0	7.56	8.62
9	1.414	0	9.79	9.52
10	0	-1.414	10.47	5.42
11	0	1.414	9.71	12.88

Responses are soluble dietary fiber content.  $X_1$  = 300, 375, 450 rpm;  $X_2$  = 30, 60, 90 min. GP = grape pomace; FC-GP = fiber concentrate from grape pomace; SDF = soluble dietary fiber; DW = dry weight.

### 3.3. Dietary fiber content

Concentration and micronization modified TDF content ( $P < 0.05$ ) (Table 3) despite there being no interaction between such factors. After milling, GP and FC-GP decreased in TDF content. In all conditions, SDF content increased while IDF content decreased ( $P < 0.05$ ). In order to comprehend component redistribution, the contents of cellulose, hemicellulose, and lignin (the main IDF compounds from agro-industrial by-products) were quantified. After milling, hemicellulose content increased and cellulose and lignin content decreased ( $P < 0.05$ ; Table 3). These results may be attributed to the fact that ball milling breaks intermolecular chemical interactions between lignin and hemicellulose, causing a redistribution of insoluble components to soluble. Additionally, the decreased content is caused by cellulose and lignin degradation, which are converted into small molecular compounds (Zhu et al., 2014). The reduced lignin, which is a complex polyphenolic

macromolecule, is associated to the release of phenolic compounds with lower molecular weight. Lignin was responsible for approximately 30% of the IDF portion, and the reduction may also be due to solubilization of low molecular weight lignin fragments, resulting in sugars that are soluble in water (Nunes, Pimentel, Costa, Alves, & Oliveira, 2016). Because of this, SDF content increased in all treatments ( $P < 0.05$ ). Furthermore, the reduced lignin content may be considered an advantage to human health, as this constituent shows low bioavailability due to its high molecular weight (Scalbert & Williamson, 2000). Thus, our results confirm that micronization causes the redistribution of fiber components from insoluble to soluble.

**Table 3** Influence of micronization on TDF, IDF and SDF, cellulose, hemicellulose and lignin content from GP and FC-GP.

	Sample	Micronization				
		Before milling	After milling			
TDF (g/100 g DW)	Grape pomace	65.56 ± 0.83	60.77 ± 0.21			
	Fiber concentrate	74.69 ± 1.05	67.43 ± 0.10			
IDF (g/100 g DW)	Grape pomace	61.20 ± 0.64 <sup>b,A</sup>	47.01 ± 0.93 <sup>b,B</sup>			
	Fiber concentrate	72.03 ± 0.38 <sup>a,A</sup>	52.97 ± 1.56 <sup>a,B</sup>			
SDF (g/100 g DW)	Grape pomace	4.06 ± 1.31	13.76 ± 0.73			
	Fiber concentrate	4.35 ± 0.35	14.46 ± 1.66			
Cellulose (g/100 g DW)	Grape pomace	9.15 ± 0.01	5.64 ± 0.54			
	Fiber concentrate	10.21 ± 0.78	8.51 ± 0.73			
Hemicellulose (g/100 g DW)	Grape pomace	22.45 ± 0.13	23.81 ± 0.89			
	Fiber concentrate	25.13 ± 0.69	28.96 ± 1.07			
Lignin (g/100 g DW)	Grape pomace	23.19 ± 0.13	13.31 ± 1.83			
	Fiber concentrate	28.23 ± 0.70	17.28 ± 0.50			
ANOVA (P value)						
<i>Effects</i>	TDF	IDF	SDF	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
Concentration	0.000	0.000	0.674	0.003	0.001	0.002
Micronization	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000
Concentration x Micronization	0.108	0.038	0.860	0.082	0.151	0.613

Lower case letters indicate differences between samples (grape pomace and fiber concentrate from grape pomace) and upper case letters indicate differences in the micronization process ( $P < 0.05$ ). TDF = total dietary fiber; IDF = insoluble dietary fiber; SDF, soluble dietary fiber; DW = dry weight. Results are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM).

### 3.4. Particle size distribution and SEM

The procedures of concentration and micronization were effective to reduce  $D_{50}$  ( $P < 0.05$ ), especially in GP (Table 4). The  $D_{50}$  represents the average median diameter that is related to the degree of powder cohesiveness. Differences in particle size distribution may be due to differences in dietary fiber composition since FC-GP showed higher IDF content than GP ( $P < 0.05$ ; Table 1). After milling, the average particle size reduced was  $9.06 \mu\text{m}$  for GP and  $11.01 \mu\text{m}$  for FC-GP, which belongs to the ultra-micron scale. Data obtained were lower than those results reported by Liu et al. (2016) ( $19.63 \mu\text{m}$ ) for orange peels. Ramachandraiah & Chin (2016) reported similar results in persimmon by-products using a longer milling time (12 h). The results indicated that shorter milling times (90 and 60 min for GP and FC-GP, respectively) used in the present study may effectively decrease the average particle size. This represents a reduction in production costs. The span represents the width of the particle size distribution (Liu, He, Wang, & Wang, 2018). Here, span values were lower than those found by Sheng et al. (2017) with 25 min of milling, which indicates better particle size distribution with longer milling times. Finer particles tend to have larger amounts of particles per unit of weight, revealing better potential to enhance homogeneity when mixed with other powders. Moreover, ingredients with reduced particle size easily reach the food structure due to higher dispersibility (Liu et al., 2016).

**Table 4** Effect of micronization on particle size distribution from GP and FC-GP.

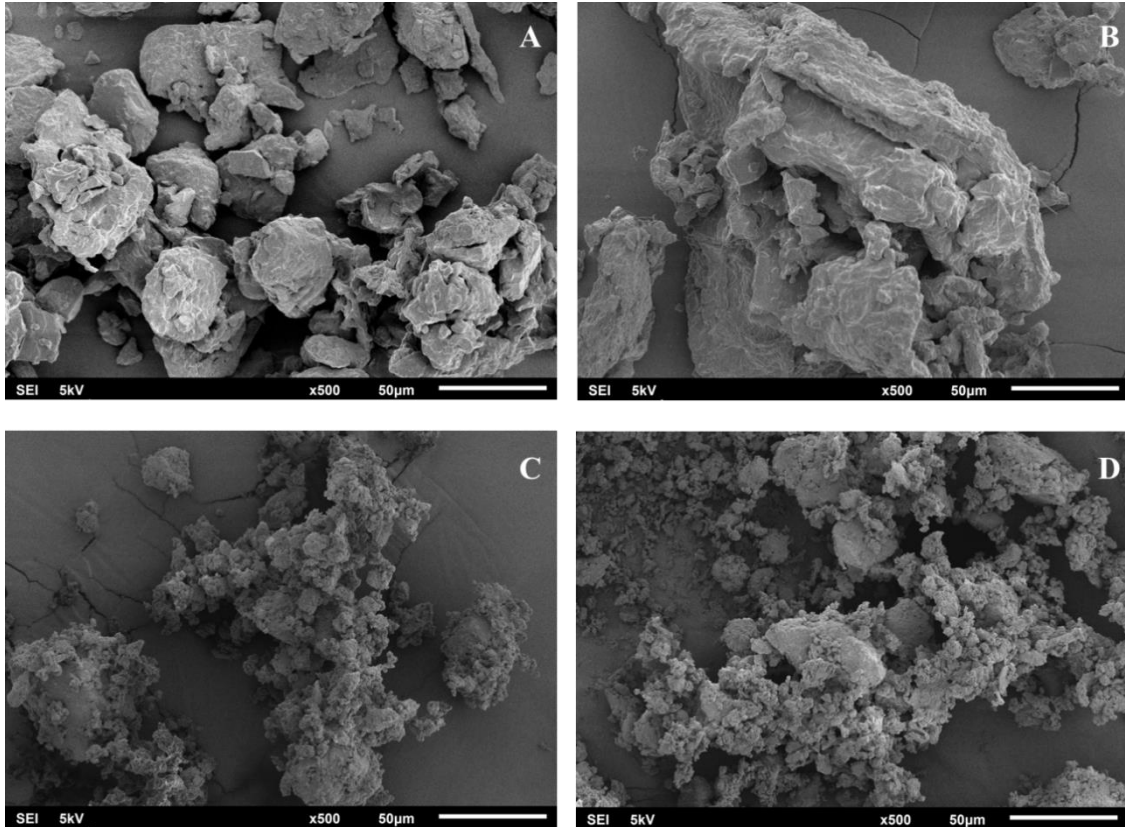
Characteristic parameter	Sample	Micronization	
		Before milling	After milling
$D_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	Grape pomace	$23.13 \pm 1.29^{\text{b,A}}$	$2.10 \pm 0.00^{\text{a,B}}$
	Fiber concentrate	$40.32 \pm 0.92^{\text{a,A}}$	$2.24 \pm 0.04^{\text{a,B}}$
$D_{50}$ ( $\mu\text{m}$ )	Grape pomace	$331.70 \pm 8.78^{\text{b,A}}$	$9.06 \pm 0.08^{\text{a,B}}$
	Fiber concentrate	$370.10 \pm 13.05^{\text{a,A}}$	$11.01 \pm 0.32^{\text{a,B}}$

Table 4 (continued)				
D <sub>90</sub> (μm)	Grape pomace	912.65 ± 27.51	31.62 ± 0.34	
	Fiber concentrate	905.00 ± 12.41	55.97 ± 3.98	
Span	Grape pomace	2.68 ± 0.01 <sup>a,B</sup>	3.26 ± 0.00 <sup>b,A</sup>	
	Fiber concentrate	2.34 ± 0.05 <sup>a,B</sup>	4.86 ± 0.21 <sup>a,A</sup>	
ANOVA (P value)				
<i>Effects</i>	D <sub>10</sub>	D <sub>50</sub>	D <sub>90</sub>	Span
Concentration	0.000	0.033	0.598	0.000
Micronization	0.000	0.000	0.000	0.000
Concentration x Micronization	0.000	0.004	0.324	0.000

Values followed by different lower case letters indicate differences between samples (grape pomace and fiber concentrate from grape pomace) and upper case letters indicate differences in the micronization process ( $P < 0.05$ ). D<sub>10</sub> = 10% of the volume that is smaller than the size indicated; D<sub>50</sub> = 50% of the volume that is smaller than the size indicated; D<sub>90</sub> = 90% of the volume that is smaller than the size indicated; Span = width of particle size ((D<sub>90</sub> - D<sub>10</sub>) / D<sub>50</sub>).

Results are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM).

The SEM micrographs showed different sample appearances before and after milling (Figure 1). Before milling, a compact structure was observed, especially in FC-GP (Fig.1 B), which was consistent with its dietary fiber composition (mainly cellulose and lignin) (Table 3). The mechanical force from the micronization process destroyed the macromolecular structure of GP, which became looser, with smaller particles (Fig.1 C and D). These characteristics were coherent with particle size distribution (Table 4) and increased SDF content observed in GP and FC-GP after milling (Table 3) may influence the physicochemical properties of samples.

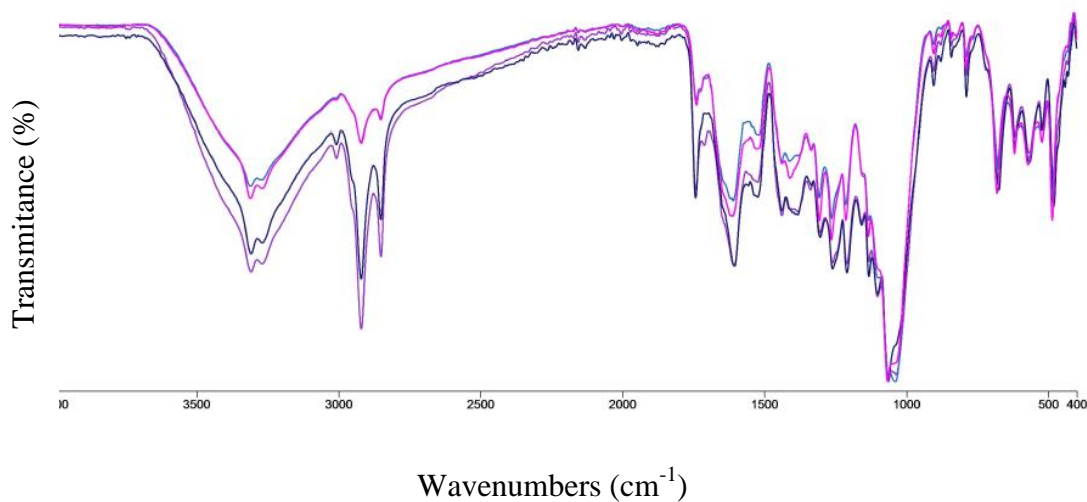


**Fig. 1** SEM images of GP and FC-GP before (A and B, respectively) and after (C and D, respectively) milling.

### 3.5. FT-IR spectra

Organic functional groups, especially O-H, N-H, and C=O are measured by FT-IR spectroscopy. In this context, FT-IR spectra were carried out in order to appreciate the effects of micronization on the chemical structure of GP and FC-GP. Typical absorption bands of polysaccharide and phenolic structures are shown in Figure 2. Stretching bands of O-H at 3313-3310/cm were assigned to vibrations of the hydroxyl group of the phenolic structure and polysaccharides, especially hemicellulose and cellulose. Moreover, C-H stretching bands at 2922/cm were attributed to a methylene group of polysaccharides. The strong band at 1741/cm corresponded to the carbonyl group (C=O) and indicated the presence of uronic acid. Stretching bands at 1611-1606 indicated the presence of benzene ring in lignin, which may be associated to phenolic structures. Any C-O-C stretching vibrations at 1154-1130 were

assigned to cellulose and hemicellulose, and any C-O stretching bands at 1037-1034/cm evidenced the presence of a pyranose ring. The spectral profile of GP and FC-GP before and after milling was similar and no new chemical groups were produced. On the other hand, few changes were observed in absorption bands and/or wave numbers. An increase in wave numbers was detected after micronization for GP and FC-GP at around 3320, 2922, 1611, and 1150/cm. These results are in agreement with the findings reported by Meng, Fan, Chen, Xiao, & Zhang (2018) and Zhao et al. (2015), which related the shifts to mechanical force during micronization. The force may break the intramolecular hydrogen bonds of cellulose and hemicellulose to form amorphous cellulose and soluble saccharides. Although no changes were observed in the functional groups after milling, there were cracks in the rigid and ordered polymer chain of cellulose and lignin content. Thus, the reduced cellulose and lignin content observed after milling was evidenced by FT-IR spectra.



**Fig. 2** FT-IR spectra of GP and FC-GP before (A – purple line and B – dark blue line, respectively) and after (C – blue line and D – pink line, respectively) milling.

### 3.6. Physicochemical properties

After milling, WHC, OBC, and CBC decreased ( $P < 0.05$ ) (Table 5). The reduction was related to destruction of the space three-dimensional structure of IDF for the action of



strong mechanical shearing. Zhu, Du, Li, & Li (2014), Huang, Dou, Li, & Wang (2018), and Hussain et al. (2018) reported higher WHC and OBC after milling. The authors attributed the result to higher rotational speeds and milling times used. Ye, Tao, Bui, Zou, & Zhao (2016) found increased CBC in the IDF of citrus pomace.

**Table 5** Effect of micronization on physicochemical properties from GP and FC-GP.

Sample		Micronization	
		Before milling	After milling
WHC (g/g DW)	Grape pomace	2.17 ± 0.01 <sup>b,B</sup>	2.32 ± 0.04 <sup>b,A</sup>
	Fiber concentrate	2.56 ± 0.03 <sup>a,A</sup>	2.56 ± 0.01 <sup>a,A</sup>
OBC (g/g DW)	Grape pomace	1.42 ± 0.00 <sup>b,A</sup>	1.20 ± 0.00 <sup>a,B</sup>
	Fiber concentrate	1.60 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	1.22 ± 0.00 <sup>a,B</sup>
CBC (mg/g DW)	Grape pomace	9.18 ± 0.03 <sup>b,A</sup>	7.16 ± 0.01 <sup>a,B</sup>
	Fiber concentrate	9.81 ± 0.02 <sup>a,A</sup>	6.94 ± 0.01 <sup>b,B</sup>
SC (mL/g DW)	Grape pomace	0.80 ± 0.15	0.54 ± 0.00
	Fiber concentrate	0.54 ± 0.00	0.54 ± 0.00
Solubility (g/100 g DW)	Grape pomace	20.43 ± 0.95 <sup>a,B</sup>	28.46 ± 0.99 <sup>a,A</sup>
	Fiber concentrate	13.92 ± 0.35 <sup>b,B</sup>	17.30 ± 0.24 <sup>b,A</sup>
pH	Grape pomace	3.34 ± 0.03	3.31 ± 0.00
	Fiber concentrate	3.49 ± 0.01	3.40 ± 0.00

ANOVA (P value)						
Effects	WHC	OBC	CBC	SC	Solubility	pH
Concentration	0.000	0.000	0.000	0.127	0.000	0.000
Micronization	0.027	0.000	0.000	0.136	0.000	0.005
Concentration x Micronization	0.027	0.000	0.000	0.127	0.012	0.085

Lower case letters indicate differences between samples (grape pomace and fiber concentrate from grape pomace) and upper case letters indicate differences in the micronization process ( $P < 0.05$ ). WHC = water holding capacity; OBC = oil binding capacity; CBC = cation binding capacity; SC = swelling capacity; DW = dry weight.

Results are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM).

Concentration and micronization did not affect swelling capacity ( $P > 0.05$ ), although changes in particle size distribution were observed (Table 4). Ye et al. (2016) mentioned that modifications in the physicochemical properties may be influenced by proximate composition, overall density, surface area, and hydrophobic nature.

Micronization improved powder solubility ( $P < 0.05$ ) due to particle size reduction, increased surface area, and high solubilization of cell wall substances and protein (Hussain et al., 2018). Micronization decreased pH value ( $P < 0.05$ ) in all samples, which was also reported by Ramachandraiah & Chin (2016) after 12 and 24 h of milling. The authors attributed this result to increasing the release of acidic constituents caused by rupture of the cell wall matrix.

### *3.7. Phenolic compounds and antioxidant capacity*

Six phenolic compounds were identified in the present study: gallic and syringic acids, procyanidin B2, catechin, epicatechin, and epicatechin gallate (Table 6). The quantified phenolic compound levels were lower than the ones reported by Antonioli, Fontana, Piccoli, & Bottini (2015) in grape pomace of the cv. Malbec cultivated in Argentina. These differences are possibly related to genetic factors, environmental conditions, degree of plant maturation, harvest time, and winemaking procedures (Peixoto et al., 2018; Antonioli et al., 2015). Significant interaction effects between concentration and micronization on the content of all phenolic compounds quantified were observed ( $P < 0.05$ ). Micronization improved compound extractability, especially for the flavanol group. Catechin and epicatechin were the main phenolic compounds present in GP and FC-GP after milling. Furthermore, the presence of epicatechin gallate in GP and FC-GP after milling should be highlighted, as this compound has shown antibacterial activity (Peixoto et al., 2018). The pronounced improvement may be supported by reduced lignin content ( $P < 0.05$ ; Table 3) caused by the breakdown of lignin

structures. Lignin has an aromatic ring and is synthesized by the same route of flavonoids. The results obtained in here demonstrate that the disruption may release or expose some phenolic compounds linked or embedded in the matrix structure (Zhu, Du, & Li, 2012), which were better extracted. Approximately 30% of increased total phenolic content after milling (Table 6) was noted as a result of the consequent decrease in lignin content. The highest content for phenolic compounds ( $P < 0.05$ ) was found in GP due to procedure of fiber concentration with ethanol to separate the phenolic compounds to supernatant. Notably, Liu et al. (2018) found increased total phenolic content in Tartary buckwheat flour, while Ramachandriah & Chin (2016) in persimmon by-products after 24 h of milling. In the present study, we found an increase with lower milling times.

Decreased total monomeric anthocyanin content after milling was noted for GP and FC-GP ( $P < 0.05$ ). The same results were reported by Sheng et al. (2017), who evaluated the effect of superfine grinding on individual anthocyanin content. Monomeric anthocyanins are extremely unstable and the stability is influenced by many factors, including pH, temperature, and metallic ions. Thus, the reduction may be attributed to thermal degradation that occurs by heat generated by the friction of ball milling.

**Table 6** Influence of micronization on phenolic profile, total phenolic content and total monomeric anthocyanin content from GP and FC-GP.

	Sample	Micronization		LOD ( $\mu\text{g}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}$ )	Linearity ( $R^2$ )
		Before milling	After milling			
<i>Hydroxybenzoic acid</i>						
Gallic acid ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace	$0.22 \pm 0.00^{\text{a,B}}$	$0.91 \pm 0.03^{\text{a,A}}$	0.00522	0.0158	0.997
	Fiber concentrate	$0.26 \pm 0.04^{\text{a,B}}$	$0.61 \pm 0.09^{\text{b,A}}$			
Syringic acid ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace	$0.24 \pm 0.01$	$0.28 \pm 0.02$	0.000743	0.00225	0.998
	Fiber concentrate	$0.21 \pm 0.03$	$0.20 \pm 0.02$			
<i>Proanthocyanidin</i>						
Procyanidin B1 ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace	ND	ND			
	Fiber concentrate	ND	ND			

Procyanidin B2 ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace Fiber concentrate	$0.34 \pm 0.02$ ND	$0.34 \pm 0.01$ ND		0.00592	0.0179	0.999
<i>Flavan-3-ol</i> Catechin ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace Fiber concentrate	$0.87 \pm 0.03^{\text{a,B}}$ $0.86 \pm 0.32^{\text{a,B}}$	$4.80 \pm 0.09^{\text{b,A}}$ $7.74 \pm 0.26^{\text{a,A}}$		0.0088	0.0267	0.999
Epicatechin ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace Fiber concentrate	$0.61 \pm 0.03^{\text{a,B}}$ $0.60 \pm 0.09^{\text{a,B}}$	$2.18 \pm 0.02^{\text{b,A}}$ $3.60 \pm 0.10^{\text{a,A}}$		0.00867	0.0263	0.999
Epicatechin gallate ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace Fiber concentrate	$0.00^{\text{a,B}}$ $0.00^{\text{a,B}}$	$0.15 \pm 0.01^{\text{b,A}}$ $0.22 \pm 0.00^{\text{a,A}}$		0.00322	0.00977	0.999
<i>Flavonol</i> Quercetin- $3\beta$ -D- glucoside ( $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ )	Grape pomace Fiber concentrate	ND ND	ND ND				
TPC (mg GAE/100 g DW)	Grape pomace Fiber concentrate	$5131.88 \pm 6.12^{\text{a,B}}$ $3052.98 \pm 30.69^{\text{b,B}}$	$7519.13 \pm 6.49^{\text{a,A}}$ $5093.99 \pm 43.67^{\text{b,A}}$				
TMA (mg eq malvidin- 3-glucosyde/ 100 g DW)	Grape pomace Fiber concentrate	$569.38 \pm 2.19$ $251.31 \pm 8.17$	$543.28 \pm 9.44$ $196.61 \pm 1.12$				

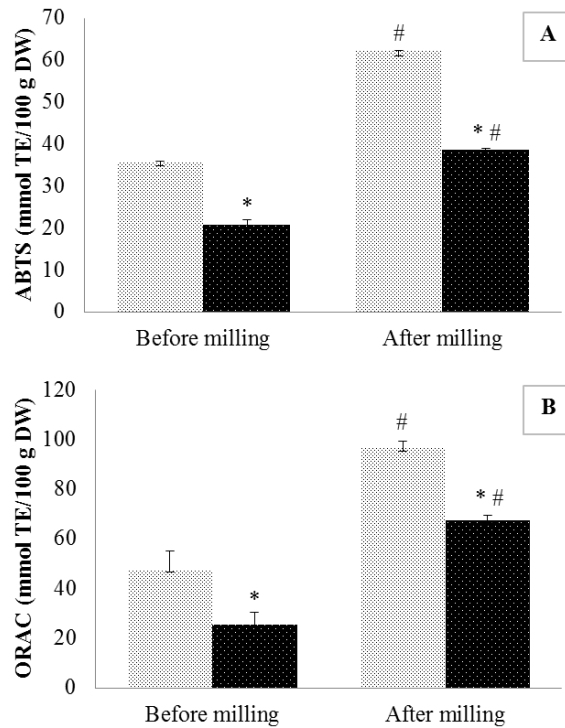
## ANOVA (P value)

Effects	Gallic acid	Syringic acid	Procyanidin B2	Catechin	Epicatechin	Epicatechin gallate	TPC	TMA
Concentration	0.034	0.041	0.000	0.000	0.003	0.003	0.000	0.000
Micronization	0.000	0.599	0.899	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Concentration x Micronization	0.008	0.275	0.899	0.000	0.000	0.003	0.000	0.055

Lower case letters indicate differences between samples (grape pomace and fiber concentrate from grape pomace) and upper case letters indicate differences in the micronization process ( $P < 0.05$ ). 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. Results are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).

The antioxidant capacity of GP and FC-GP increased after milling ( $P < 0.05$ ) (Figure 3). This is in agreement with higher total phenolic content observed in micronized samples. In addition, phenolic compounds are known as antioxidant agent (Peixoto et al., 2018). The GP had greater antioxidant capacity than FC-GP in the ABTS assay ( $P < 0.05$ ; Figure 1B). Moreover, micronization increased ABTS radical scavenging activity of GP and FC-GP ( $P < 0.05$ ; Figure 1B). The highest antioxidant capacity by the ABTS method can be correlated to the highest total phenolic content (Ferri et al., 2016), indicating that a release of complex compounds occurs in the food matrix, therefore contributing to increased antioxidant capacity.

In the same way, a powder with the lowest particle size presented the highest antioxidant capacity for red grape pomace powders (Zhao et al., 2015) and rice bran IDF powder (Zhao et al., 2018).



**Fig. 3** Antioxidant capacity of GP and FC-GP before (light color) and after (dark color) milling. Results are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean. \*Different from respective sample in the same milling ( $P < 0.05$ ); #Different from the respective sample after milling ( $P < 0.05$ ). TE = trolox equivalent; DW = dry weight.

In most studies that report micronization, the ORAC assay was not performed, although this measurement is important because it assesses the ability to remove peroxy radicals, which are generated in biologically relevant oxidative processes (Ou et al., 2011). Following the same trend as that of total phenolic content and ABTS assays, micronization increased ORAC values in GP and FC-GP ( $P < 0.05$ ; Figure 1C). Higher total phenolic content in grape processing by-products from winemaking have been associated to higher peroxy radical scavenging activity and higher reduction in the activation of NF- $\kappa$ B, a

mediator of inflammatory responses (Camargo et al., 2019). Thus, micronization has been demonstrated as an important method to improve the antioxidant capacity and may have promising health effects (Speroni et al., 2019).

#### **4. Conclusion**

Micronization was effective to reduce the particle size of powders and increase SDF content. Moreover, there was increased total phenolic content after micronization. The increases were more pronounced in GP in all analyses carried out, indicating that it is not necessary to perform the fiber concentration. Further research may be conducted on the relationship with the monosaccharide profile of powders obtained after micronization. In general, the results obtained indicate that micronization modifies the dietary fiber composition of GP, increasing possibilities for use as a functional ingredient in the food industry.

#### **Conflicts of 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) – Finance Code 001*. The authors thank the Vinícola Velho Amâncio for donating the grape pomace.

#### **References**

Antoniolli, A., Fontana, A. A., Picolli, P., & Bottini, R. (2015). Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*, 178, 172-178.

- Ain, H. B. U, Saeed, F., Ahmed, A., Khan, M. A., Niaz, B., & Tufail, T. (2019). Improving the physicochemical properties of partially enhanced soluble dietary fiber through innovative techniques: A coherent review. *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*, 1-12.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists (1995). *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. 16th. ed., Washington:1080p.
- Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Salvador, P. R., Loureiro, B. B., Lovatto, N. M., Goulart, F. R., et al. (2017). Grape pomace skins and the effects of its inclusion in the technological properties of muffins. *Journal of Culinary Science & Technology*, *15*, 143-157.
- Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., & Esteban, R. M. (2017). Physicochemical properties and *in vitro* antidiabetic potential of fibre concentrate from onion by-products. *Journal of Functional Foods*, *36*, 34-42.
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*, *37*, 911-917.
- Camargo, A. C., 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- $\kappa$ B using phenolic compounds from grape by-products. *Food Chemistry*, *290*, 229-238.
- Chau, C. F., Wang, Y. T., & Wen, Y. L. (2007). Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chemistry*, *100*, 1402–1408.
- Du, B., Zhu, F., & Xu, B. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of dietary fibers from Qingke (hull-less barley) flour as affected by ultrafine grinding. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *4*, 170-175.
- Dwyer, K., Hosseinian, F., & Rod, M. (2014). The market potential of grape waste alternatives. *Journal of Food Research*, *3*, 91–106.

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*, 338-344.

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*, 8987–9003.

Goering, H. K. & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA, 1970.

Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001.

He, S., Qin, Y., Wallid, E., Li, L., Cui, J., & Ma, Y. (2014). Effect of ball-milling on the physicochemical properties of maize starch. *Biotechnology Reports*, *3*, 54-59.

Huang, X., Dou, J.-Y., Li, D., & Wang, L.-J. (2018). Effects of superfine grinding on properties of sugar beet pulp powder. *LWT – Food Science and Technology*, *87*, 203-209.

Hussain, S., Li, J., Jin, W., Yan, S., & Wang, Q. (2018). Effect of micronisation on dietary fibre content and hydration properties of lotus node powder fractions. *International Journal of Food Science and Technology*, *53*, 590-598.

León-González, A. J., Jara-Palacios, M. J., Abbas, M., Heredia, F. J., & Schini-Kerth, V. B. (2017). Role of epigenetic regulation on the induction of apoptosis in Jurkat leukemia cells by white grape pomace rich in phenolic compounds. *Food & Function*, *8*, 4062-4069.

Liu, Y., Wang, L., Liu, F., & Pan, S. (2016). Effect of grinding methods on structural, physicochemical, and functional properties of insoluble dietary fiber from orange peel. *International Journal of Polymer Science*, 2016, 2-7.



- Liu, F., He, C., Wang, L., & Wang, Mi. (2018). Effect of milling method on the chemical composition and antioxidant capacity of Tartary buckwheat flour. *International Journal of Food Science and Technology*, *53*, 2457-2464.
- Macagnan, F. T., Silva, L. P., & Hecktheuer, L. H. (2016). Dietary fibre: the scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, *85*, 144-154.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Matos, M. (2012). Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, *135*, 1520-1526.
- McBurney, M. I., Van Soest, P. J., & Chase, L. E. (1983). Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *34*, 910-916.
- Melo, P. S., Massarioli, A. P., Denny, C., Santos, L. F., Franchin, M., Pereira, G. E., et al. (2015). Winery by-products: extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to acts as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry*, *181*, 160-169.
- Meng, Q., Fan, H., Chen, F., Xiao, T., & Zhang, L. (2018). Preparation and characterization of *Dendrobium officinale* powders through superfine grinding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*, 1906-1913.
- Nunes, M. A., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Olive by-products for functional and food applications: challenging opportunities to face environmental constraints. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *35*, 139-148.

- 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*, 4619–4626.
- Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., Calhela, R. C., Barros, L., Pinho, S. P., et al. (2018). Grape pomace as source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, *253*, 132-138.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., et al. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, *41*, 274–285.
- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, *26*, 118-129.
- Raghavendra, S. N., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., & Tharanathan, R. N. (2004). Dietary fibre from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *European Food Research*, *218*, 563-567.
- Ramachandraiah, K. & Chin, K. B. (2016). Evaluation of ball-milling time on the physicochemical and antioxidant properties of persimmon by-products powder. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *37*, 115-124.
- 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 & Medicine*, *26*, 1231-1237.
- Scalbert, A. & Williamsom, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, *130*, 2073S-2085S.

- 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*, 2106-2114.
- Speroni, C. S., Stiebe, J., Guerra, D. R., Bender, A. B. B., Ballus, C. A., Santos, D. R., et al. (2019). Micronization and granulometric fractionation improve polyphenol content and antioxidante capacity of olive pomace. *Industrial Crops and Products*, *137*, 347-355.
- Waterhouse, A. L. (2003). Determination of total phenolics. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, R. E. Wrolstad, Ed., units I, pp. I1.1.1–I1.1.8, John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 2003.
- Yan, L., Li, T., Liu, C., & Zheng, L. (2019). Effects of high hydrostatic pressure and superfine grinding treatment on physicochemical/ functional properties of pear pomace and chemical composition of tis soluble dietary fibre. *LWT – Food Science and Technology*, *107*, 171-177.
- Ye, F., Tao, B., Liu, J., Zou, Y., & Zhao, G. (2016). Effect of micronization on the physicochemical properties of insoluble dietary fiber from citrus (*Citrus junos* Sieb ex. Tanaka) pomace. *Food Science and Technology International*, *22*, 246-255.
- Zhang, M., Wang, F., Liu, R., Tang, X., Zhang, Q., & Zhang, Z. (2016). Effects of superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides. *LWT – Food Science and Technology*, *58*, 594-601.
- Zhao, G., Zhang, R., Dong, L., Huang, F., Tang, X., Wei, Z., et al. (2018). Particle size of insoluble dietary fiber from rice bran affects its phenolic profile, bioaccessibility and functional properties. *LWT – Food Science and Technology*, *87*, 450-456.

Zhao, X., Zhu, H., Zhang, G., & Tang, W. (2015). Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders. *Powder Technology*, 286, 838-844.

Zhu, F.-M., Du, B., & Li, J. (2012). Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace. *Food Science and Technology International*, 20, 55-62.

Zhu, F., Du, B., Li, R., & Li, J. (2014). Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3, 30-34.

4.3 MANUSCRITO 1 - EXTRUDED PRODUCTS FROM SWEET POTATO FLOUR  
FORTIFIED WITH MICRONIZED GRAPE POMACE: EFFECTS ON  
PHYSICOCHEMICAL, SENSORY AND FUNCTIONAL PROPERTIES

**Manuscrito configurado nas normas do periódico Food Bioscience**

**Extruded products from sweet potato flour fortified with micronized grape pomace:  
effects on physicochemical, sensory and functional properties**

**Extruded products from sweet potato flour with micronized grape pomace**

Ana Betine Beutinger Bender<sup>1\*</sup>, Karine Inês Bolson Moro<sup>1</sup>, Marina Osmari Dalcin<sup>2</sup>, Caroline Sefrin Speroni<sup>1</sup>, Bruno Bianchi Loureiro<sup>2</sup>, Fernando Dal Pont Morisso<sup>3</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>2</sup>, Neidi Garcia Penna<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>*Institute of Health Sciences, Feevale University, Vila Nova, 93510-330, Novo Hamburgo, RS, Brazil*

**\*Corresponding author:**

Ana Betine Beutinger Bender

Postal address: Roraima Avenue, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

E-mail address: betinebender@hotmail.com

Tel.: +55 55 3220 8365

**Abstract**

In this study, extruded products from sweet potato flour were prepared through the addition of grape pomace and micronized grape pomace. Physicochemical, technological, and sensory characteristics, including phenolic and anthocyanin contents, antioxidant capacity, and *in vitro* starch digestibility were evaluated. Addition of the by-products influenced expansion ratio, bulk density, and water absorption and solubility indexes. Regarding the proximate composition, total, insoluble and soluble dietary fiber contents increased in fortified formulations. Fortification with the grape pomace and micronized grape pomace increased the total phenolic content, total monomeric anthocyanin and, consequently, the antioxidant capacity measured by ABTS and ORAC methods. The color and flavor attributes had the highest scores at the sensory analysis. *In vitro* starch digestibility showed an increase in resistant starch fraction with addition of grape pomace and micronized grape pomace. Furthermore, glycemic index decreased in these formulations. The results showed that the extruded products from sweet potato flour and fortified with grape pomace and micronized grape pomace could be considered as healthy food. Moreover, the use of the winemaking by-product represents value addition to an underused product.

*Keywords:* ball milling, extrusion, *Ipomea batatas*, starch digestibility, winemaking by-product.

## 1. Introduction

Brazil is the third largest South American wine producer (about 400 million liters of wine per year) (OIV, 2019). In winemaking process, by-products, mainly grape pomace (GP), are generated at considerable amounts (about 25 kg arise from production of 100 L of red wine) after crushing and pressing steps (Prozil et al., 2012). Low quantities (about 3%) are valorized and used in animal nutrition (Brenes et al., 2016) and the most are incorrectly disposed on the environment. Due to its low pH, there is a resistance to biological degradation (Beres et al., 2017). Studies have reported the potential of grape pomace for food application and different techniques have been proposed for reusing it as a flour (Beres et al., 2019; Peixoto et al., 2018; Theagarajan et al., 2019). Micronization has been proposed as a way for valorizing grape pomace due to improvement in technological and functional properties of dietary fiber, and maintenance of antioxidant components (Sheng et al., 2017; Bender et al., 2020). Ball-milling is applied for reducing the particle size and, consequently, an improvement in phenolic compounds extractability is observed (Bender et al., 2020). Moreover, the friction of the molecules contributes to the redistribution of fiber components from the insoluble to the soluble fraction (Yan et al., 2019).

Grape pomace is a good source of dietary fiber and phenolic compounds (Beres et al., 2019), important components for human nutrition due to its benefits for reducing blood glucose and cholesterol levels and maintaining intestinal health (Macagnan et al., 2016). Moreover, the dietary fiber and fiber-bound polyphenols from grape peel have been recently demonstrated to improve the function of intestinal barrier (Maurer et al., 2019) and recover the activity of GSH-related antioxidant enzymes, contributing to the maintenance of colonic redox balance in a rat model of ulcerative colitis (Maurer et al., 2020). Due to its composition, can be an alternative for including in practical food products, which are easily consumed, such as snacks. Snacks can be obtained from the thermoplastic extrusion of starchy ingredients



(Bender et al., 2016). Extrusion involves high temperature and pressure, and constant shearing for a short time (Cuj-Laines et al., 2018). These parameters contribute for the expansion and the technological and sensory characteristics of the extruded products (Selani et al., 2014). In general, the extruded products are based on corn meal (Cuj-Laines et al., 2018) and have low amounts of dietary fiber and phenolic compounds. Aiming to improve the formulation, some flours have been tested in extruded products, such as sorghum and roasted coffee (Chávez et al., 2017), tomatoes (Dehghan-Shoar et al., 2010), and pineapple (Selani et al., 2014). Sweet potato has been included in food products due to its low glycemic index, which contributes for slowing release of glucose (Wang et al., 2016). However, as flour, it has an insignificant amount of dietary fiber and phenolic compounds. Thus, the addition of ingredients rich in these components in formulation based on sweet potato flour can be a good option for nutritional improvement. Sweet potato has been recently added in bread (Zhu & Sun, 2019) and brownies (Selvakumaran et al., 2019) but its use in extruded products has been scarcely studied. In food products, it is important to evaluate the effects of using different ingredients as well as technological and sensory parameters.

In this context, the present study aimed to evaluate the incorporation of grape pomace and micronized grape pomace (MGP) in extruded products from sweet potato flour on the physicochemical, technological, and sensory characteristics, including phenolic and anthocyanin contents, antioxidant capacity, and *in vitro* starch digestibility. Previously, Waramboi et al. (2014) and Wang et al. (2019) reported the use of sweet potato flour and the addition of grape pomace in extruded products, respectively. However, for our knowledge, there is no information regarding the influence of adding grape pomace and, mainly micronized grape pomace, in these products. Thus, this study will contribute to understand the effects of inclusion of by-products in extruded products from sweet potato flour.

## 2. Material and methods

### 2.1 Materials

The grape pomace, from Malbec (*Vitis vinifera* L.) winemaking process, was obtained after crushing by a winery industry (Itaara, RS, Brazil). Immediately, it was dried in a forced-air-drying oven at 50 °C/24 h, milled, and sieved through a mesh (0.59 mm). The proximate composition was: ash  $5.7 \pm 0.2\%$ ; fat  $8.4 \pm 0.1\%$ ; protein  $12.9 \pm 0.3\%$ ; total dietary fiber  $71.7 \pm 0.1\%$  ( $67.7 \pm 0.3\%$  insoluble dietary fiber and  $4.0 \pm 0.2\%$  soluble dietary fiber).

The micronized grape pomace was obtained after micronization using a high planetary ball mill (model PM100, Retsch Co., Haan, Germany). Six 30 mm stainless steel balls were added into a stainless steel container (250 mL) containing 15 g of sample. The micronization was performed at 450 rpm for 90 min. The condition was established with a factorial design (Bender et al., 2020). The proximate composition was: ash  $5.5 \pm 0.7\%$ ; fat  $9.7 \pm 0.0\%$ ; protein  $13.1 \pm 0.2\%$ ; total dietary fiber  $60.2 \pm 0.1\%$  ( $47.9 \pm 1.2\%$  insoluble dietary fiber and  $12.2 \pm 1.3\%$  soluble dietary fiber).

Sweet potato flour (*Ipomea batatas*) was purchased from a food industry (Panambi, RS, Brazil). The proximate composition was: ash  $3.2 \pm 0.0\%$ ; fat  $1.04 \pm 0.1\%$ ; protein  $5.0 \pm 0.1\%$ ; total dietary fiber  $12.4 \pm 0.1\%$ ; ( $6.6 \pm 0.1\%$  insoluble dietary fiber and  $5.7 \pm 0.0\%$  soluble dietary fiber).

### 2.2 Extrusion Process

The sweet potato flour was extruded using a single-screw extruder (model Labor PQ30, INBRAMAQ, Ribeirão Preto, SP, Brazil), with a 4.22 mm die diameter, rotational speed of 150 rpm, and feed rate of 170 g/min. After preliminary tests, the amount of GP or MGP added corresponds to 6 g of fiber per 100 g extruded product, i.e., the products could be classified as “high in fiber” (European Commission, 2006). Then, 6.25% of GP and 6.25% of MGP was

added replacing sweet potato flour. The extrusion process was performed with the addition of 15% moisture and with barrel temperatures of 40, 80 and 120 °C. After extrusion, the products were dried in a forced-air-drying oven at 50 °C/2 h.

### *2.3 Technological properties*

#### 2.3.1 Expansion ratio

The expansion ratio was determined with a digital caliper and it was calculated dividing the central extruded diameter between the matrix diameter (Alvarez-Martinez et al., 1988). The results were expressed as mm.

#### 2.3.2 Bulk density

The bulk density was determined as described by Alvarez-Martinez et al. (1988) as following:

$$\text{Bulk density} = 4m/\pi D^2 L$$

Where m is the weight of the extruded product, D is the diameter of the extruded product in mm, and L is the length in mm. The results were expressed as g/cm<sup>3</sup>.

#### 2.3.3 Water absorption index and water solubility index

The water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) were obtained according Anderson et al. (1969). Previously, the samples were milled and the particle size was standardized (0.42mm). For the WAI, the sample (2.5 g) was mixed with distilled water (30 mL) for 30 min. After centrifugation using an Eppendorf centrifuge (model 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany) (3,000 x g/10 min), the supernatant was, carefully, transferred in to a porcelain crucible. Then, it was dried (105 °C/ 12 h) for obtaining the weight of evaporation residue. The remaining material, corresponding to the centrifugation residue, was also weighted. The WAI was calculated as following:

$$\text{WAI} = \frac{\text{weight of centrifugation residue}}{\text{original weight of sample}} - \text{weight of evaporation residue}$$

The WSI was calculated as the percentage ratio between the weight of evaporation residue and the original weight of sample.

#### 2.3.4 Proximate composition and mineral content

The samples were evaluated for dry matter (DM), ash, crude protein (N x 6.25), total dietary fiber (TDF), soluble dietary fiber (SDF), and insoluble dietary fiber (IDF) according to AOAC (1995, p. 1080) methods. Fat was measured according to the Bligh and Dyer (1959) method. Total starch was analyzed as described by AOAC 996.11 (AOAC, 1995) method with modifications proposed by Walter et al. (2005).

The mineral content was determined using the methodology proposed by Malavolta et al. (1987). Nitro-perchloric digestion was carried out to determine levels of potassium, magnesium, calcium, manganese, iron, zinc, copper, phosphorus, and sulphur. Boron was estimated after incineration.

#### 2.3.5 Color analysis

The color was measured using a CIE CM-700d colorimeter (Konica Minolta, Osaka, Japan) using the parameters L \*, a \* and b \* (CIELAB scale). The analysis was carried out with illuminant D65 and 10° observation angle. Six readings were taken at different points in the sample, which was previously milled and standardized for particle size (0.42 mm), as described by Selani et al. (2014).

#### 2.3.6 Texture profile analysis

Hardness was measured with a TAXTPlus texture analyzer (Stable Microsystems, Ltd, Godalming, UK) according Bender et al. (2016). A HDP-BS probe was used at pre-test speed 1.5 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 10.0 mm/s, and distance 10 mm. The trigger force was set at 0.049 N. The measurements were carried out in 10 replicates and the results were expressed as Newton (N).

### 2.3.7 Scanning electron microscopy

Morphological analyses were performed using a scanning electron microscope (model JSM-6510LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) and operated at 10 kV. The samples were metallized with a thin layer of gold and SEM images were collected at 50 x magnifications.

### 2.4 *Total phenolic content, total anthocyanin content, and antioxidant capacity of extruded products*

Phenolic compound extraction was performed according to Pérez-Jiménez et al. (2008). The sample (0.5 g) was extracted with a methanol/water solution (50/50, v/v, pH 2.0) (20 mL). After agitation (1 h) and centrifugation using an Eppendorf centrifuge (model 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany) (3,000 x g/10 min), the supernatant was collected and an acetone/water solution (70/30, v/v) (20 mL) added to the residue. After agitation (1 h) and centrifugation (3,000 x g/ 10 min) (model 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany), the supernatant was collected, mixed with the methanolic extract, and used to evaluate the phenolic compounds and antioxidant capacity.

Total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method (Singleton & Rossi, 1965), with slight modifications. The sample extract (20 µL) was mixed with 100 µL of Folin-Ciocalteu solution (1N) and 80 µL sodium carbonate solution (7.5%). After standing at room temperature for 2 h, the total phenolic content was performed in a micro plate reader (model AF2200, Eppendorf, Hamburg, Germany) at 765 nm. The results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per 100 g (DM).

Total monomeric anthocyanin was evaluated according to the pH differential method (Giusti & Wrolstad, 2001). The sample extract was diluted in a 0.025 M potassium chloride solution (pH 1.0) and 0.4 M sodium acetate buffer (pH 4.5). The absorbance was measured at 515 and 700 nm after 15 min. Then, total monomeric anthocyanin content was calculated using the

molecular weight (493.5) and molar extinction coefficient of malvidin-3-glucoside (29,500).

The results were expressed as mg of malvidin-3-glucoside equivalents per 100 g (DM).

The scavenging activity of ABTS<sup>•+</sup> radical (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) was evaluated according to Re et al. (1999), with slight modifications. Initially, 270 µL of the ABTS solution was added to a micro plate and the reading was performed at 750 nm in a micro plate reader (model AF2200, Eppendorf, Hamburg, Germany). After, 30 µL of sample was mixed and the absorbance was monitored at 750 nm for 15 min. The results were expressed as mmol Trolox equivalent (TE) per 100 g (DM). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) was performed according to Ou et al. (2001). An extract sample (25 µL) was mixed with 150 µL of fluorescein solution (81nM) and incubated for 10 min at 37 °C. Subsequently, 25 µL of AAPH solution (152 mM) was added and fluorescence reduction measured for 90 min at 485 nm excitation and 528 nm emission in a micro plate reader (model AF2200, Eppendorf, Hamburg, Germany). Trolox solutions were used for calibration and the results expressed as mmol TE per 100 g (DM).

### *2.5 In vitro starch digestibility*

Available starch and resistant starch were analyzed according to AOAC 996.11 method (AOAC, 1995) with modifications proposed by Walter et al. (2005). The hydrolysis index was estimated as described by Simonato et al. (2019) with slight modifications. The sample (0.1 g) was incubated in a glass vial adding 4 mL of sodium phosphate (pH 6.0) containing pancreatic  $\alpha$ -amylase (0.04 g) and amyloglucosidase (4 µL). The reaction was conducted using a shaking water bath at 37 °C for 0, 30, 60, 120 and 180 min and stopped by the addition of absolute ethanol. After centrifugation (3,500 x g/10 min/8 °C) (model 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany), the supernatant was collected and glucose was measured spectrophotometrically with glucose oxidase/peroxidase reagent (Glucose Liquiform, Labtest

Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brazil) at 505 nm. The hydrolysis index was calculated as the percentage ratio between the area under the hydrolysis curve of each sample and the corresponding area of a reference food, white bread. The predicted glycemic index (pGI) was considered according to Goñi et al. (1997):

$$\text{pGI} = 39.71 + 0.549\text{HI}$$

### *2.6 Microbiological analysis and water activity of extruded products*

According to RDC no. 12 of the National Health Surveillance Agency (ANVISA), the mandatory microbiological analyzes for the evaluation of manufacturing conditions of ready-to-eat products (snacks and similar) include the amount of coliforms at 45 °C and *Salmonella* spp. (ANVISA, 2001). These analyzes was carried out according to Downes and Ito (2001) and ISO 6579 (2002), respectively. Furthermore, the amount of mold and yeast was estimated according to Downes and Ito (2001).

The water activity was determined using Aqualab® equipment at  $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .

### *2.7 Sensory analysis*

A total of 100 untrained consumers aged 19-64 (57% female and 43% male) evaluated the samples. The sensory analysis was performed in individual booths at 24°C. Consumer acceptance was carried out using a seven-point hedonic scale, ranging from 1 = totally dislike to 7 = totally like. The samples were coded by three-digit numbers and gave to the consumers, separately, in polypropylene glasses with sufficient amount (about 2 g) to evaluate color, flavor, taste, texture, and overall acceptability of the products. The purchase intention was also analyzed using a five-point hedonic scale, ranging from 1 = certainly not buy to 5 = certainly buy. Water was supplied between samples for mouth cleaning. Previously, the study

was approved by the Federal University of Santa Maria Ethics and Research Committee, under protocol number 45537215.5.0000.5346.

### 2.8 Statistical analysis

All measurements were conducted in triplicate. Data obtained for all parameters were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The mean values were compared using the Tukey's test. Differences were considered significant different at  $p < 0.05$ .

## 3. Results and discussion

### 3.1 Expansion ratio (ER) and bulk density (BD)

The ER values of the extruded products ranged from 4.2 to 5.2 mm, and were highest for FMGP (Table 1). The chemical composition influences the ER, especially soluble dietary fiber content. Soluble fiber interacts easily with water to a greater expansion (Wang et al., 2019). Besides, due to lower particle size, the micronized grape pomace allowed uniform distribution of fiber in the starch matrix and contributed to higher ER values. For FGP and Control, the ER values were not significantly different.

**Table 1** Characterization of extruded products.

Sample	ER (mm)	BD (g/cm <sup>3</sup> )	WAI (g/g)	WSI (%)	L*	a*	b*	H (N)
Control	4.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	344.6 $\pm$ 3.2 <sup>c</sup>	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	48.4 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	52.4 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	11.0 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	27.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	0.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
	FGP	4.3 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	588.8 $\pm$ 6.2 <sup>a</sup>	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	45.1 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	46.5 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	6.8 $\pm$ 0.0	13.6 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
FMGP	5.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	371.1 $\pm$ 3.3 <sup>b</sup>	3.6 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	43.4 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	35.2 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup>	8.8 <sup>c</sup> $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	9.6 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	0.1 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>

FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace; ER, expansion ratio; BD, bulk density; WAI, water absorption index; WSI, water solubility index; H, hardness.

Values followed by different letters in the same column are significant different at  $p < 0.05$ . ns, not significant. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation.



The BD values ranged from 344.6 to 588.8 g/cm<sup>3</sup>, and were highest for FGP (Table 1), which is consistent with the ER values due to higher insoluble dietary fiber content. The BD is related to the expansion ratio as a result of extrusion (Rathod & Annapure, 2016). Low density is due to increase in the temperature of the moisture above the boiling point that is partially flash-off and result in an expanded structure (Rathod & Annapure, 2016). Chávez et al. (2017) reported increased BD when increased the addition of coffee powder. The authors correlated the results to the dilution of starch molecules and the plasticizing effect of lipids, proteins, and fiber. These components act as lubricants inside the extruder barrel by reducing the shearing on starch granules and, consequently, the density of extruded products.

### *3.2 Water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI)*

The WAI and WSI are related to the changes in the starch molecules that occur during the extrusion process. Higher WAI indicates fragmentation of gelatinized starch molecules and higher WSI is related to extensive dextrinization of the starch molecules (Alam et al., 2016). In the present study, the highest WSI value was found for Control, which was expected due to its higher content of sweet potato flour compared to other formulations (Table 1). In contrast, this formulation had the lowest WAI values, which could be explained by the low availability of water for the starch granule due to a more compact structure. For the WAI, the highest value was obtained for FMGP and the result could be related to higher soluble dietary fiber content, as mentioned by Cuj-Laines et al. (2018), who correlated the WAI with the soluble fiber. Furthermore, this result could be explained by the lower particle size of micronized grape pomace that allows better dispersibility into food structure (Liu et al., 2016). Grape pomace presents higher insoluble dietary fiber content and other carbohydrates that could contribute to higher WAI.

### *3.3 Color*

The color can be used as a potential parameter for the selection of specific nutritional qualities (Zhu & He, 2020). For FMGP, lower  $b^*$  values (Table 1) could be attributed to the anthocyanin, which is the predominant pigment in grape skin with characteristic of blue to red color.

Furthermore, darker product (lower L values), for FMGP, might be resulted by processing conditions, such as high temperature and sugar, and degradation of pigments from Maillard reaction products (Cuj-Laines et al., 2018). The increased intensity of yellow color ( $b^*$ ) observed for Control could be related to extrusion process that favors the occurrence of non-enzymatic reactions (Alam et al., 2016), such as Maillard reaction.

### *3.4 Hardness*

The hardness values ranged from 0.13 to 0.14 N (Table 1). For FMGP and Control, the hardness values were not significantly different. Selani et al. (2014) evaluated the addition of pineapple pomace and reported that the amount of fiber added did not affect the texture of the extruded products, which was consistent with our results. The insoluble fiber could prevent the starch retrogradation and interrupt the starch-starch interactions, which can influence the BD and, consequently, reduce the hardness.

### *3.5 Proximate composition and mineral content*

The higher ash and protein contents were found for FGP and FMGP due to higher content of these components in the raw material compared to sweet potato flour (Table 2). The extruded products had low lipid content, which is relevant for extending shelf life due to lower susceptibility to oxidation (Theagarajan et al., 2019). For the dietary fiber, the highest total, insoluble and soluble dietary fiber contents were found for FGP and the lowest for Control, as

expected due to grape pomace is considered a great source of antioxidant dietary fiber presenting potential for using as functional food and supplements (Beres et al., 2016). Starch was the main component of extruded products, because it is necessary to obtain an expanded product (Arribas et al., 2017). Adding grape pomace in micronized grape pomace decreased starch content, which could influence the digestibility due to polyphenols and starch interactions.

**Table 2** Proximate composition and mineral content of extruded products.

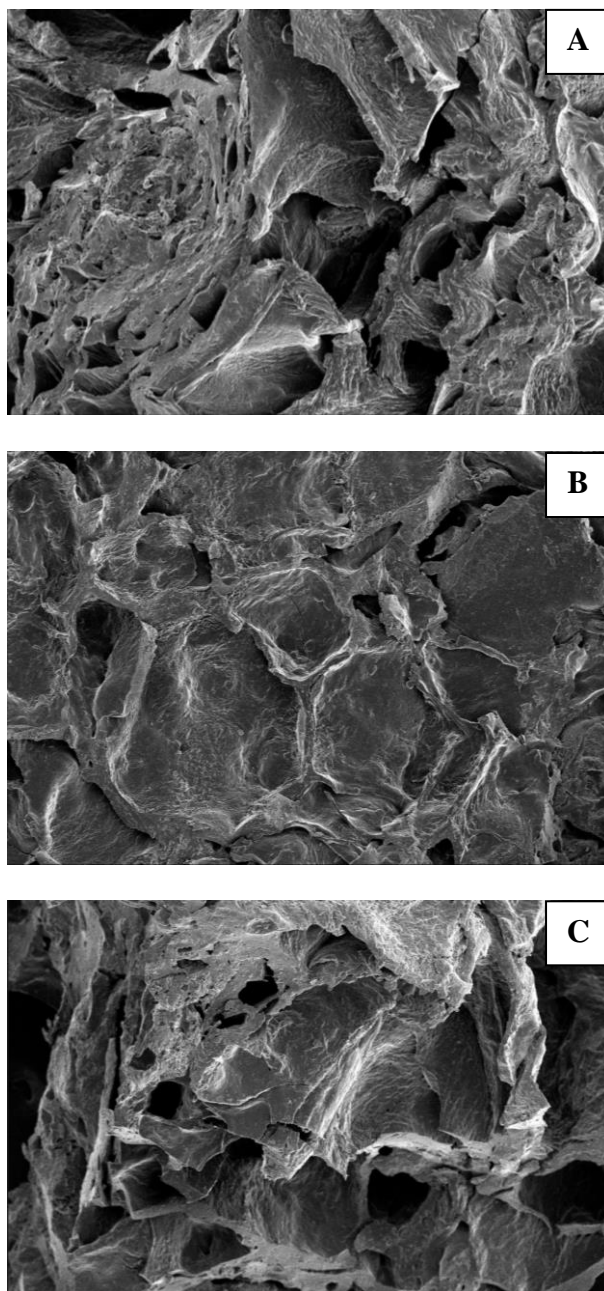
	<b>Control</b>	<b>FGP</b>	<b>FMGP</b>
<i>Proximate composition (g/100 g DM)</i>			
<b>Ash</b>	3.3 ± 0.0 <sup>b</sup>	3.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.0 <sup>ab</sup>
<b>Crude protein</b>	5.1 ± 0.0 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	5.5 ± 0.2 <sup>a</sup>
<b>Fat</b>	0.5 ± 0.2 <sup>ns</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>ns</sup>	0.7 ± 0.0 <sup>ns</sup>
<b>Total dietary fiber</b>	12.9 ± 0.3 <sup>c</sup>	16.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	15.3 ± 0.5 <sup>b</sup>
<b>Insoluble dietary fiber</b>	5.4 ± 0.0 <sup>c</sup>	9.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	8.4 ± 0.1 <sup>b</sup>
<b>Soluble dietary fiber</b>	7.5 ± 0.4 <sup>ns</sup>	7.1 ± 0.1 <sup>ns</sup>	6.9 ± 0.6 <sup>ns</sup>
<b>Total starch</b>	89.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	79.8 ± 5.2 <sup>b</sup>	75.8 ± 4.3 <sup>b</sup>
<i>Mineral content (mg/kg DM)</i>			
<b>Potassium</b>	1672.3	18437.2	15926.8
<b>Magnesium</b>	498.3	460.9	423.8
<b>Calcium</b>	1494.8	1832.7	1884.9
<b>Manganese</b>	5.0	7.1	6.7
<b>Iron</b>	82.7	93.3	131.0
<b>Zinc</b>	7.3	10.5	8.7
<b>Copper</b>	5.0	6.6	5.0
<b>Phosphorus</b>	1428.4	1580.3	1594.1
<b>Sulphur</b>	1206.9	1273.0	1316.1
<b>Boron</b>	7.8	9.8	10.2

DM, dry matter; FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace. Values followed by different letters in the same row are significant different at  $p < 0.05$ . ns, not significant. Results are expressed as mean ± standard deviation.

Regarding the mineral content, potassium, calcium, and phosphorus predominated for FGP and FMGP (Table 2) what as expected since they are the predominant micronutrients in grape pomace (Beres et al., 2019). As shown in the Brazilian Table of Food Composition (TACO, 2011), the results found for this mineral are higher than the established for spinach (0.4 mg iron/100 g), cabbage (0.5 mg iron/100 g), and broccoli (0.6 mg iron/100 g). The iron content should be highlighted due to importance for human health. Beres et al. (2019) mentioned that 60% of world population has iron deficiency and the consumption of products supplemented with this micronutrient could contribute to reduce the problems related to its deficiency. Chávez et al. (2017) reported that the lack of adequate dietary fiber amount in the diet is associated with many diseases. Thus, the combination of sweet potato flour and grape pomace would easily help to comply with manufactured food label as a good source of dietary fiber and iron.

### *3.6 Scanning electron microscopy (SEM)*

The SEM images of the extruded products showed that the particle size influenced the microstructure. Control and FMGP presented similar structure, with presence of thinner walls and pores with small sizes (Figure 1 – A and C). On the other hand, the structure for FGP showed more solid with thicker cell walls (Figure 1B) suggesting lower expansion and inefficient development during the extrusion process. This characteristic could be responsible by the rigidity and the resistance of extruded products, as observed for hardness values (Table 1). As the addition of micronized grape pomace produced a structure similar to Control, this ingredient can be an alternative for improving the technological quality of extruded products.



**Figure 1** SEM images of extruded products – Control (A), FGP (B), and FMGP (C).

FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace

### *3.7 Phenolic compounds and in vitro antioxidant capacity*

The higher total phenolic content was found for FGP and FMGP due to the presence of phenolic compounds from raw material (Table 3). Furthermore, the results could be attributed to release of phenolic compounds from cell wall, interaction of phenolic with protein, and formation of Maillard reaction products. The same trend was reported by Bisharat et al.

(2015), who found increased total phenolic content in formulations with higher broccoli flour addition. Sweet potato flour was not colored, and the total phenolic content could be associated to formation of Maillard reaction products (Bisharat et al., 2015).

**Table 3** Total phenolic and anthocyanin contents and antioxidant capacity of extruded products.

Sample	TPC (mg GAE/100 g DM)	TMA (mg/100 g DM)	ABTS (mmol Trolox/g DM)	ORAC (mmol Trolox/g DM)
Control	183.5 ± 10.2 <sup>b</sup>	-	0.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	34.3 ± 2.3 <sup>b</sup>
FGP	404.1 ± 6.7 <sup>a</sup>	17.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	44.8 ± 4.0 <sup>a</sup>
FMGP	409.2 ± 8.1 <sup>a</sup>	17.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	45.5 ± 0.5 <sup>a</sup>

TPC, total phenolic content; GAE, gallic acid equivalent; DM, dry matter; TMA, total monomeric anthocyanin; - not identified; FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace. Values followed by different letters in the same column are significant different at  $p < 0.05$ . Results are expressed as mean ± standard deviation.

Phenolic compounds are found in grape pomace at high levels and, previously, Bender et al. (2020) demonstrated that the micronization increased the extractability of these compounds as well as the antioxidant capacity. Even presenting higher total phenolic content, significant differences were not observed between FGP and FMGP. This result could be related to release of phenolic acids by decarboxylation in high temperature allowing phenolic structure changes and reduction in chemical reactivity (Brennan et al., 2011; Chávez et al., 2017). This fact could also be contributed to the antioxidant capacity, which was not affected by the addition of FGP and FMGP.

The addition of FGP and FMGP increased total monomeric anthocyanin and antioxidant capacity evaluated by ABTS and ORAC methods in extruded products. These results could be related to the initial contents of total phenolic and total monomeric anthocyanin in raw material, which was higher than sweet potato flour. Similar results regarded to the relationship between phenolic content and antioxidant capacity of plant materials were also reported by other authors (Bisharat et al., 2015; Chávez et al., 2017; Zhu & Sun, 2019).

In summary, the addition of grape pomace and micronized grape pomace in extruded products promotes an increase in total phenolic content and antioxidant capacity, which is interesting for healthy consumers.

### 3.8 *In vitro* starch digestibility

The inclusion of grape pomace and micronized grape pomace affected starch digestibility. In Table 4 is shown the available and resistant starch contents of the extruded products compared to Control. Available starch was higher for FGP and FMGP than Control (Table 4). Starch becomes easier available to digestive enzymatic action due to breakdown in smaller molecules and formation of reducing sugars that can account for the starch content (Arribas et al., 2017). Glucose is the main monosaccharide in grape pomace (Beres et al., 2019; Beres et al., 2016) and this fact may have contributed for increasing starch levels, because quantification is made by glucose assay. Resistant starch also increased in these formulations, which can be explained by the presence of dietary fiber that can retard starch gelatinization. In this condition, total gelatinization may not occur during extrusion leading to the formation of resistant starch (Arribas et al., 2017). This fraction remains undigested in the small intestine, but it is fermented in the large bowel into short-chain fatty acids (Simonato et al., 2019).

**Table 4** *In vitro* starch digestibility.

Sample	Available starch (g/100 g DM)	Resistant starch (g/100 g DM)	pGI
Control	80.70 ± 3.27 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.13 <sup>b</sup>	63.01 ± 0.83 <sup>a</sup>
FGP	87.22 ± 1.60 <sup>a</sup>	12.62 ± 1.84 <sup>a</sup>	58.83 ± 1.33 <sup>b</sup>
FMGP	90.29 ± 2.93 <sup>a</sup>	10.83 ± 0.93 <sup>a</sup>	54.16 ± 1.20 <sup>c</sup>

DM, dry matter; pGI, predicted glycemic index; FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace.

Values followed by different letters in the same column are significant different at  $p < 0.05$ . Results are expressed as mean ± standard deviation.

For FGP and FMGP, there was a decrease in glucose release (pGI) compared to Control due to inactivation of enzymes. Polyphenols can bind to the enzyme active sites, preventing its interaction with starch granules reducing the glycemic index (Brennan et al., 2011). Similar result was reported by Simonato et al. (2019) in olive pomace fortified pasta and could be related to the lower total starch content for FGP and FGMP (Table 2). The extruded products can be considered medium (Control and FGP) and low (FMGP) glycemic index foods (Atkinson et al., 2008). These products are advisable for health and nutritional benefits (Waramboi et al., 2014) due to the controlled glucose release.

### 3.9 Microbiological analysis and water activity

The conditions used in the extrusion process were adequate to prevent the growth of the microorganism (Table 5). According the ANVISA (ANVISA, 2001) *Salmonella* should be absent, which indicates good manufacturing process. In Brazil, there is no maximum limit for mold and yeast counts. However, this analysis was carried out due to possibility of growth of the microorganism in acid food, as extruded products with grape pomace. The results also indicated that extrusion at high temperature could be considered as a method for making it unfeasible the growth of the microorganism, which contributes to extend shelf life.

**Table 5** Microbiological analysis and water activity of extruded products.

Sample	Coliforms at 45°C (MPN/g)	<i>Salmonella</i> (number/25 g)	Mold and yeast count (CFU/g)	aw
Control	< 3.0	Absent	< 1.0 x 10 <sup>1</sup>	0.372 ± 0.0 <sup>c</sup>
FGP	< 3.0	Absent	< 1.0 x 10 <sup>1</sup>	0.610 ± 0.0 <sup>a</sup>
FMGP	< 3.0	Absent	< 1.0 x 10 <sup>1</sup>	0.521 ± 0.0 <sup>b</sup>
Max. limit RDC 12/2001	5 x 10	Absent	-	-

MPN, most probable number; CFU, colony forming unit; aw, water activity; FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace.



Extruded products presented low water activity. FGP and FMGP had higher water activity as compared to Control probably due to the highest content of fiber and protein, components that present hydrophilic nature. During the extrusion, the starch is broken as a consequence of high shearing. It is known that the broken starch molecules have a greater water affinity, however absorb less water than the fiber components (Galdeano et al., 2018). Besides, products with low water activity have low risk of food deterioration by microorganisms, enzymes or non-enzymatic reactions (Selani et al., 2014).

### 3.9 Sensory analysis

A tendency to rejection of formulation with addition of grape pomace and micronized grape pomace was observed due to the lowest scores for all attributes (Table 6). For Control, scores were at “indifferent” acceptability while for FMGP only color and taste had scores in this rate. Alam et al. (2016) mentioned that light colored extruded products are preferred than darker ones by consumers.

**Table 6** Sensory analysis of extruded products

Sample	Color	Flavor	Taste	Texture	OA	PI
<b>Control</b>	4.6 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.8 ± 1.1 <sup>a</sup>	4.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	4.6 ± 1.1 <sup>a</sup>	3.1 ± 1.1 <sup>a</sup>
<b>FGP</b>	3.8 ± 1.3 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.8 <sup>b</sup>	3.4 ± 1.3 <sup>c</sup>	2.6 ± 1.2 <sup>c</sup>	3.3 ± 1.2 <sup>c</sup>	1.9 ± 0.9 <sup>c</sup>
<b>FMGP</b>	4.0 ± 1.3 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.9 <sup>a</sup>	3.8 ± 1.1 <sup>b</sup>	3.9 ± 1.3 <sup>b</sup>	3.9 ± 1.1 <sup>b</sup>	2.4 ± 1.00 <sup>b</sup>

OA, overall acceptability; PI, purchase intention; FGP, extruded with grape pomace; FMGP, extruded with micronized grape pomace.

Seven-point hedonic scale ranges from 1 = totally dislike to 7 = totally like. Values followed by different letters in the same column are significant different at  $p < 0.05$ . Results are expressed as mean ± standard deviation.

Cuj-Laines et al. (2018) suggested that some additives should be added to mask the taste and improve the sensory acceptability of extruded products. For FGP, the lowest texture could be related to the lowest hardness and the highest water activity.

Lower scores led to low purchase intention. In the same trend, Bisharat et al. (2015) reported lower scores lower for extruded products with 10% broccolis flour.

Despite being a product with functional characteristics, phenolic compounds, and could be exert an antioxidant capacity, the addition of grape pomace and micronized grape pomace was not sensory acceptable for consumers. Other formulations should be tested as well as products and amount of addition. Furthermore, consumption habits should be studied.

#### **4. Conclusions**

The addition of grape pomace and micronized grape pomace in extruded products based on sweet potato flour improved the nutritional quality of the products due to increase in dietary fiber and phenolic compounds content. Higher digestibility and lower glucose release was found in these products. Although the formulation must be improved for being sensory acceptable, the products obtained are considered as healthy food.

#### **Declaration**

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)* – Finance Code 001. The authors thank the Vinícola Velho Amâncio for donating the grape pomace.

#### **References**

- Alam, M.S., Pathania, S., & Sharma, A. (2016). Optimization of the extrusion process for development of high fibre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauliflower trimmings. *LWT – Food Science and Technology*, 74, 135-144.
- Alvarez-Martinez, L., Kondury, K.P., & Harper, J.M. (1988). A general model for expansion of extruded products. *Journal of Food Science*, 53, 609-615.

Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., & Griffin Junior, L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, 14, 4-11.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2001). *Resolução RDC no. 12. de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos*. Available at: <http://portal.anvisa.gov.br/>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists (1995). *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. 16th. ed., Washington:1080p.

Arribas, C., Cabellos, B., Sánchez, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M.M. (2017). Impact of extrusion on nutritional composition, dietary fiber and in vitro digestibility of gluten-free snacks based on rice, pea and carob flours blends. *Food & Function*, 8, 3654-3663.

Atkinson, F.S., Foster-Powell, K., & Brand-Miller, J.C. (2008). International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*, 31, 2281-2283.

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 – Food Science and Technology*, 117, 108652.

Bender, A.B.B., Luvielmo, M.M., Loureiro, B.B., Speroni, C.S., Boligon, A.A., Silva, L.P., & Penna, N.G. (2016). Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an extruded snack. *Brazilian Journal of Food Technology*, 19, 1-9.

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.

- Beres, C., Freitas, S.P., Godoy, R.L.O., Oliveira, D.C.R., Deliza, R., Iacomini, M., Mellinger-Silva, C., & Cabral, L.M.C. (2019). Antioxidant dietary fiber from grape pomace flour or extract: Does it make any difference on the nutritional and functional value? *Journal of Functional Foods*, 56, 276-285.
- Beres, C., Simas-Tosin, F.F., Cabezudo, I., Freitas, S.P., Iacomini, M., Mellinger-Silva, C., & Cabral, L.M.C. (2016). Antioxidant dietary fibre recovery from Brazilian *Pinot noir* grape pomace. *Food Chemistry*, 201, 145-152.
- Bisharat, G.I., Lazou, A.E., Panagiotou, N.M., Krokida, M.K., & Maroulis, Z.B. (2015). Antioxidant potential and quality characteristics of vegetable-enriched corn-based extruded snacks. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 3986-4000.
- Bligh, E.G., & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*, 37, 911-917.
- Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Arija, I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 1-17.
- Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E. & Tiwari, B.K. (2011). Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 570-575.
- Chávez, D.W.H., Ascheri, J.L.R., Carvalho, C.W.P., Godoy, R.L.O., & Pacheco, S. (2017). Sorghum and roasted coffee blends as a novel extruded product: bioactive compounds and antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods*, 29, 93-103.
- Cuj-Laines, R., Hernández-Santos, B., Reyes-Jaquez, D., Delgado-Licon, E., Juárez-Barrientos, J.M., & Rodríguez-Miranda, J. (2018). Physicochemical properties of ready-to-eat extruded nixtamalized maize-based snacks enriched with grasshopper. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 1889-1895.

Dehghan-Shoar, Z., Hardacre, A.K., & Brennanm C.S. (2010). The physico-chemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry*, 123, 1117-1122.

Downes, F.P., & Ito, K. (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (4th ed.). Washington: American Public Health Association (APHA) (Chapter 8) and 39.

EU (2006). Commission regulation (EC) No 1924/2006 of the european parliament and of the council of 20 december 2006 on nutrition and health claims made on foods. Official Journal of the European Union L404.

Galdeano, M.C., Tonon, R.V., Menezes, N.S., de Carvalho, C.W.P., Minguita, A.P.S., & Mattos, M.C. (2018). Influence of milling and extrusion on the sorption properties of sorghum. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017118.

Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001.

Goñi, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17, 427-437.

IBRAVIN. Instituto Brasileiro do Vinho. (2019). *Produção de vinhos e derivados*. Available at: <http://www.ibravin.org.br/Dados-Estatisticos/>

ISO. International Standards Organization. (2002). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for detection of Salmonella spp.* 6579:2002.

Liu, Y., Wang, L., Liu, F., & Pan, S. (2016). Effect of grinding methods on structural, physicochemical, and functional properties of insoluble dietary fiber from orange peel. *International Journal of Polymer Science*, 2-7.

Macagnan, F.T., Silva, L.P., & Hecktheuer, L.H. (2016). Dietary fibre: the scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, 85, 144-154.

Malavolta, E., Vitti, G.C., & de Oliveira, S.A. (1987). *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações* (2nd ed.). Piracicaba: POTAFOS. 319p.

Maurer, L.H., Cazarin, C.B.B., Quatrin, A., Minuzzi, N.M., Costa, E.L., Morari, J., Velloso, 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.

Maurer, L.H., Cazarin, C.B.B., Quatrin, A., Nichelle, S.M., Minuzzi, N.M., Teixeira, C.F., et al. (2020). Dietary fiber and fiber-bound polyphenols of grape peel powder promote GSH recycling and prevent apoptosis in the colon of rats with TNBS-induced colitis. *Journal of Functional Foods*, 64, 103644.

OIV. International Organisation of Vine and Wine. 2019 Wine Production First Estimations. Available at: <<http://www.oiv.int/en/oiv-life/2019-wine-productionnbsppfirst-estimations>>.

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, 4619–4626.

Peixoto, C.M., Dias, M.I., Alves, M.J., Calhella, 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.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., et al. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41, 274–285.

- 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, 178-184.
- Rathod, R.P., & Annapure, U.S. (2016). Development of extruded fasting snacks by using vari rice, sweet potato and banana powder with applying response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10, 715-725.
- 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 & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Selani, M.M., Brazaca, S.G.C., Dias, C.T.S., Ratnayake, W.S., Flores, R.A., & Bianchini, A. (2014). Characterisation and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. *Food Chemistry*, 163, 23-30.
- Selvakumaran, L., Shukri, R., Ramli, N.S., Dek, M.S.P., & Ibadullah, W.Z.W. (2019). Orange sweet potato (*Ipomoea batatas*) puree improved physicochemical properties and sensory acceptance of brownies. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18, 332-336.
- 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, 2106-2114.
- Simonato, B., Trevisan, S., Tolve, R., Favati, F., & Pasini, G. (2019). Pasta fortification with olive pomace: effects on the technological characteristics and nutritional properties. *LWT – Food Science and Technology*, 114, 108368.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A.Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

TACO (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (4th ed.). Campinas, SP: NEPA-UNICAMP. 164p.

Theagarajan, R., Narayanaswamy, L.M., Dutta, S., Moses, J.A., & Chinnaswamy, A. (2019). Valorisation of grape pomace (cv. *Muscat*) for development of functional cookies. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 1299-1305.

Walter, M., Silva, L.P., & Perdomo, D.M.X. (2005). Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método AOAC 996.11. *Alimentos e Nutrição*, 16, 39-43.

Wang, S., Gu, B.J., & Ganjyal, G.M. (2019). Impacts of the inclusion of various fruit pomace types on the expansion of corn starch extrudates. *LWT – Food Science and Technology*, 110, 223-230.

Wang, S., Nie, S., & Zhu, F. (2016). Chemical constituents and health effects of sweet potato. *Food Research International*, 89, 90-116.

Waramboi, J.G., Gidley, M.J., & Sopade, P.A. (2014). Influence of extrusion on expansion, functional and digestibility properties of whole sweet potato flour. *LWT – Food Science and Technology*, 59, 1136-1145.

Yan, L., Li, T., Liu, C., & Zheng, L. (2019). Effects of high hydrostatic pressure and superfine grinding treatment on physicochemical/ functional properties of pear pomace and chemical composition of its soluble dietary fibre. *LWT – Food Science and Technology*, 107, 171-177.

Zhu, F., & He, J. (2020). Physicochemical and functional properties of Maori potato flour. *Food Bioscience*, 33, 100488.

Zhu, F., & Sun, J. (2019). Physicochemical and sensory properties of steamed bread fortified with purple sweet potato flour. *Food Bioscience*, 30, 100411.



## 5 DISCUSSÃO

Métodos físicos vêm sendo testados para modificação da estrutura da fibra alimentar de resíduos agroindustriais. Dentre estes métodos, destacam-se a micronização e a extrusão (Artigo 1). A micronização é realizada em moinho de bolas, onde tempo e rotação podem ser otimizados para obtenção de produtos com características físico-químicas satisfatórias tecnológica e nutricionalmente. A extrusão é conduzida em extrusora do tipo mono ou dupla rosca, sendo o tipo mono rosca mais simples e de fácil operação. Ambos os métodos provocam a ruptura dos constituintes poliméricos da matriz alimentar, especialmente lignina, celulose e hemicelulose, em compostos de menor peso molecular e mais solúveis. Os produtos oriundos desses processamentos apresentam características físico-químicas (capacidades de retenção de água, ligação ao óleo e cátions, inchamento e solubilidade) distintas às características iniciais. Os compostos fenólicos são mantidos em decorrência da quebra e exposição dos compostos que estavam ligados à matriz fibrosa. Após ensaios preliminares, em que os dois processamentos foram testados, os resultados mais satisfatórios quanto à redistribuição dos componentes de fibra alimentar e à manutenção de compostos fenólicos foram obtidos por meio da micronização. Desta forma, este método foi utilizado na sequência do trabalho.

O Brasil destaca-se mundialmente na produção de frutas. O Rio Grande do Sul mostra-se como maior produtor nacional de uvas para a produção de vinhos (MELLO, 2017). Diante de safras crescentes, quantidades expressivas de resíduos são geradas no processamento, os quais constituem o bagaço de uva. Estes resíduos, considerados passivos ambientais, usualmente são dispostos incorretamente no meio ambiente ou, em menores casos, utilizados na nutrição animal. Estudos têm demonstrado o potencial de uso do resíduo vitivinícola na alimentação humana, devido ao alto teor de fibra alimentar e compostos fenólicos, que permanecem no bagaço de uva após a sua extração e transferência para o vinho (ANTONIOLLI et al., 2015). Nos últimos anos, diversos métodos de extração de fibra alimentar do bagaço de uva foram propostos com a finalidade de inclusão em produto alimentício. Hambúrguer de anchovas foi enriquecido com diferentes concentrações de fibra alimentar antioxidante de bagaço de uva rica em polifenóis e avaliado quanto à bioacessibilidade dos compostos e aceitação sensorial (SOLARI-GODIÑO et al., 2017). A fibra alimentar foi isolada após extração com solução hidro alcoólica para remoção dos açúcares. Os resultados evidenciaram a alta bioacessibilidade dos compostos fenólicos na etapa que simula o intestino grosso, sendo maior quanto maior a concentração de fibra

adicionada no produto. Em outro estudo, a fibra alimentar foi obtida a partir do bagaço de uva como um extrato aquoso liofilizado e esta fração foi comparada com o bagaço inteiro quanto às características químicas, propriedades físicas e impactos da digestão na liberação de fibra (BERES et al., 2019). A farinha foi considerada rica em fibra alimentar, com conteúdos nutricional e mineral interessantes, porém com baixa higroscopicidade, sendo indicada para uso como suplemento de fibra na dieta. O extrato demonstrou maior bioacessibilidade após a digestão de compostos fenólicos complexos macromoleculares, contendo arabinogalactana pécica como principal fibra solúvel e o seu uso é recomendado como fonte de fibra alimentar antioxidante. A adição do extrato em um produto lácteo (iogurte) apresentou boa aceitação e intenção de compra, representando uma tendência como ingrediente alimentar. Deste modo, estudos devem ser conduzidos para avaliar os métodos de extração de fibra alimentar e compostos fenólicos a fim de obter os benefícios para a nutrição humana de ambos os constituintes do bagaço de uva.

No presente estudo, a concentração de fibra alimentar foi realizada através de lavagens com etanol, devido aos bons resultados obtidos anteriormente em estudo com casca de uva da vinificação (BENDER et al., 2017). Posteriormente, as frações não concentrada (bagaço de uva) e concentrada (concentrado de bagaço de uva) foram submetidas à micronização. Por trataram-se de métodos que geram pouco ou nenhum resíduo, o emprego destes procedimentos para obtenção de ingredientes ricos em fibra alimentar e compostos fenólicos a partir do bagaço de uva, contribui para a redução do impacto ambiental.

As amostras obtidas após esse primeiro ensaio apresentaram composições físico-químicas e estruturais distintas. Microscopicamente, observaram-se diferenças quanto à morfologia, com presença de maiores aglomerados no concentrado de bagaço de uva, bem como no conteúdo de fibra solúvel, compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Devido aos compostos fenólicos serem facilmente solubilizados em misturas hidro alcoólicas, o concentrado de bagaço de uva apresentou menor conteúdo de fenólicos totais, porém o perfil de compostos foi semelhante (Artigo 2). A composição diferiu quanto ao teor de lipídeos e fibra insolúvel, sendo que o conteúdo lipídico foi menor no concentrado de bagaço de uva. O conteúdo de fibra insolúvel foi maior nesta fração por este ser um método usual para isolamento de polímeros da parede celular. Por apresentar maior conteúdo de fenólicos totais, o bagaço de uva também apresentou maior capacidade antioxidante nos dois métodos avaliados (ABTS e ORAC). Estudos recentes mostram que a ação antioxidante direta dos compostos fenólicos não é responsável por sua ação biológica sistêmica, visto que as concentrações encontradas em tecidos e plasma são muito baixas para provocar este efeito.

Uma vez que os mecanismos de ação destes compostos ainda não foram totalmente esclarecidos, estima-se que os compostos fenólicos tenham efeitos preventivos nas condições inflamatórias de doenças crônicas ao atuarem por diferentes mecanismos no sistema (CHEN et al., 2016). Sendo assim, duas amostras ricas em fibra alimentar e compostos fenólicos foram obtidas, sendo que estes componentes foram predominantes no bagaço de uva. Os resultados também demonstraram que, embora a concentração de polímeros da parede celular vegetal através de lavagens com etanol seja método amplamente utilizado para isolamento da fibra alimentar, devido à maior concentração de compostos fenólicos no bagaço de uva, esta fração apresenta características nutricionais mais interessantes quando comparada ao concentrado de bagaço de uva. Estudos para verificar formas de aproveitamento do bagaço de uva devem ser conduzidos a fim de potencializar os efeitos benéficos de seus constituintes tanto nos produtos alimentícios quanto na nutrição humana.

A micronização das amostras de bagaço de uva revelou resultados interessantes. Os pós obtidos apresentaram tamanho de partícula reduzido, em especial o bagaço de uva, devido ao concentrado de bagaço de uva possuir tamanho médio inicial maior, indicando que quanto menor o tamanho de partícula inicial, maior é a eficiência da redução. A micronização proporcionou maior extração de compostos fenólicos. Conseqüentemente à diminuição do tamanho de partícula ocorre aumento na área superficial, favorecendo a extração destes compostos. Além disso, os compostos que estavam fortemente ligados ou incorporados à matriz fibrosa podem ter sido liberados pela ruptura das ligações intermoleculares. Quanto às propriedades físico-químicas, foi observada redução nas capacidades de retenção de água, ligação ao óleo e a cátions, porém houve aumento na solubilidade dos pós micronizados. Este fato deve-se também à redução do tamanho de partícula e ao aumento da área superficial e à liberação de açúcares de baixo peso molecular solúveis em água.

A redistribuição dos componentes da fibra alimentar, de insolúveis para solúveis, deve ser destacada. Esta redistribuição já foi relatada por diversos autores (ZHAO et al., 2015; ZHU; DU; LI, 2012). A micronização foi capaz de quebrar as interações químicas intermoleculares entre lignina e hemicelulose. No presente estudo, observou-se diminuição nos conteúdos de lignina e celulose e aumento no conteúdo de hemiceluloses solúveis. A redução de componentes insolúveis deve-se à degradação parcial da celulose e lignina, que são convertidas em compostos com menor peso molecular (ZHU et al., 2014). A diminuição no conteúdo de lignina, macromolécula polifenólica complexa, pode ser decorrente da solubilização de fragmentos de lignina de baixo peso molecular, resultando em compostos

fenólicos solúveis em água. Este fato também contribui para a maior solubilidade das amostras micronizadas.

O alto teor de fibra solúvel associado à presença de compostos fenólicos, com predominância de flavan-3-óis (catequina, epicatequina e epicatequina galato) e à capacidade antioxidante evidencia o potencial do bagaço de uva micronizado para reaproveitamento como ingrediente alimentício, podendo ser utilizado em alimentos com alegações de propriedades funcionais. A fibra alimentar auxilia no funcionamento do intestino e em especial, a fibra solúvel devido à sua capacidade de retenção de água é responsável pelo aumento do volume intraluminal e do tempo do trânsito intestinal, que contribuem para a sensação de saciedade. Além disso, atua como barreira na absorção de glicose e colesterol, retardando sua liberação na corrente sanguínea e, assim, controlando os níveis plasmáticos (DAI; CHAU, 2017). Os compostos fenólicos ao estarem associados à matriz fibrosa podem exercer efeitos sobre a microbiota intestinal (SAURA-CALIXTO, 2011), ao atuar como promotores de crescimento, proliferação ou sobrevivência das bactérias benéficas (*Lactobacillus* e *Bifidobacterium*) e inibir a proliferação de bactérias patogênicas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*). Assim, promovem função imune benéfica e ajudam a prevenir desordens gastrointestinais (POZUELO et al., 2012), tais como o câncer coloretal. Estudos recentes demonstram, por exemplo, que o pó da casca, em especial a fração de polifenóis associada à fibra alimentar, exerce efeito protetor em modelo de colite ulcerativa em ratos promovendo a homeostasia da barreira intestinal (MAURER et al., 2019) e reestabelecendo o equilíbrio redox intestinal (MAURER et al., 2020).

Tendo em vista as potencialidades para uso do bagaço de uva micronizado como ingrediente alimentício, devido às suas características físico-químicas, torna-se necessário analisar a influência da adição deste ingrediente na produção de alimentos. Produtos extrusados têm se destacado devido à versatilidade de formatos e à praticidade de consumo. Os produtos ricos em fibra alimentar têm atraído os consumidores que buscam por alimentos saudáveis. Diante disso, bagaço de uva e bagaço de uva micronizado foram adicionados à farinha de batata doce em um produto extrusado, em quantidade suficiente para que o produto final atendesse à legislação quanto à classificação como alto conteúdo de fibra (mínimo 6 g de fibra em 100 g de alimento preparado) (ANVISA, 2012). Parâmetros tecnológicos, funcionais e sensoriais foram avaliados e indicaram diferenças entre as formulações (Manuscrito 1). Os extrusados contendo bagaço de uva micronizado apresentaram propriedades tecnológicas desejáveis e semelhantes à formulação controle. A adição de bagaço de uva provocou incremento no conteúdo de fenólicos totais, antocianinas e na capacidade antioxidante,

principalmente na formulação contendo bagaço de uva micronizado, indicando a maior extratibilidade de compostos em decorrência do seu menor tamanho de partícula. Quanto à composição, houve redução no conteúdo de amido decorrente do aumento da concentração de fibra alimentar. Em relação aos testes funcionais, observou-se diminuição da liberação de glicose, indicada pelo menor índice glicêmico das amostras contendo bagaço de uva. Os compostos fenólicos ligam-se aos sítios ativos das enzimas responsáveis pela degradação do amido, impedem sua ação e, por conseguinte, provocam um efeito hipoglicêmico, acarretado pela redução na liberação de glicose (BRENNAN et al., 2011). Os produtos extrusados apresentaram baixa aceitação sensorial em todos os parâmetros avaliados. Esta menor aceitação de produtos extrusados contendo ingredientes ricos em fibra é relatada por diversos autores, que destacam a dificuldade em produzir formulações que atendam satisfatoriamente os consumidores.

Diante disto, mesmo apresentando características tecnológicas e funcionais interessantes, pelo fato dos produtos não apresentarem boa aceitação sensorial, outros estudos devem ser conduzidos para avaliar a inclusão do bagaço de uva micronizado em diferentes produtos alimentícios. Adaptações na formulação também podem ser realizadas para saborização do produto, com adição de sal e/ou açúcar, visto que no presente estudo não foram adicionados outros ingredientes além de bagaço de uva e farinha de batata doce.

A micronização mostrou-se eficiente para alterar a estrutura da fibra alimentar, gerando pós com maior conteúdo de fibra solúvel, compostos fenólicos e com expressiva capacidade antioxidante. Apesar da concentração de fibra alimentar não apresentar resultados satisfatórios, ambas as frações obtidas demonstram potencial para utilização como ingrediente rico em fibra alimentar e compostos fenólicos. A inclusão em produto extrusado evidenciou a potencialidade de uso do bagaço de uva micronizado indicando que esta inclusão possibilita a obtenção de um produto com alto conteúdo de fibra, podendo receber alegação de propriedade funcional. Desta forma, a micronização mostrou-se método eficaz para produção de ingrediente a ser explorado pela indústria de alimentos. A baixa aceitação sensorial do produto demonstra que, embora os testes de caracterização *in vitro* sejam importantes e revelem os componentes do ingrediente e suas funcionalidades, é necessário avaliar o comportamento deste em uma formulação diferenciada que atraia mais os consumidores.

## 6 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:

- A concentração do bagaço de uva mostrou-se eficiente para aumentar o teor de fibra alimentar total do bagaço de uva, principalmente pelo aumento da fração insolúvel. Os resultados demonstram que o bagaço de uva e o concentrado de fibra são ingredientes promissores para aplicação da tecnologia de moagem ultrafina.

- Nas amostras micronizadas, constatou-se redução considerável no tamanho médio das partículas, aumento no conteúdo de fibra solúvel e compostos fenólicos, bem como na capacidade antioxidante. Quanto às características físico-químicas, a micronização proporcionou pequenas variações nas capacidades de retenção de água, ligação ao óleo e a cátions, podendo-se concluir que é possível modificar os componentes da fibra alimentar do bagaço de uva através deste método físico.

- A adição de bagaço de uva e bagaço de uva micronizado em produtos extrusados provocou alterações nas suas propriedades tecnológicas observadas pelo aumento da expansão radial, densidade aparente e índice de absorção de água, enquanto que, para o índice de solubilidade, constatou-se redução com a adição destes ingredientes.

- Nas formulações testadas do produto extrusado, foi encontrado aumento no conteúdo fenólico total e na capacidade antioxidante, o que é interessante para consumidores que buscam uma alimentação saudável, porém, os produtos elaborados apresentaram baixa aceitação sensorial, sugerindo com isto que outras formulações devem ser testadas, bem como produtos, quantidade de adição e hábitos de consumo.

- A micronização representa alternativa para agregação de valor ao bagaço de uva e para aproveitamento do resíduo da vinificação como fonte de fibras, com propriedades funcionais promissoras e para enriquecimento nutricional de produtos alimentícios.

- O aproveitamento do bagaço de uva contribui para a redução dos impactos ambientais e perdas econômicas geradas pelo descarte incorreto, além de representar avanço na manutenção do equilíbrio do meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. The definition of dietary fiber. **Cereal Foods World**, v.46, p.112–126, 2001.

ALAM, M.S.; PATHANIA, S.; SHARMA, A. Optimization of the extrusion process for development of high fibre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauliflower trimmings. **LWT – Food Science and Technology**, v.74, p.135-144, 2016.

ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A general-model for expansion of extruded products. **Journal of Food Science**, v.53, p.609-615, 1988.

ANDERSON, R.A. et al. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v.14, p.4-11, 1969.

ANTONIOLLI, A. et al. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. **Food Chemistry**, v.178, p.172-178, 2015.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2001). **Resolução RDC no. 12. de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 30 nov. 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2012). **Resolução RDC no. 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 30 nov. 2019.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th. ed., Washington: 1080p. 1995.

BARROS, M.I.L.F. et al. Impact of cluster thinning on quality of “Malbec” grapes in Encruzilhada do Sul-RS. **American Journal of Plant Sciences**, v.9, p.495-506, 2018.

BARCIA, M.T. et al. Vinification by-products and their phenolic compounds. **American Journal of Food Science and Technology**, v.3, p.18-23, 2015.

BENDER, A.B.B. et al. Obtenção e caracterização de farinha de casca de uva e sua utilização em *snack* extrusado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.19, p.1-9, 2016.

BENDER, A.B.B. et al. Grape pomace skins and the effects of its inclusion in the technological properties of muffins. **Journal of Culinary Science & Technology**, v.15, p.143-157, 2017.

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, 108652, 2020.

BENÍTEZ, V. et al. Physicochemical properties and in vitro antidiabetic potential of fibre concentrates from onion by-products. **Journal of Functional Foods**, v.36, p.34-42, 2017.

BERES, C. et al. Antioxidant dietary fibre recovery from Brazilian Pinot noir grape pomace. **Food Chemistry**, v.201, p.145–152, 2016.

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

BISHARAT, G.I. et al. Investigation of functional properties and color changes of corn extrudates enriched with broccoli and olive paste. **Food Science and Technology International**, v.21, p.613-630, 2014.

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

BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.49, p.135–141, 1998.

BRENES, A. et al. Use of polyphenol-rich grape byproducts in monogastric nutrition. A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.211, p.1–7, 2016.

BRENNAN, C. et al. Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.22, p.570-575, 2011.

BRENNAN, M.A. et al. Ready-to-eat snack products: the role of extrusion technology in developing consumer acceptable and nutritious snacks. **International Journal of Food Science and Technology**, v.48, p.893-902, 2013.

CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R.; AZEVEDO, T.L. Elaboração de extrusados expandidos (*snacks*) de milho e casca de soja. **Comunicado Técnico**, v.78, p.1-2, 2005.

CHAMORRO, S. et al. Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. **Food Chemistry**, v.133, p.208-314, 2012.

CHAU, C.F.; CHEN, C.C.; LIN, C.Y. Insoluble fiber-rich fractions derived from *Averrhoa carambola*: hypoglycemic effects determined by in vitro methods. **LWT – Food Science and Technology**, v.37, p.331-335, 2004.

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

CHAWLA, R.; PATIL, G.R. Soluble dietary fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p.178-196, 2010.

CHEN, L. et al. Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: an update on structure-activity relationship. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.58, p.513-527, 2016.



CIAN, R.E et al. Bio-accessibility of bioactive compounds (ACE Inhibitors and antioxidants) from extruded maize products added with a red seaweed *Porphyra columbina*. **LWT – Food Science and Technology**, v.55, p.51-58, 2014.

DAI, F.J.; CHAU, C.F. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. **Journal of Food and Drugs Analysis**, v.25, 37-42, 2017.

DAOU, C.; ZHANG, H. Study on functional properties of physically modified dietary fibres derived from defatted rice bran. **Journal of Agricultural Science**, v.4, p.85-97, 2012.

DE ESCALADA PLA, M.F. et al. Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (*Prunus persica* L.) peel and pulp. **Food Research International**, v.49, p.184-192, 2012.

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, p.2712–2720, 2011.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods** (4 ed.). Washington: American Public Health Association (APHA) (Capítulos 8 e 39). 2001.

DU, B. et al. Physicochemical and antioxidant properties of dietary fibers from Qingke (hull-less barley) flour as affected by ultrafine grinding. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.4, p.170-175, 2014.

DWYER, K., HOSSEINIAN, F., ROD, M. The market potential of grape waste alternatives. **Journal of Food Research**, v.3, p.91–106, 2014.

EL-DASH, A.A. Application and control of thermoplastic extrusion of cereals for food and industrial uses. **Cereals: A Renewable Resource. Theory and practice**. AACC, chap.10, p.165-217, 1981.

ELLEUCH, M. et al. Dietary-fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v.124, p.411-421, 2011.

FANZONE, M. et al. Impact of phenolic and polysaccharidic composition on commercial value of Argentinean Malbec and Cabernet Sauvignon wines. **Food Research International**, v.45, p.402-414, 2012.

FAO. **Food and Agricultural Organization of the United Nations**. 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 16 dez. 2019.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e práticas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2018. 944p.

FEMENIA, A. et al. Physical and sensory properties of model foods supplemented with cauliflower fiber. **Journal of Food Science**, v.62, p.635-639, 1997.

FERNANDES, L. et al. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v.50, p.161–166, 2013.

GARCÍA-AMEZQUITA, L.E. et al. Influence of drying method on the composition, physicochemical properties, and prebiotic potential of dietary fibre concentrates from fruit peels. **Journal of Food Quality**, v. 9105237, p.1-12, 2018a.

GARCÍA-AMEZQUITA, L.E. et al. Dietary fiber concentrates from fruit and vegetable by-products: Processing, modification, and application as functional ingredients. **Food and Bioprocess Technology**, v.11, p.1439-1463, 2018b.

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, p.3–22, 2017.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, 2001.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington, DC: USDA, 1970.

GOÑI, I.; GARCIA-ALONSO, A.; SAURA-CALIXTO, F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. **Nutrition Research**, v.17, p.427-437, 1997.

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, p.1580-1586, 2010.

GRIGELMO-MIGUEL, N.; GORINSTEIN, S.; MARTÍN-BELLOSO, O. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. **Food Chemistry**, v.65, p.175-181, 1999.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology, **Food Research International**, v.33 p.233-245, 2000.

HE, S. et al. Effect of ball-milling on the physicochemical properties of maize starch. **Biotechnology Reports**, v.3, p.54-59, 2014.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D. et al Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. **International Journal of Food Microbiology**, v.136, p.119-122, 2009.

IBRAVIN. Instituto Brasileiro do Vinho. **Elaboração de vinhos e derivados no Rio Grande do Sul – 2006 a 2019**. 2019. Disponível em: <<https://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1564503491.pdf>>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

ISO. International Standards Organization. **Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for detection of *Salmonella* spp. 6579:2002**.

KAMMERER, D.R.; 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.

KHANAL, R.C.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. Procyanidin content of grape seed and pomace, and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing. **Journal of Food Science**, v.74, p.H174-H182, 2009.

LOPES-DA-SILVA, M.F.; SANTOS, L.; CHOUPINA, A. A extrusão em tecnologia alimentar: tipos, vantagens e equipamentos. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, p.3-10, 2015.

MACAGNAN, F.T.; SILVA, L.P.; HECKTHEUER, L. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. **Food Research International**, v.85, p.144-154, 2016.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; DE OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações** (2 ed.). Piracicaba: POTAFOS. 319p. 1987.

MARTINS, I.M. et al. Enzymatic biotransformation of polyphenolics increases antioxidant activity of red and white grape pomace. **Food Research International**, v.89, p.533-536, 2016.

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.

MAURER, L.H. et al. Dietary fiber and fiber-bound polyphenols of grape peel powder promote GSH recycling and prevent apoptosis in the colon of rats with TNBS-induced colitis. **Journal of Functional Foods**, v.64, p.103644, 2020.

MCBURNEY, M.I. et al. Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibres. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.34, p.910-916, 1983.

MELLO, L.M.R. Panorama da produção de uvas e vinhos no Brasil. **Informe Técnico**. Campo e Negócios – Hortifrúti. Abril 2017. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/159111/1/Mello-CampoNegocio-V22-N142-P54-56-2017.pdf>>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

MELLO, L.M.R. et al. **Dados cadastrais da viticultura do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. 2017. Disponível em: <[http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/dados\\_cadastrais\\_descricao.html](http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/dados_cadastrais_descricao.html)>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

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 anthocyanin from dried red grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.2862-2868, 2010.

- MORALES, P. et al. Lentil flour formulations to develop new snack-type products by extrusion processing: Phytochemicals and antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**, v.19, p.537-544, 2015.
- MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.61, p.1-6, 2013.
- NIETO-CALVACHE, J. et al. Antioxidant characterization of new dietary fiber concentrates from papaya pulp and peel (*Carica papaya* L.). **Journal of Functional Foods**, v.27, p.319-328, 2016.
- NIETO-CALVACHE, J.E.; DE ESCALADA PLA, M.; GERSCHENSON, L.N. Dietary fibre concentrates produced from papaya by-products for agroindustrial waste valorization. **International Journal of Food Science and Technology**, v.54, p.1074-1080, 2019.
- OIV. International Organisation of Vine and Wine. **2019 Wine Production First Estimations**. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/oiv-life/2019-wine-productionnbspfirst-estimations>>. Acesso em: 12 Dez. 2019.
- OU, B. et al. 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, p.4619-4626, 2001.
- 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-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.274-285, 2008.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SAURA-CALIXTO, F. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. **Nutrition Research Reviews**, v.26, p.118-129, 2013.
- POZUELO, M.J. et al. Grape antioxidant dietary fiber stimulates *Lactobacillus* growth in rat cecum. **Journal of Food Science**, v.77, p.H59-H62, 2012.
- QUIRÓS-SAUCEDA, A.E. et al. Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. **Food & Funct**, v.5, p.1063-1072, 2014.
- 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, p.563-567, 2004.
- RATHOD, R.P.; ANNAPURE, U.S. Development of extruded fasting snacks by using vari rice, sweet potato and banana powder with applying response surface methodology. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v.10, p.715-725, 2016.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999.

ROBIN, F.; SCHUCHMANN, H.P.; PALZER, S. Dietary fiber in extruded cereals: limitations and opportunities. **Trends in Food Science & Technology**, v. 28, p.23-32, 2012.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v.127, p.174-179, 2011.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, S. et al. Improvement of physicochemical properties and phenolic compounds bioavailability by concentrating dietary fiber of peach (*Prunus persica*) juice by-product. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.98, p.3109-3118, 2018.

RONDEAU, P. et al. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. **Industrial Crops and Products**, v.43, p.251-254, 2013.

SALGADO, N.; GIRALDO, G.I.; ORREGO, C.E. Influence of the extrusion operating conditions on the antioxidant, hardness and color properties of extruded mango. **LWT – Food Science and Technology**, v.86, p.209-218, 2017.

SANZ-PINTOS, N. et al.. Macromolecular antioxidants and dietary fiber in edible seaweeds. **Journal of Food Science**, v.82, p.289-295, 2017.

SAURA-CALIXTO, F. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.43-49, 2011.

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

SHRIKHANDE, A.J. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**, v.33, p.469–474, 2000.

SIMONATO, B. et al. Pasta fortification with olive pomace: effects on the technological characteristics and nutritional properties. **LWT – Food Science and Technology**, v.114, p.108368, 2019.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SOLARI-GODIÑO, A. et al. Anchovy mince (*Engraulis ringens*) enriched with polyphenol-rich grape pomace dietary fibre: In vitro polyphenols bioaccessibility, antioxidant and physico-chemical properties. **Food Research International**, v.102, p.639-646, 2017.

SPERONI, C.S. et al. Micronization and granulometric fractionation improve polyphenol content and antioxidant capacity of olive pomace. **Industrial Crops and Products**, v.137, p.347-355, 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Manual de dissertações e teses da UFSM: estrutura e apresentação**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2015. 88p.

VITAGLIONE, A.; NAPOLITANO, A.; FOGLIANO, V. Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. **Trends in Food Science & Technology**, v.19, p.451- 463, 2008.

WANG, C.C.R.; CIOU, J.Y.; CHIANG, P.Y. Effect of micronization on functional properties of the water caltrop (*Trapa taiwanensis Nakai*) pericarp. **Food Chemistry**, v.113, p.970-974, 2009.

WANG, S.; NIE, S.; ZHU, F. Chemical constituents and health effects of sweet potato. **Food Research International**, v.89, p.90-116, 2016.

WALTER, M.; SILVA, L.P.; PERDOMO, D.M.X. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. **Alimentos e Nutrição**, v.16, p.39-43, 2005.

WATERHOUSE A. L. Determination of total phenolics. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, R. E. Wrolstad, Ed., units I, pp. 11.1.1–11.1.8, John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 2003.

WHITE, B.L.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.4037-4042, 2010.

ZHANG, M. et al. Effects of superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides. **LWT – Food Science and Technology**, v.58, p.594-601, 2016.

ZHAO, X. et al. Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders. **Powder Technology**, v.286, p.838-844, 2015.

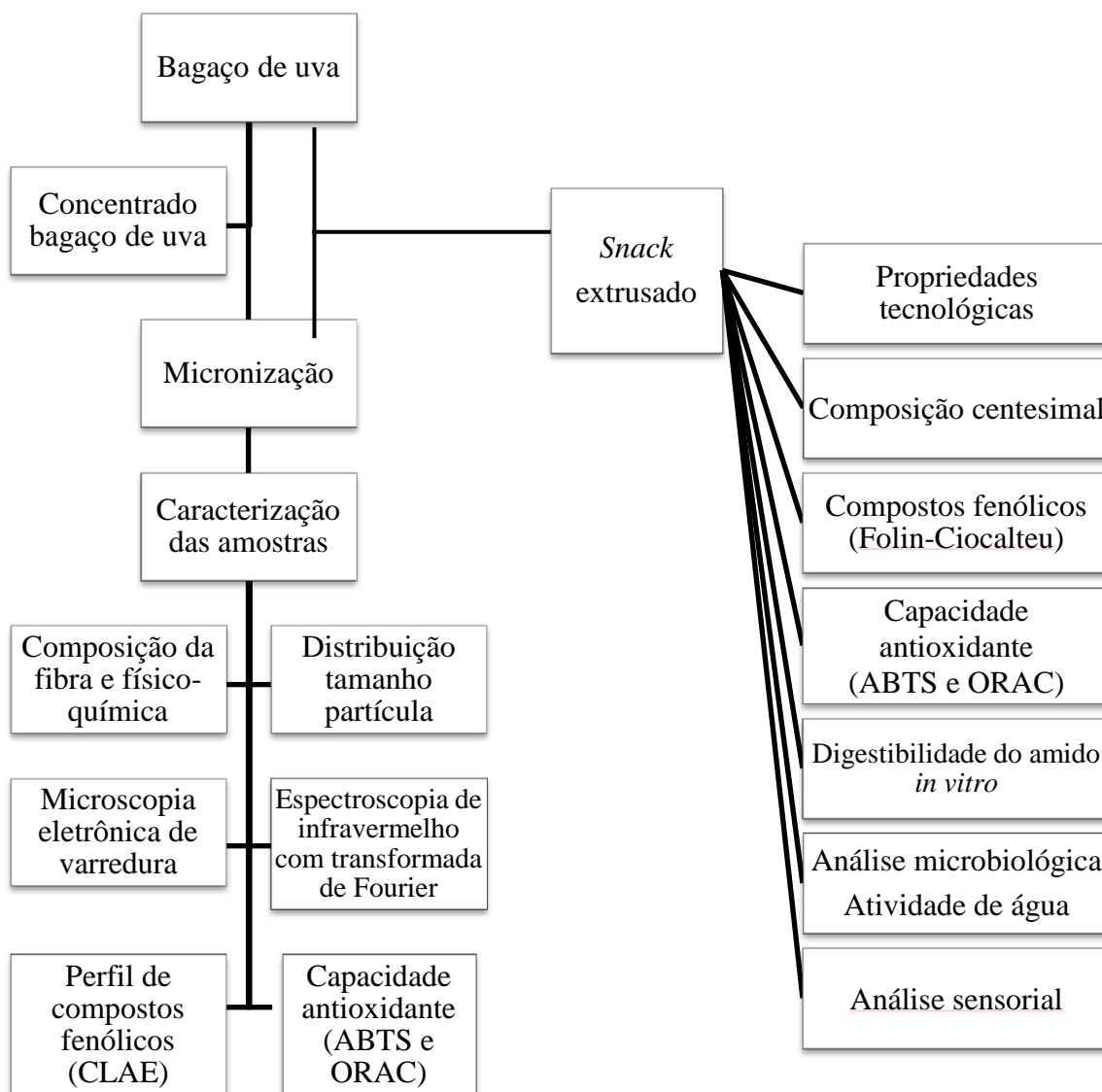
ZHU, F.M; DU, B.; LI, J. Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace. **Food Science and Technology International**, v.20, p.55-62, 2012.

ZHU, F. et al., Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.3, p.30-34, 2014.

ZHU, F.; WANG, S. Physicochemical properties, molecular structure, and uses of sweet potato starch. **Trends in Food Science & Technology**, v.36, p.68-78, 2014.

ZHU, F. et al. Advance on the bioactivity and potential applications of dietary fibre from grape pomace. **Food Chemistry**, v.186, p.207–212, 2015.

**APÊNDICE A – ETAPAS DE PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS, PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS *SNACKS* EXTRUSADOS**



## APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do estudo:** Efeito da micronização sobre as propriedades funcionais da fibra do bagaço de uva

**Pesquisador responsável:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neidi Garcia Penna.

**Instituição/Departamento:** Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos.

**Telefone e endereço postal para contato:** (55) 3220-8254. Avenida Roraima, 1000, prédio 42, sala 3207, 97105-970, Santa Maria - RS

**Local da coleta de dados:** Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Laboratório de Análise Sensorial.

Prezado(a) Senhor(a):

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Você será convidado a participar desta avaliação se manifestar concordância com a pesquisa, objetivos e critérios deste termo, estiver na faixa etária entre 18 e 59 anos, e **não** se enquadrar nas categorias: a) indivíduos que utilize betabloqueadores e antirretrovirais, b) indivíduos com patologias e/ou alterações na cavidade oral e c) gestantes. É de sua responsabilidade a completa leitura deste termo. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Você poderá recusar ou desistir de assinar o termo em qualquer momento e/ou realizar as análises antes ou durante o andamento dessas, não tendo nenhuma penalidade para você.

**Objetivo do estudo.** Avaliar os efeitos da micronização sobre as propriedades funcionais da fibra do bagaço de uva.

**Procedimentos.** Sua participação nesta pesquisa consistirá apenas em provar as amostras de *snacks* extrusados, preparadas dentro de rigorosas condições higiênico-sanitárias, e o preenchimento deste questionário de acordo com suas opiniões sobre este produto.

**Benefícios.** Esta pesquisa trará maior conhecimento sobre o tema abordado, sem benefício direto para você. Não haverá benefício financeiro pela sua participação, nem qualquer despesa de sua parte, em nenhum momento da pesquisa.

**Riscos.** Os produtos oferecidos são seguros e de boa qualidade, e a realização desta degustação não



representará qualquer risco para a sua saúde. Os riscos para a execução da coleta de dados são considerados mínimos, pois os produtos bem como os ingredientes utilizados em suas formulações são destinados para fins alimentícios e comumente utilizados pela população. Muito raramente, poderá causar algum quadro de alergia e desconforto estomacal devido à intolerância ou hipersensibilidade a algum ingrediente comumente presente no produto avaliado.

**Sigilo.** Os dados que você fornecerá serão utilizados apenas para análise estatística de aceitação dos *snacks* extrusados. Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo e utilizados em publicações científicas com manutenção da sua confidencialidade. Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo.

A divulgação dos resultados será realizada por meio das publicações científicas. Sempre que julgar necessário, em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Consentimento da participação da pessoa como sujeito

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Efeito da micronização sobre as propriedades funcionais da fibra do bagaço de uva” como sujeito. Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Efeito da micronização sobre as propriedades funcionais da fibra do bagaço de uva”. Sobre a minha decisão em participar nesse estudo: Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu acompanhamento/assistência/tratamento neste Serviço.

Local e data: \_\_\_\_\_

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: \_\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Santa Maria \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Pesquisador responsável

## APÊNDICE C – FICHA SENSORIAL

### AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( )M ( )F

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Você está recebendo uma amostra codificada de *snack* extrusado. Por favor, deguste e avalie a amostra, utilizando a escala abaixo, em relação ao quanto você gostou ou desgostou, marcando a resposta que melhor reflita seu julgamento sobre cada característica do produto.

Obs.: A aceitação global corresponde a quanto você gostou ou desgostou da amostra de um modo geral.

Característica	1. Desgostei Muitíssimo	2. Desgostei Muito	3. Desgostei	4. Indiferente	5. Gostei	6. Gostei Muito	7. Gostei Muitíssimo
<i>Cor</i>	( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
<i>Aroma</i>	( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
<i>Sabor</i>	( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
<i>Textura</i>	( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )
<i>Aceitação Global</i>	( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )

#### Comentários:

---



---



---

Com base em sua avaliação acima, indique na escala abaixo, sua atitude, caso encontrasse esta amostra à venda.

1. **Certamente não compraria** ( )
2. **Possivelmente não compraria** ( )
3. **Talvez Comprasse/ Talvez não comprasse** ( )
4. **Possivelmente compraria** ( )
5. **Certamente compraria** ( )

#### Comentários:

---



---

*Agradecemos sua participação!*