

Ana Filipa Campos Pereira

**Potenciais alimentos funcionais com base em
extratos de vinho de uva ou de videira**



Universidade Fernando Pessoa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Ana Filipa Campos Pereira

**Potenciais alimentos funcionais com base em
extratos de vinho de uva ou de videira**



Universidade Fernando Pessoa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Ana Filipa Campos Pereira

**Potenciais alimentos funcionais com base em
extratos de vinho de uva ou de videira**

Declaro que este trabalho foi realizado na íntegra por mim e que todo o material proveniente de outras fontes foi devidamente referenciado.

(Assinatura)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora **Carla Sousa e Silva**.

Universidade Fernando Pessoa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Resumo

A mudança de hábitos e costumes da sociedade que tem vindo a acontecer, principalmente nos últimos anos, conduziu a uma alteração dos padrões de alimentação e a um maior sedentarismo, o que resultou numa preocupação generalizada, por parte dos cidadãos, em tentar minorar problemas de saúde decorrentes deste estilo de vida. Como resposta a esta situação, a indústria alimentar reforçou a sua política de investigação, surgindo um novo tipo de alimentos, denominados alimentos funcionais. O interesse por parte dos consumidores por estes alimentos tem vindo a crescer, pois para além da função nutricional básica que possuem, apresentam benefícios para a saúde humana, tornando-se portanto um mercado bastante promissor. No nosso país existe já uma variedade de alimentos funcionais, como ovos enriquecidos com ácidos gordos ómega-3, tomate rico em licopeno, leite ou iogurtes com cálcio adicionado, entre outros.

Portugal é um importante produtor de vinho, com as exportações a aumentar, o que demonstra o dinamismo do setor. O vinho e a vinha têm, na sua constituição, compostos fortemente antioxidantes e com um amplo espetro de propriedades biológicas passíveis de serem extraídas. Os componentes fenólicos são um exemplo de compostos bioativos de grande relevância, apresentando uma variedade de propriedades fisiológicas, tais como antioxidante, cardioprotetora, anticarcinogénica, anti-inflamatória, antienvelhecimento, antimicrobiana. Por conseguinte, o interesse por parte da indústria alimentar por estas propriedades tem vindo a aumentar, assim como o dos consumidores, que cada vez são mais exigentes.

Desta forma, pretende-se, para além de realizar uma revisão bibliográfica sobre alimentos funcionais no geral, conhecer a composição dos constituintes extraídos do vinho de uva ou da videira, que possam ser incorporados em alimentos já existentes, de forma a trazer benefícios para a saúde e bem-estar do indivíduo. De acordo com isto e com o desafio final deste trabalho, propôs-se um alimento funcional, mais concretamente, uma massa enriquecida com antioxidantes extraídos do vinho de uva ou da videira, assim como toda a conjuntura associada à extração e à quantificação dos compostos fenólicos dos extratos, o processo de desenvolvimento da massa e a avaliação da sua composição.

Palavras-chave: alimentos funcionais; uva; extratos de vinho; extratos da videira; compostos fenólicos; atividade antioxidante; massa.

Abstract

The changing habits and mores of society that has been happening, especially in recent years led to a change in the eating patterns and to a more sedentary way of life, which resulted in a widespread concern from the citizens who try to minimize the health problems caused by this lifestyle. In response to this situation, the food industry reinforced its research policy and a new type of food emerged, the so-called functional food. The consumers show an increasing interest for this kind of food because, apart from its basic nutritional function, it brings benefits to human health, thus becoming a very promising market. In our country there are already a variety of functional foods as eggs fortified with omega-3, tomato rich with lycopene, milk or yoghurt with calcium added, among others.

Portugal is an important wine-producing country; the exports are increasing, hence demonstrating the sector's dynamism. The wine and the vine have in their constitution strong antioxidant compounds and a broad spectrum of biological properties that can be extracted. The phenolic compounds are examples of highly relevant bioactive compounds, showing a variety of physiological properties, such as antioxidant, cardioprotective, anti-carcinogenic, anti-inflammatory, anti-aging, and antimicrobial properties. Therefore, the interest from both the food industry and the consumers - who are more and more demanding - is increasing.

Overall, this dissertation aims not only at performing a bibliographic revision on functional food as a whole, but also at getting to know the composition of the compounds extracted from the grape wine or the vine which may be added into existing food, so to bring benefits for the individuals' health and well-being. According to this purpose and to the ultimate challenge of this dissertation, a functional food is suggested, a pasta enriched with antioxidants extracted from grape wine or vine, as well as the whole circumstances associated with the extraction and the quantification of the phenolic compounds of the extracts, the process to develop the pasta and the evaluation of its composition.

Keywords: functional food; grape; wine extracts; vine extracts; phenolic compounds; antioxidant activity; pasta.

Agradecimentos

É com enorme satisfação que expresso o meu mais profundo agradecimento a todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho.

Assim sendo, agradeço de forma particular, expressando imenso reconhecimento e consideração:

- à Professora Doutora Carla Sousa e Silva, orientadora deste trabalho, pela competência com que o orientou, e pelo tempo que generosamente dedicou com enorme paciência, lucidez e confiança;

- à minha família, que são as pessoas mais importantes da minha vida, não sendo possível sem eles a elaboração e finalização desta monografia. Obrigada por toda a vossa dedicação, carinho e por sempre acreditarem em mim.

A todos, muito obrigada.

Índice geral

1.	Alimentos funcionais.....	1
1.1.	História dos alimentos funcionais.....	1
1.2.	Regulamentação dos alimentos funcionais.....	3
1.3.	Classes de alimentos funcionais.....	4
1.4.	Principais componentes bioativos dos alimentos funcionais.....	5
1.4.1.	Probióticos.....	5
1.4.2.	Prebióticos.....	6
1.4.3.	Ácidos gordos polinsaturados.....	6
1.4.4.	Vitaminas antioxidantes.....	7
1.4.5.	Compostos fenólicos.....	7
1.5.	O mercado dos alimentos funcionais.....	8
2.	Vinho de uva e videira.....	10
2.1.	História do vinho e da vinha em Portugal.....	10
2.2.	Ciclo vegetativo da videira.....	12
2.3.	Produção do vinho.....	12
2.4.	Portugal e o vinho.....	15
2.5.	Composição da vinha.....	16
2.5.1.	Compostos de natureza flavonoide.....	19
2.5.2.	Compostos de natureza não flavonoide.....	22
2.6.	Bioatividade dos compostos fenólicos do vinho de uva e da videira.....	23
2.6.1.	Efeitos antioxidantes.....	24
2.6.2.	Efeitos cardioprotetores.....	27
2.6.3.	Efeitos anticarcinogénicos.....	28
2.6.4.	Efeito Anti-inflamatório.....	28
2.6.5.	Efeitos Anti envelhecimento.....	30
2.6.6.	Efeitos antimicrobianos.....	30

2.7. Biodisponibilidade	31
3. Potencial alimento funcional com base em extratos de vinho de uva ou de videira	32
3.1. Métodos de extração de compostos fenólicos presentes no vinho e seus derivados	32
3.1.1. Material vegetal	33
3.1.2. Extração dos polifenóis	33
3.2. Determinação dos compostos fenólicos.....	34
3.3. Separação e análise dos compostos fenólicos.....	36
3.4. Propriedades antioxidantes	36
3.4.1. Método do radical DPPH.....	36
3.4.2. Avaliação do poder redutor (FRAP).....	37
3.5. Atividade antimicrobiana.....	37
3.5.1. Método da microdiluição.....	38
3.6. Desenvolvimento de uma massa enriquecida com compostos fenólicos provenientes da uva, da videira ou seus derivados	38
3.6.1. A massa	39
3.6.2. Análise de parâmetros físicos e químicos.....	40
4. Conclusão	42
1. Bibliografia.....	43

Índice de figuras

FIGURA 1 - ETAPAS DA PRODUÇÃO DE VINHO E OS SEUS SUBPRODUTOS.	13
FIGURA 2 - CLASSES E SUBCLASSES DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NA VIDEIRA..	17
FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DE DIFERENTES COMPOSTOS PRESENTES NA UVA	18
FIGURA 4 - ESTRUTURA BASE DOS FLAVONOIDES	19
FIGURA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS FLAVONÓIS PRESENTES NA UVA	20
FIGURA 6 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS FLAVANÓIS EXISTENTES NA UVA.....	21
FIGURA 7 - ESTRUTURAS DAS DIFERENTES ANTOCIANINAS PRESENTES NA UVA E NO VINHO	22
FIGURA 8 - ÁCIDOS FENÓLICOS PRESENTES NAS UVAS E VINHO	23
FIGURA 9 - ESTRUTURA DO <i>TRANS</i> -RESVERATROL.....	23

Índice de tabelas

TABELA 1 - DEFINIÇÕES DE ALIMENTOS FUNCIONAIS DADAS POR DIVERSOS ORGANISMOS.	2
TABELA 2 - USO TRADICIONAL DA VIDEIRA EM MEDICINA	16
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DA UVA	17
TABELA 4 - EXEMPLOS DE DOENÇAS EM QUE A PRODUÇÃO EXCESSIVA DE RADICAIS LIVRES TEM UM PAPEL IMPORTANTE.....	25
TABELA 5 - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DO VINHO DE UVA E DA VIDEIRA	26
TABELA 6 - EFEITOS ANTICANCERÍGENOS DOS POLIFENÓIS DAS UVAS	29
TABELA 7 - FORMULAÇÃO DE UMA MASSA COM EXTRATOS DE UVA E SEUS DERIVADOS SECOS.....	39

Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
CE	Comissão Europeia
CFU	Unidade de formação de colónias (do inglês “colony-forming unit”)
DMACH	<i>p</i> -dimetilaminocinamaldeído (do inglês “ <i>p</i> -dimethylaminocinnamaldehyde”)
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazila (do inglês “2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl”)
EC50	Metade da concentração máxima eficaz (do inglês “Half maximal effective concentration”)
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (do inglês “European Food Safety Authority”)
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos (do inglês “Food and Drug Administration”)
FOSHU	Alimentos para Usos Específicos de Saúde (do inglês “Food for Specified Health Uses”)
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro (do inglês “Ferric Reducing Antioxidant Power”)
FUFOSE	Ciência dos Alimentos Funcionais na Europa (do inglês “Functional Food Science in Europe”)
GAE	Equivalentes de ácido gálico (do inglês “gallic acid equivalentes”)
HPLC-RP	Cromatografia líquida de alta resolução em fase reversa (do inglês “High-performance liquid chromatography – Reverse phase”)
IL-1β	Interleucina 1 Beta
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (do inglês “low-density lipoprotein”)
MIC	Concentração mínima inibitória (do inglês “minimum inhibitory concentration”)

ORAC	Capacidade de Absorção dos Radicais Oxigenados (do inglês “Oxygen Radical Absorbance Capacity”)
PGE₂	Prostaglandina E2 (do inglês “Prostaglandin E2”)
ROS	Espécies reativas de oxigênio (do inglês “Reactive Oxygen Species”)
TE	Equivalentes de Trolox (do inglês “Trolox Equivalent”)
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (do inglês “Trolox Equivalent Antioxidant Capacity”)
TNFα	Factor de Necrose Tumoral α (do inglês “Tumor Necrosis Factor α ”)

1. Alimentos funcionais

Embora todos os alimentos forneçam nutrientes e energia, fundamentais para suportar a vida, estes só podem ser considerados funcionais se proporcionaram benefícios fisiológicos adicionais, que contribuam para a redução do risco de doenças crónicas ou otimização da saúde do indivíduo (Crowe e Francis, 2013; Hasler, 2002; Hasler e Brown, 2009).

Cada vez mais, os consumidores dos países desenvolvidos são exigentes com a sua alimentação, estando interessados nos benefícios de cada alimento. Está provado que um estilo de vida saudável, associado a uma alimentação equilibrada, traz benefícios para a saúde dos indivíduos, prevenindo, para além da obesidade, certas patologias, como tensão arterial elevada, cancro, doenças cardiovasculares, entre outras (Oliveira e Cardoso, 2010).

O desenvolvimento de novos produtos alimentares de elevado valor nutricional, com benefícios adicionais para a saúde, tem sido uma das estratégias da indústria alimentar. Este tipo de alimento, denominado alimento funcional, é semelhante na aparência aos convencionais, que são consumidos como parte integrante de uma dieta normal, mas demonstra ter, para além das funções nutricionais, benefícios fisiológicos ou a capacidade de reduzir o risco de doenças (Moraes e Colla, 2006).

1.1. História dos alimentos funcionais

Na primeira metade do século XX, a investigação científica na área alimentar baseava-se na identificação de elementos essenciais, particularmente vitaminas, e na sua função no tratamento de doenças associadas à falta desse mesmo componente. No entanto, foi na década de setenta, nos países desenvolvidos, que a sobrenutrição se revelou um problema de saúde pública, o que originou novas diretrizes na área alimentar, com o objetivo de reduzir o risco de doenças crónicas como cancro, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras, pela implementação de uma dieta rica em vegetais, fruta, legumes, cereais integrais e baixa em gorduras saturadas (Hasler, 2002).

O conceito de alimento funcional foi desenvolvido nos anos oitenta, no Japão, onde foi implementada regulamentação para aprovar determinados alimentos que apresentassem estudos comprovativos dos seus benefícios para a saúde, por conterem

substâncias que desempenhassem um papel específico nas funções fisiológicas do organismo humano, para além do seu conteúdo nutricional (Oliveira e Cardoso, 2010).

A identificação de componentes ativos em alimentos de origem animal ou vegetal foi realizada por cientistas que visavam, portanto, diminuir o risco de doenças crónicas. Acrescido o facto de a população estar cada vez mais envelhecida, o que origina uma maior preocupação com o seu bem-estar, as inovações tecnológicas e um mercado propício para a introdução de produtos que promovessem a saúde, nos anos 90 foi dado maior ênfase aos alimentos funcionais (Hasler, 2002).

Com o aparecimento dos alimentos funcionais, houve a necessidade por parte de várias organizações a nível mundial, como a Comissão Europeia (CE), *Health Canada*, *Academy of Nutrition and Dietetics* e o Ministério da Saúde, Trabalho e Bem-estar Japonês, de estabelecer definições para esta nova categoria, apresentadas na **tabela 1**.

Tabela 1 - Definições de alimentos funcionais dadas por diversos organismos.

Entidade	Definição
Comissão Europeia	“A food that beneficially affects one or more target functions in the body beyond adequate nutritional effects in a way that is relevant to either an improved state of health and well-being and/or reduction of risk of disease. It is consumed as part of a normal food pattern. It is not a pill, a capsule or any form of dietary supplement” (European Commission, 2010).
Health Canada	“A functional food is similar in appearance to, or may be, a conventional food, is consumed as part of a usual diet, and is demonstrated to have physiological benefits and/or reduce the risk of chronic disease beyond basic nutritional functions” (Health Canada, 1998).
Academy of Nutrition and Dietetics	“Foods defined as whole foods along with fortified, enriched, or enhanced foods that have a potentially beneficial effect on health when consumed as part of a varied diet on a regular basis at effective levels” (Crowe e Francis, 2013).
Ministério da Saúde, Trabalho e Bem-estar Japonês	“FOSHU (Food for Specified Health Uses) refers to foods containing ingredient with functions for health and officially approved to claim its physiological effects on the human body. FOSHU is intended to be consumed for the maintenance / promotion of health or special health uses by people who wish to control health conditions, including blood pressure or blood cholesterol” (Ministry of Health Labour and Welfare Japan, 2013).

Não obstante, por forma a clarificar o conceito de benefício para a saúde, a Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA), informou que estes alimentos não são usados para tratamento, cura, diagnóstico ou mitigação de doenças, não podendo de

forma alguma ser confundidos com fármacos (Schneeman, 2007). O estatuto de alimento funcional só pode ser atribuído a alimentos que apresentam efeitos fisiológicos comprovados cientificamente (Richardson, 2005). Esta comprovação obedece a critérios, sendo autorizada na Europa pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) após rigorosa avaliação científica (Bento, 2008).

Os esforços a nível da pesquisa neste campo levaram ao crescente interesse mundial por este tipo de alimentos, categorizados como alimentos funcionais. São vários os fatores que contribuíram para tal: destaque da pesquisa nutricional e médica sobre associações entre dieta, constituintes dietéticos e benefícios para a saúde; uma situação regulamentar propícia; desenvolvimento rápido do mercado de produtos de saúde e bem-estar e a procura deste tipo de alimentos por parte do consumidor (Hasler, 2002).

1.2. Regulamentação dos alimentos funcionais

A inexistência de uma definição universal para o conceito de alimentos funcionais faz com que a regulamentação sobre este tipo de produto possa variar de acordo com a legislação de cada país ou, no caso da União Europeia, de cada Estado Membro.

Com o aumento de vendas de alimentos que prometem benefícios nutricionais e para a saúde, como “baixo teor em gordura”, “sem adição de açúcar” e “rico em fibras”, a União Europeia sentiu a necessidade de implementar legislação, por forma a proteger o consumidor de comprar um produto cujas alegações sejam falsas, enganosas ou não fundamentadas cientificamente. Entende-se por alegações de saúde qualquer afirmação nos rótulos, publicidade ou outras formas de marketing que indicam benefícios para a saúde e que podem levar a consumir um determinado produto (European Food Safety Authority, 2014).

Em Dezembro de 2006, foi aprovado o Regulamento (CE) n.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, assegurando confiança ao consumidor sobre a informação presente nos rótulos, mas também permitindo uma concorrência leal entre os diversos produtores de géneros alimentícios, com regras claras e uniformes, protegendo desta forma a inovação

na indústria alimentar com benefícios fundamentados (European Food Information Council, 2007).

Em 2012, a CE juntamente com EFSA aprovou uma lista de 222 alegações de saúde cientificamente comprovadas, das 44.000 submetidas pelos Estados Membros até 2008. As alegações de saúde que não se encontrem na lista ou que estejam pendentes ou em processo de análise são proibidas em todos os países da União Europeia, sendo da responsabilidade das autoridades nacionais aplicar estas regras (EUBusiness, 2012).

1.3. Classes de alimentos funcionais

Dependo de cada autor, um alimento funcional pode ser um alimento natural, um alimento sintetizado ou então um alimento cuja composição tenha sido modificada, sendo que, em qualquer dos casos, tem de contribuir para a manutenção da saúde e redução do risco de doenças.

Segundo a *Academy of Nutrition and Dietetics*, existem três classes principais de alimentos funcionais: alimentos convencionais, alimentos modificados e alimentos sintetizados.

Os alimentos convencionais caracterizam-se por conterem substâncias bioativas naturais que possuem propriedades funcionais, para além da sua nutrição essencial. Frutas, legumes, cereais, laticínios, peixes e carnes apresentam compostos bioativos, como por exemplo, vitaminas antioxidantes do sumo de laranja, isoflavonas nos derivados da soja, prebióticos e probióticos em iogurtes.

Os alimentos modificados são aqueles que apresentam compostos bioativos provenientes de métodos de fortificação e enriquecimento. Como exemplo, referem-se os ovos enriquecidos com ácidos gordos ómega-3.

Por fim, os alimentos que são sintetizados como por exemplo os hidratos de carbona não digeríveis, que fornecem benefícios prebióticos, como os oligossacáridos ou amido resistente (Crowe e Francis, 2013).

Por outro lado, a *Ciência dos Alimentos Funcionais na Europa* (FUFOSE) considera que são alimentos funcionais:

- Alimentos naturais, como fruta e cereais, que podem ou não ser modificados através do melhoramento genético de plantas ou de outras tecnologias. Exemplo: tomate enriquecido com licopeno.
- Alimento em que se adiciona um componente. Por exemplo, ovos enriquecidos com ácidos gordos polinsaturados e vitamina E.
- Alimento em que se elimina ou reduz um componente, como é o caso do leite ou iogurte sem lactose ou com quantidade reduzida.
- Alimento em que um, ou vários elementos, foram substituídos, modificados ou aumentados, por forma a aperfeiçoar os seus benefícios para a saúde, inserindo-se neste grupo o leite enriquecido com cálcio, por exemplo (European Commission, 2010).

1.4. Principais componentes bioativos dos alimentos funcionais

Atualmente, já existe uma grande variedade de alimentos funcionais. Em seguida, apresentam-se alguns exemplos de substâncias bioativas presentes em alimentos funcionais e os seus respetivos benefícios para a saúde.

1.4.1. Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro. Estes estimulam a proliferação de bactérias benéficas em detrimento da multiplicação de bactérias potencialmente prejudiciais, fortalecendo desta forma as defesas naturais do hospedeiro (Saad, 2006).

Em alimentos funcionais, as bactérias mais utilizadas como probióticos são do género *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor uso, *Enterococcus faecium* (Saad, 2006). Os principais benefícios para a saúde dos probióticos são: diminuição da obstipação, seja de origem bacteriana ou viral; aumento da defesa da flora intestinal contra organismos patogénicos; redução do crescimento excessivo do intestino delgado; prevenção do cancro do cólon; diminuição das reações alérgicas e da pressão arterial; limitação da infeção por *Helicobacter pylori* (European Commission, 2008). No mercado

português, por exemplo, podem-se encontrar leites fermentados que associam as bactérias tradicionais do iogurte a um fermento *L. Casei*.

1.4.2. Prebióticos

Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, como fibras e oligossacáridos, que estimulam a multiplicação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no intestino, contribuindo desta forma para a inibição da proliferação de bactérias patogénicas. Apresentam, como benefícios para a saúde, uma melhoria da absorção de cálcio, modulação da microflora intestinal, exercendo um papel essencial na fisiologia gastrointestinal e na diminuição do risco do cancro de cólon (Saad, 2006). A nível nacional encontram-se prebióticos em cereais integrais, por exemplo.

1.4.3. Ácidos gordos polinsaturados

Os principais ácidos gordos polinsaturados utilizados em alimentos funcionais são os ómega-3 e os ómega-6, que se diferenciam entre si pela localização da ligação dupla: nos ómega-3 está presente no carbono 3, nos ómega-6 encontra-se no carbono 6. Estes encontram-se disponíveis principalmente em peixes de água fria, como atum, salmão e sardinha, mas também em óleos e margarinas vegetais, sementes de linhaça, nozes e alguns vegetais (Moraes e Colla, 2006).

Estudos indicam que os ácidos gordos ómega-3 reduzem o colesterol, triglicéridos e hipertensão arterial, têm ação anticoagulante e anti-inflamatória, atuam como preventores do cancro da mama, próstata e cólon e são indispensáveis para o desenvolvimento do cérebro e da retina dos recém-nascidos. Quanto aos ómega-6, têm ação anti-inflamatória e associam-se à estrutura das membranas celulares, influenciando a permeabilidade dos vasos, a viscosidade sanguínea e a pressão arterial (Moraes e Colla, 2006).

1.4.4. Vitaminas antioxidantes

Os carotenoides, a vitamina E e a vitamina C são exemplos de compostos antioxidantes, usados em alimentos funcionais, que têm como principal papel a prevenção ou redução da oxidação nos sistemas biológicos por ação dos radicais livres.

Os carotenoides encontram-se em alimentos de cor amarela, vermelha ou laranja, como é o caso da abóbora, do tomate e da laranja. Os carotenos, os precursores da vitamina A e o licopeno são os principais tipos de carotenoides. Estes têm fundamentalmente ação protetora contra o cancro e doenças cardiovasculares, e também têm a capacidade de inibir a aterosclerose.

A Vitamina E é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea pela fase lipídica das partículas lipoprotéicas. Está presente nos óleos vegetais e apresenta-se em quatro formas distintas: α , β , γ e δ -tocoferol. O seu consumo reduz o risco de doenças cardiovasculares, fortalece o sistema imunitário e minimiza os danos provocados pelos radicais livres em doenças como cancro, artrite, envelhecimento e cataratas (Moraes e Colla, 2006).

A vitamina C (ácido ascórbico) está presente em diversas frutas, como limão, laranja e morango. Estudos indicam que esta vitamina contribui para a proteção do desenvolvimento de tumores e de danos causados pela exposição à radiação e a medicamentos (Bianchi e Antunes, 1999).

Os carotenoides e as vitaminas E e C são fortes antioxidantes, que inibem danos oxidativos, constituindo um dos principais mecanismos de defesa endógena do organismo (Moraes e Colla, 2006). A título de exemplo, no mercado nacional existem sumos de frutas considerados alimentos funcionais por conterem os antioxidantes anteriormente referidos.

1.4.5. Compostos fenólicos

Há uma grande variedade de compostos bioativos neste grupo, sendo que só os flavonoides existem sob a forma de mais de 5000 moléculas diferentes. Os flavonoides são substâncias de origem vegetal existentes em uvas e vinho, tomilho, cebola, chá verde, entre outros (Ross e Kasum, 2002).

Os compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes, pelo que ostentam a capacidade de proteção contra o cancro, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, aumentam a atividade anti-inflamatória e otimizam o sistema imunitário (European Commission, 2008; Moraes e Colla, 2006). Como exemplo de alimentos funcionais com base em compostos fenólicos, existem no mercado português, sumos de frutos vermelhos.

1.5. O mercado dos alimentos funcionais

A introdução dos alimentos funcionais no mercado europeu aconteceu através de empresas alimentares multinacionais, como a Nestlé, a Danone, a Unilever e a Kellogg's, em meados dos anos 90. O iogurte da Nestlé LC1 e a linha Actimel da Danone foram os primeiros produtos introduzidos no mercado. Outro exemplo, introduzido no ano 2000 pela Unilever, foi a margarina Becel Pro-activ que diminui os níveis de colesterol no sangue. Em geral, estas empresas alimentares investem até 2% do seu volume de negócios em investigação e desenvolvimento de produtos, que podem chegar a demorar vários anos (Menrad, 2003).

Indústrias farmacêuticas como a Novartis Consumer Health, a Glaxo SmithKline, a Johnson & Johnson ou os Laboratórios Abbott também produzem alimentos funcionais. Estas empresas apresentam duas vantagens para investirem em alimentos funcionais: (i) conseguem tempos e custos inferiores para o desenvolvimento destes produtos, quando comparados com produtos farmacêuticos, e (ii) já têm experiência em organizar ensaios clínicos, por forma a comprovar os benefícios para a saúde de um determinado alimento (Menrad, 2003).

O mercado de alimentos funcionais é extremamente dinâmico e com um rápido crescimento a nível mundial (Bech-Larsen e Scholderer, 2007; Yoo *et al.*, 2010). Em 2006, os Estados Unidos, Europa e Japão dominavam o mercado global. A nível Europeu, países como a Alemanha, França, Reino Unido e Países Baixos são os mais importantes dentro do mercado de alimentos funcionais (Vergari *et al.*, 2010). Segundo a Global Industry Analysts, este mercado mundial de alimentos funcionais e bebidas deve chegar aos 130 bilhões de dólares em 2015. Este crescimento deve-se à inovação

de produtos, mas também à cada vez maior preocupação dos consumidores com a sua saúde (ReportLinker, 2014).

Em Portugal, nas principais áreas de superfície alimentar não existe uma secção específica de alimentos funcionais. Contudo, já há algumas referências a este tipo de alimentos nos *sites* de alguns hipermercados. O *site* do hipermercado Jumbo, por exemplo, apresenta uma área específica sobre “Nutrição, Saúde e Bem-estar” onde engloba categorias como alimentos alternativos, alimentos biológicos e comércio justo, alimentos com soja, alimentos sem glúten ou sem lactose, suplementos alimentares e vitaminas. Por outro lado, o Pingo Doce *online* apresenta uma área “Pura Vida – Alimentação Especial” que se encontra dividida em três partes: Específicos & Funcionais; Naturais & Integrais e Infusões & Suplementos. Quanto ao hipermercado Continente, na sua página da internet, encontra-se um segmento denominado por “Áreaviva” que abrange alimentos com frutose e edulcorantes; alimentos sem glúten ou sem lactose; alimentos biológicos; controlo do peso; outros padrões alimentares; entre outros.

Após revisão das páginas de internet destas três grandes superfícies comerciais, pode-se afirmar que, no mercado português, as principais categorias de alimentos funcionais à venda são os leites, os iogurtes, os cereais, as bolachas e os sumos/bebidas.

2. Vinho de uva e videira

As principais espécies de uvas são: uva europeia (*Vitis vinifera*), uvas norte-americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis rotundifolia*) e os híbridos franceses. Frutas, uvas passas, sumo e vinho são os produtos mais apreciados com origem na vinha (Xia *et al.*, 2010).

O consumo de uvas e seus derivados é um aliado para a promoção da saúde humana. Numerosos estudos demonstraram que a presença de certos constituintes das uvas e do vinho, como os polifenóis, origina um alto poder antioxidante, capaz de remover radicais livres presente nas células do organismo humano. O resveratrol, a quercetina e a catequina são os principais compostos fenólicos presentes nas uvas e no vinho que levam a uma melhoria da saúde, principalmente no que respeita às doenças cardiovasculares (Çetin e Sađdýç, 2009; Monagas *et al.*, 2006).

Atividades antioxidantes, cardioprotetoras, anticancerígenas, anti-inflamatórias, anti envelhecimento e antimicrobianas, características dos principais constituintes da uva, como antocianinas, flavonoides e resveratrol, têm como principais funções a prevenção de doenças e a melhoria da saúde, tendo um potencial promissor nas indústrias alimentar e farmacêutica, que utilizam estes compostos fenólicos como ingredientes de alimentos funcionais (Xia *et al.*, 2010).

2.1. História do vinho e da vinha em Portugal

Considera-se que a primeira vinha a ser cultivada na Península Ibérica, mais propriamente nas zonas dos vales do Tejo e do Sado, foi há cerca de 2.000 anos a.c. pela civilização Tartessos, que usava o vinho como moeda de troca nas suas relações comerciais com outros povos.

Mais tarde, cerca do século X a.c., os Fenícios apropriaram-se do comércio do vinho dos Tartessos, introduzindo desta forma novas castas de videira na Lusitânia.

No século VII a.c., com a chegada dos Gregos à Península Ibérica, houve um desenvolvimento da viticultura, principalmente na arte de cultivo e produção de vinho (Infovini, 2009).

Acredita-se que os Celtas no século VI a.c. tenham introduzido na Península Ibérica qualidades de videira que cultivavam e também novas técnicas de tanoaria.

Mais tarde, a conquista da Península Ibérica pelos Romanos, no século II a.c. contribuiu para o desenvolvimento da cultura do vinho e para a melhoria das técnicas de cultivo, nomeadamente a poda, dada a necessidade de encaminhar o vinho para Roma, onde o consumo era superior à produção (Instituto da vinha e do vinho, 2009).

Com as invasões bárbaras e o declínio do Império Romano, no século VI d.c., houve uma junção de raças e culturas, passando-se do paganismo ao cristianismo, que se expandiu. Neste período, o vinho torna-se portanto imprescindível para a realização da missa no ato sagrado da comunhão. Embora nesta altura não tivessem sido introduzidas quaisquer inovações no setor vinícola, passou a considerar-se o vinho como uma bebida digna de povos civilizados.

No século VIII, iniciou-se um novo período para a vitivinicultura ibérica devido à influência árabe, impedindo o Corão o consumo de bebidas fermentadas, como é o caso do vinho. Contudo, o emir Córdoba permitiu a continuação da cultura e produção de vinho aos agricultores (Instituto da Vinha e do Vinho, 2009).

Após a fundação de Portugal, em 1143 por D. Afonso Henriques, o vinho fazia parte da dieta do homem medieval, tornando-se um símbolo da cultura portuguesa e convertendo-se no produto mais exportado. Na época dos Descobrimentos, o vinho português era levado pelas naus e caravelas até aos lugares mais longínquos.

O Tratado de Methwen, assinado em 1703, permitiu a entrada de vinhos portugueses em Inglaterra, fomentando a fama e a exportação, que se alargou por outros países da Europa. Como consequência, o vinho do Porto e a região do Alto Douro beneficiaram de um conjunto de medidas protecionistas (Infovini, 2009).

No século XIX, a praga da filoxera dizimou largas áreas de vinhas portuguesas, espalhando-se por todo o país (Instituto da Vinha e do Vinho, 2009).

Com a adesão de Portugal à Comunidade Europeia em 1986, surge uma nova perspectiva socioeconómica, que afeta a viticultura, tendo-se instituído as Comissões Vitivinícolas Regionais com o objetivo de administrarem as Denominações de Origem e

dos Vinhos Regionais, o que fortaleceu a política de qualidade dos vinhos portugueses (Instituto da Vinha e do Vinho, 2009; Infovini, 2009).

2.2. Ciclo vegetativo da videira

O ciclo vegetativo inicia-se na primavera (março/abril) com a perda de seiva, culturalmente denominado pelo “choro” da videira. Após o nascimento dos rebentos e das folhas, aparecem os primeiros botões da flor (abril/maio). Em maio/junho sucede a floração e consecutiva fecundação, dando origem aos bagos de uva os quais sofrem o processo de maturação (agosto). Durante o amadurecimento dos bagos, há uma alteração da sua coloração, tornando-se dourada ou avermelhada, um aumento do seu tamanho e ocorrem processos químicos, como a alteração do equilíbrio da acidez dos mesmos. Quando as uvas atingem um grau de açúcar ideal para a produção de vinho, procede-se à vindima (agosto/outubro). Com a descida das temperaturas, as folhas caem e começa o processo de repouso (novembro a abril), sendo que é nesta fase que se procede à poda (Infovini, 2014a).

2.3. Produção do vinho

Os métodos de produção variam conforme o tipo de vinho que se pretende adquirir. Na produção de vinho branco ou rosé, através do método branco, o processo utilizado é o de “bica aberta”, onde a fermentação se realiza com uvas sem pele e ligeiramente esmagadas. Pelo contrário, através do método “de curtimenta”, comum aos vinhos tintos e rosés elaborados através do método tinto, dá-se a conservação dos pigmentos e dos taninos que se encontram nas uvas. Na **figura 1** encontra-se esquematizado o processo de produção de vinho para estas variedades.



Figura 1 - Etapas da produção de vinho e os seus subprodutos.

As principais etapas necessárias à produção de vinho, que começam com a vindima e terminam com o engarrafamento, são referidas de seguida.

Vindima

Processo que se baseia na colheita da uva para a vinificação. O momento da colheita difere de acordo com a temperatura climatérica, o grau de acidez, o teor de açúcar e o grau de maturação das uvas. Depois da colheita, permanecem na vinha os caules e folhas como subprodutos.

Transporte

O transporte tem que ser rápido e deve-se evitar o esmagamento das uvas, por forma a que não ocorra um início prematuro do processo de fermentação.

Receção

Com a chegada das uvas à adega, estas sofrem um processo de controlo de qualidade, retirando-se todas aquelas que não se encontram boas para a elaboração do vinho.

Desengace / Esmagamento

O desengace baseia-se na exclusão das frações lenhosas dos cachos de uva, levando à formação de um novo subproduto, o engaço (pedúnculos e ramificações dos cachos). Logo em seguida, dá-se o esmagamento das uvas que, consiste na rotura das películas dos bagos, havendo a libertação da polpa e do sumo.

Prensagem

A prensagem é o processo pelo qual se dá a separação entre o mosto (o suco) e a parte sólida (as peles e grainhas) através de uma prensa. Este processo deve ser realizado delicadamente, para que não suceda a libertação da acidez das grainhas e das peles durante a prensagem. Deste método advém um subproduto, o bagaço.

Decantação

Na decantação, efetua-se a exclusão das partes sólidas que ficam em suspensão após o processo de prensagem, para que desta forma as borras não confirmem aromas indesejados ao vinho.

Fermentação

A fermentação é o processo pelo qual o mosto passa a vinho, ou seja, o mosto apresenta na sua constituição leveduras que transformam o açúcar em álcool.

Transfega

Nesta etapa, o vinho é transferido para uma cuba limpa, separando-se desta forma das borras acumuladas no fundo.

Clarificação

A clarificação caracteriza-se pela eliminação de todas as impurezas que se encontram em suspensão no vinho, por forma a torná-lo mais límpido. Existem dois métodos de clarificação: a colagem e a filtração. No processo de colagem, introduz-se um produto clarificante, como a gelatina e o bentonite, que coagula e forma partículas que sedimentam, atraindo e arrastando desta forma as impurezas. A filtração é um processo mecânico, em que o vinho passa por um filtro, retendo desta forma as impurezas.

Engarrafamento

O engarrafamento resume-se ao enchimento de garrafas com o vinho, colocação da rolha, rótulo e selo de garantia (Infovini, 2014b; Matos, 2012).

2.4. Portugal e o vinho

Em Portugal, o vinho é um produto de elevado valor social, económico e cultural. De acordo com o Instituto da Vinha e do Vinho (IVV), em 2012/2013, houve um aumento da produção de vinho em Portugal de 9.2%, relativamente ao ano 2011/2012, equivalente a 6.14 milhões de hectolitros. Quanto à exportação, esta aumentou 4.5% até setembro de 2013, superando os 500 milhões de euros (Instituto da Vinha e do Vinho, 2013), o que representa umas das culturas mais relevantes em termos de geração de emprego e riqueza.

A espécie de videira mais cultivada em Portugal é a *Vitis vinifera* (Infovini, 2014b). Pertence à família *Vitaceae* e apresenta várias subespécies e variedades. O seu

cultivo requer regiões de clima temperado, com verões quentes e secos e invernos relativamente suaves mas com chuva suficiente, o que faz de Portugal o local indicado para a sua produção (Lardos e Kreuter, 2000).

O uso dos produtos da vinha em medicina tradicional como antisséticos, hipnóticos, estimulantes do apetite, anestésicos, para evitar náuseas, entre outros, é muito comum desde tempos antigos em várias localizações geográficas, como se verifica na **tabela 2** (Lardos e Kreuter, 2000; Yoo *et al.*, 2010)

Tabela 2 - Uso tradicional da videira em medicina (Adaptado de Lardos e Kreuter, 2000; Yoo *et al.*, 2010).

	Uso Médico	Localização geográfica
Uva	Laxativa Diurética Doenças do fígado ou rim	Inglaterra América
Sumo de rebentos jovens	Doenças dermatológicas Inflamação do olho	Europa
Raíz da videira	Diurética Antiemética	China
Óleo de semente de uva	Laxativo Neutralizador do ácido clorídrico Promotor da secreção biliar	Europa
Folhas da videira	Hemorroides hemorrágicas Varizes	Europa

Vulgarmente, o fruto é consumido como um suplemento dietético ou então processado em vinho, enquanto que as folhas e as sementes são utilizadas em fitoterapia (Çetin e Sađđýç, 2009; Lardos e Kreuter, 2000).

2.5. Composição da vinha

Os componentes primordiais da uva são água, açúcar e ácidos. Na **tabela 3** apresentam-se os principais constituintes da uva e a sua respetiva percentagem (Çetin e Sađđýç, 2009).

Tabela 3 - Composição da uva (adaptado de Çetin e Sađđýç, 2009).

Componentes	Quantidade
Água	81 - 87%
Hidratos de Carbono	12 - 18%
Proteínas	0.5 - 0.6%
Gorduras	0.3 – 0.4%
Potássio	0.1 – 0.2%
Vitamina C	0.01 – 0.02%
Vitamina A	0.001 – 0.0015%
Cálcio	0.01 – 0.02%
Fósforo	0.08 – 0.01%

O sabor, o odor e a cor do vinho são devidos a substâncias como os ácidos da fruta, os taninos e os pigmentos (Lardos e Kreuter, 2000). Do ponto de vista farmacológico, o principal grupo de substâncias presentes na videira são os polifenóis, que se dividem em duas famílias principais, os flavonoides e os não flavonoides, e estes por sua vez subdividem-se em outros subgrupos, como se pode verificar na **figura 2** (Çetin e Sađđýç, 2009; Lorrain *et al.*, 2013).

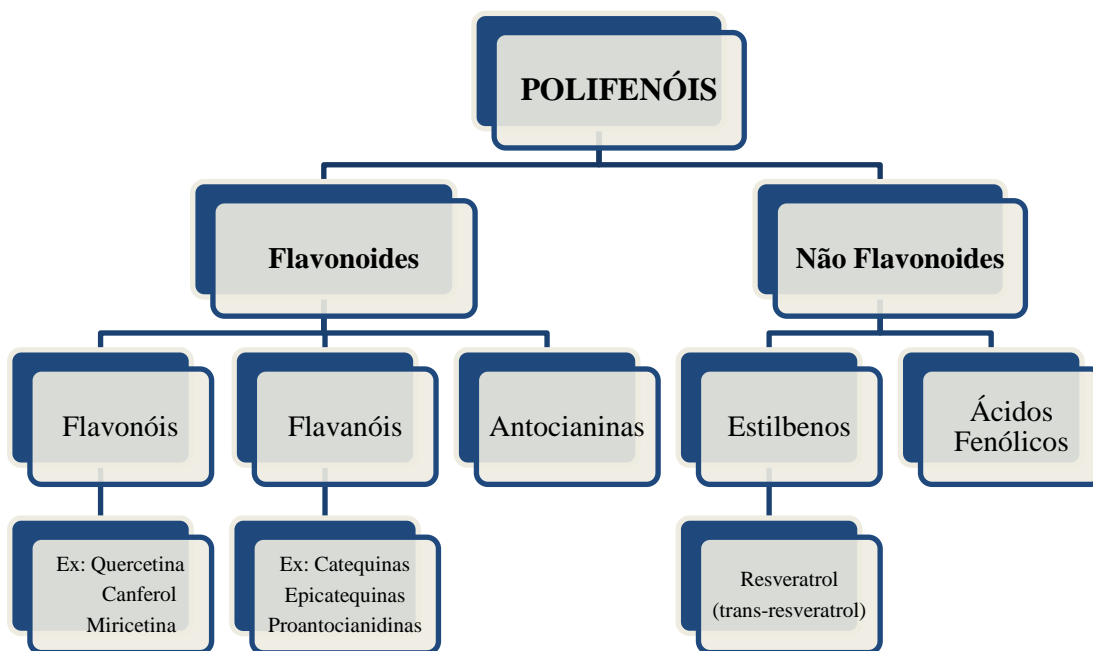


Figura 2 - Classes e subclasses de compostos fenólicos presentes na videira (adaptado de Anastasiadi *et al.*, 2012; Lardos e Kreuter, 2000).

Relativamente à estrutura, os compostos fenólicos podem ser simples e ter como base um único anel aromático de baixo peso molecular, ou podem ser complexos de elevado peso molecular, como os taninos ou as proantocianidinas condensadas (Lorrain *et al.*, 2013). Estes compostos contribuem para a estabilidade oxidativa e para as propriedades organolépticas que são essenciais para a qualidade de produtos alimentares derivados de plantas (Lorrain *et al.*, 2013).

Muitos destes compostos, como o resveratrol, a quercetina, as catequinas e as proantocianidinas, demonstram uma variedade de atividades biológicas, que abrangem as propriedades cardioprotetoras, anticancerígenas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, devido principalmente à sua atividade antioxidante e anti-radicalar (Lorrain *et al.*, 2013).

Na uva, apenas 10%, ou menos, de compostos fenólicos podem ser extraídos da polpa, da pele 28-35% e das sementes 60-70%, sendo que nestas últimas a concentração de polifenóis pode variar de 5% a 8% por peso (Çetin e Sađđýç, 2009). A distribuição dos compostos presentes na uva está bem estabelecida, como se pode verificar na **figura 3**; não obstante, ao longo do desenvolvimento da baga, a concentração em compostos fenólicos vai aumentando (Kennedy, 2008).

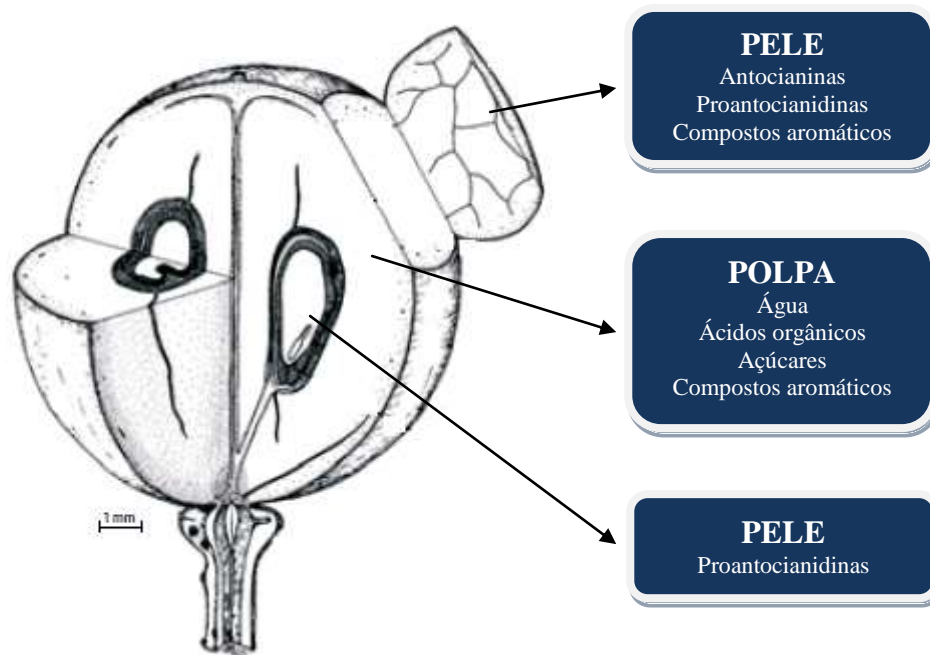


Figura 3 - Distribuição de diferentes compostos presentes na uva (adaptado de Kennedy, 2008).

No vinho tinto, a quantidade de polifenóis é seis vezes superior à existente no vinho branco, dado que o suco da uva tinta permanece por mais tempo em contato com as sementes e a pele das uvas (Yoo *et al.*, 2010). Os principais compostos fenólicos do vinho tinto são os taninos e as antocianinas, enquanto que os do vinho branco são ácidos fenólicos derivados dos ácidos hidroxicinâmicos e, em menor quantidade, podem-se considerar os flavanóis como os mais importantes (Kennedy, 2008).

2.5.1. Compostos de natureza flavonoide

Os flavonoides têm como estrutura base C₆C₃C₆, composta por três anéis (A, B e C), e representada na **figura 4** (Lorrain *et al.*, 2013).

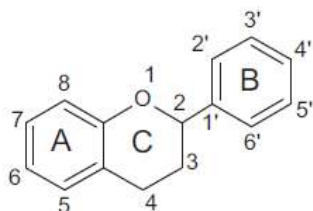


Figura 4 - Estrutura base dos flavonoides (Çetin e Sađđýç, 2009).

De acordo com o grau de insaturação do anel C e dos seus respetivos substituintes, os flavonoides podem ser divididos em várias classes, sendo os que se encontram maioritariamente presentes na constituição da vinha ou do vinho os flavonóis, os flavanóis e as antocianinas (Lorrain *et al.*, 2013).

Flavonóis

Os principais flavonóis presentes na uva são canferol, quercetina e miricetina, como se pode verificar na **figura 5** (Çetin e Sađđýç, 2009).

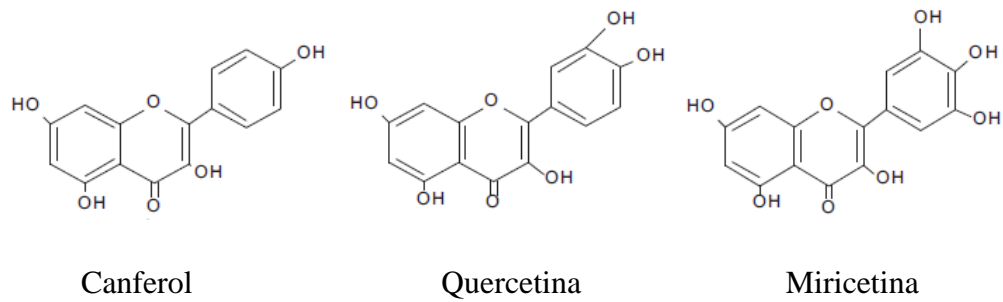


Figura 5 - Estrutura química dos principais flavonóis presentes na uva (adaptado de Çetin e Sađđýç, 2009).

Flavanóis

Dentro deste grupo complexo, os principais constituintes presentes na uva, são os monómeros catequinas e epicatequinas, e os oligómeros ou polímeros denominados proantocianidinas, representados na **figura 6**, sendo que estas últimas quando aquecidas em soluções ácidas libertam antocianidinas. A estrutura destas últimas varia de acordo com o grau de polimerização e com a posição da ligação dos monómeros (Çetin e Sađđýç, 2009; Lorrain *et al.*, 2013).

As folhas da videira são ricas em taninos do grupo das catequinas, sendo que a sua concentração nas mesmas depende da posição da folha na planta e da sua fase de desenvolvimento (European Medicines Agency, 2010; Lardos e Kreuter, 2000).

Por sua vez, as proantocianidinas estão presentes em todas as partes do cacho de uva, no entanto, as sementes são a sua principal fonte contendo aproximadamente 90% das mesmas (Çetin e Sađđýç, 2009; Lorrain *et al.*, 2013).

Antocianinas

As antocianinas são o maior grupo de pigmentos fenólicos, responsáveis pela coloração vermelha, roxa e azul dos frutos, folhas e flores. Folhas e frutos de cor vermelha têm uma maior concentração destes compostos (Bueno *et al.*, 2012; European Medicines Agency, 2010). Portanto, estão especialmente presentes nas peles das bagas em variedades tintas (Lorrain *et al.*, 2013).

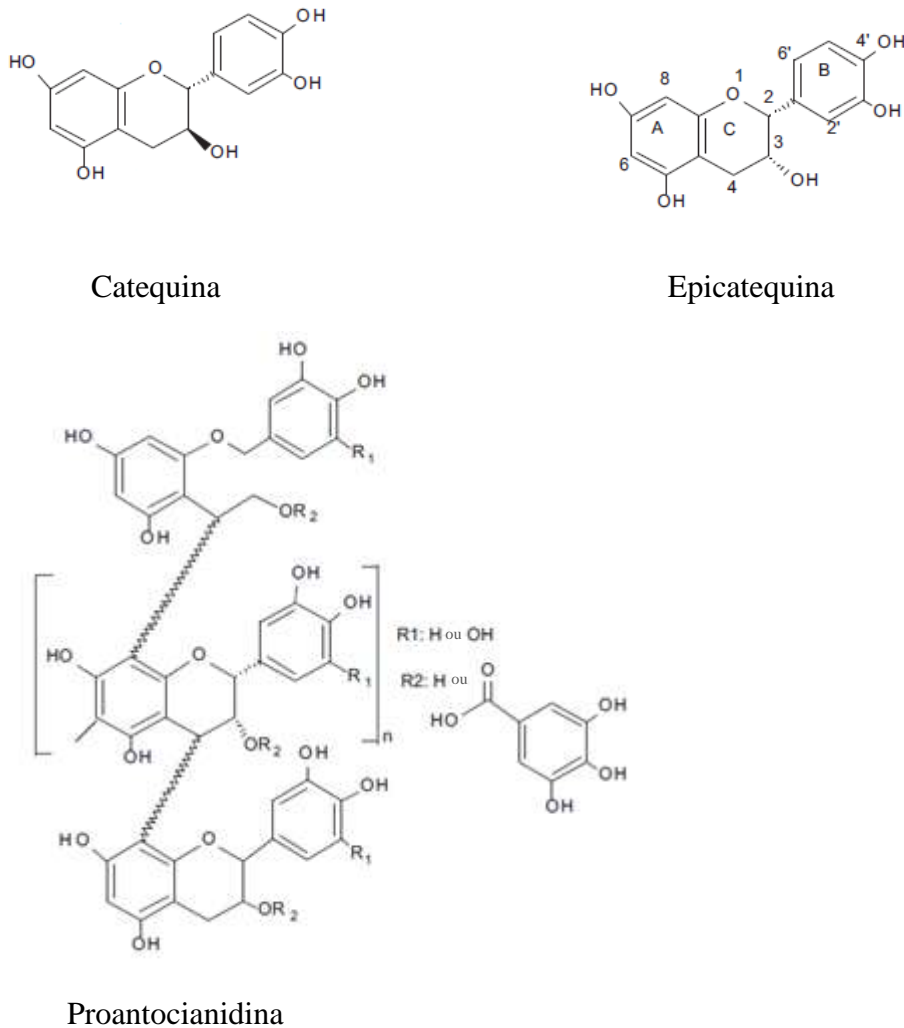
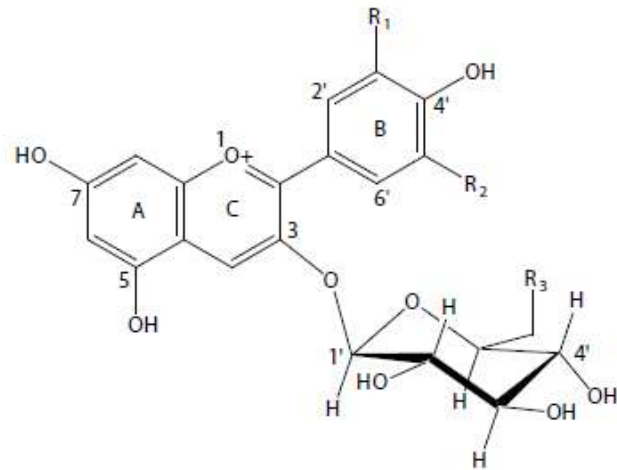


Figura 6 - Estrutura química dos principais flavanóis existentes na uva (adaptado de Çetin e Sađdyç, 2009).

Quanto à sua estrutura, as antocianinas apresentam dois anéis benzénicos ligados por um heterociclo catiónico oxigenado insaturado que, de acordo com o seu grau de glicosilação, dá origem a diferentes tipos de antocianinas, como é o caso da cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, como se observa na **figura 7** (Lorrain *et al.*, 2013).

Estas praticamente não manifestam qualquer tipo de toxicidade conhecida e são bastantes solúveis em água, revelando-se especialmente atrativas como substitutos naturais de pigmentos sintéticos e antioxidantes. Para além disto, as antocianinas podem ser utilizadas como marcadores para classificar vinhos, de acordo com a variedade da uva (Bueno *et al.*, 2012).



Grupo da antocianidina	R ₁	R ₂
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Substituintes do R₃:

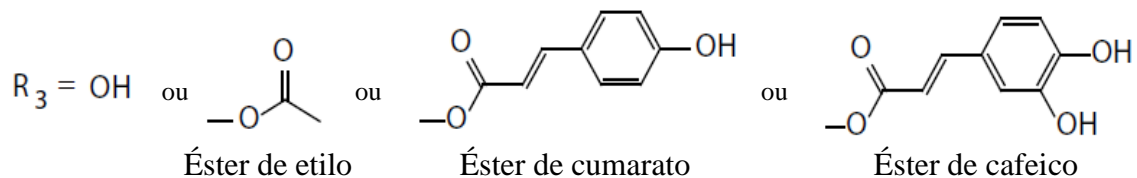


Figura 7 - Estruturas das diferentes antocianinas presentes na uva e no vinho (adaptado de Kennedy, 2008).

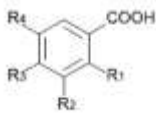
2.5.2. Compostos de natureza não flavonoide

Um subgrupo de compostos fenólicos não flavonoides presentes no vinho de uva e na videira são os ácidos fenólicos, compostos por apenas um anel aromático derivado dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico (Çetin e Sađđýç, 2009).

Os ácidos hidroxicinâmicos baseiam-se numa estrutura base C6-C3 e foram identificados em pequenas quantidades na sua forma livre, encontrando-se principalmente esterificados com o ácido tartárico. No entanto, os ácidos hidroxibenzóicos apresentam uma estrutura C6-C1, com um anel benzénico que, de

acordo com o substituinte, dá origem a ácidos diferentes como se pode observar na **figura 8** (Lorrain *et al.*, 2013).

Ácido Hidroxibenzóico



ácido p-hidroxibenzóico
 ácido protocatecuico
 ácido vanílico
 ácido gálico
 ácido siríngico

R1	R2	R3	R4
H	H	OH	H
H	OH	OH	H
H	OCH ₃	OH	H
H	OH	OH	OH
H	OCH ₃	OH	OCH ₃

ácido p-cumárico
 ácido cafeico
 ácido ferúlico
 ácido sinápico

Ácido Hidroxicinâmico

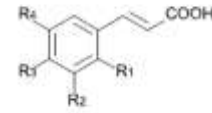


Figura 8 - Ácidos fenólicos presentes nas uvas e vinho (Adaptado de Lorrain *et al.*, 2013).

Uma outra classe de compostos não flavonoides são os estilbenos, sendo o resveratrol, mais propriamente o *trans*-resveratrol, representado na **figura 9**, o mais conhecido. Quanto à sua estrutura, compreende dois anéis aromáticos unidos por uma ponte $-\text{CH}=\text{CH}-$ (Çetin e Sađđýç, 2009). Este está presente em folhas que se encontram numa fase de *stress* provocado, por exemplo, por uma lesão, irritação por radiação ultravioleta ou infecção fúngica (European Medicines Agency, 2010).

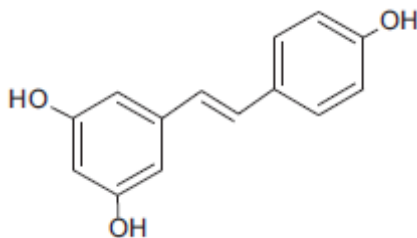


Figura 9 - Estrutura do *trans*-resveratrol (Çetin e Sađđýç, 2009).

2.6. Bioatividade dos compostos fenólicos do vinho de uva e da videira

O crescente interesse pelos compostos fenólicos presentes no vinho de uva e na videira deve-se ao facto das suas atividades antioxidantes, cardioprotetoras, anticancerígenas, anti-inflamatórias, anti envelhecimento e antimicrobianas, que trazem benefícios para a saúde pública.

2.6.1. Efeitos antioxidantes

As propriedades antioxidantes adjacentes de compostos químicos protegem as células do *stress* oxidativo, promovendo desta forma a saúde humana (Yoo *et al.*, 2010). As diferentes classes de compostos fenólicos presentes no vinho ou na videira demonstram um elevado potencial antioxidante, sendo esta a mais notável bioatividade, que consiste na proteção do organismo mediante o sequestro de radicais livres e na inibição da oxidação dos lípidos (Çetin e Sađđýç, 2009; Xia *et al.*, 2010; Yoo *et al.*, 2010).

O *stress* oxidativo, gerado pelos radicais livres, tem como principal alvo os lípidos celulares (Çetin e Sađđýç, 2009). Os radicais livres apresentam um eletrão não emparelhado, o que os torna muito reativos e prejudiciais. Por forma a ganharem estabilidade, atacam moléculas vizinhas para captarem um eletrão, mas geram outro radical livre. Pensa-se que este processo em cadeia colabora para a peroxidação lipídica, a degradação de proteínas e os danos no ácido desoxirribonucleico (ADN) (Yoo *et al.*, 2010).

O processo de peroxidação lipídica dos ácidos gordos polinsaturados origina como produtos primários os radicais alcóxilo e peróxilo que têm uma duração de vida curta e são extremamente reativos e, como produtos secundários, uma variedade de aldeídos, como o malondialdeído. A excessiva peroxidação lipídica das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e as alterações no metabolismo dos ácidos gordos estão relacionadas com doenças do foro cardiovascular, como agregação plaquetária e posterior trombose (Çetin e Sađđýç, 2009).

As células humanas sofrem continuamente ataques e danos pelos radicais livres que, ao longo do tempo, contribuem para o envelhecimento precoce e o aparecimento de várias patologias, como é o caso da artrite reumatoide, das doenças cardiovasculares, de alguns cancros, entre outros, como se pode verificar na **tabela 4** (Yoo *et al.*, 2010).

Tabela 4 - Exemplos de doenças em que a produção excessiva de radicais livres tem um papel importante (adaptado de Yoo *et al.*, 2010).

Localização	Doença
Articulações	Artrite reumatoide
Cérebro	Trauma Acidente vascular cerebral Doença de Parkinson Demência
Coração	Trombose coronária
Eritrócitos	Anemia de Fanconi Malária
Múltiplos órgãos	Toxicidade de medicamentos Sobrecarga de ferro Deficiências nutricionais Envelhecimento Cancro Doenças amiloides
Olho	Cataratogénese Danos degenerativos da retina
Pele	Queimaduras Psoríase Dermatite
Pulmão	Enfisema Hiperoxia
Rim	Síndrome nefrótico autoimune Nefrotoxicidade por metais pesados
Sistema gastrointestinal	Diabetes Pancreatite Lesão hepática por endotoxina Lesões induzidas por anti-inflamatórios não esteroides (AINES)
Vasos	Aterosclerose

A necessidade de proteger as células dos radicais livres leva o organismo a produzir antioxidantes endógenos, por forma a retardar ou interromper certas doenças. No entanto, se os danos provocados por estes radicais forem excessivos, pode não ser produzida uma quantidade suficiente de antioxidantes para os neutralizar, surgindo

então a necessidade do uso de antioxidantes exógenos complementares fornecidos pela dieta, por forma a combater estes prejuízos (Yoo *et al.*, 2010).

O método da inibição da oxidação não está devidamente documentado, mas pensa-se que os antioxidantes atuam através da quebra de ligações, de forma a eliminar os radicais lipídicos alcóxido e peróxido (Çetin e Sađđýç, 2009).

A determinação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos presentes no vinho de uva ou na videira pode ser obtido através diferentes métodos como: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), poder antioxidante de redução do ferro (FRAP), método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC) (Xia *et al.*, 2010).

Tabela 5 - Capacidade antioxidante dos extratos do vinho de uva e da videira (Adaptado de (Xia *et al.*, 2010).

Procedência	TEAC ^a	FRAP	DPPH	ORAC
bagaco de uva	0.91 g/L (EC ₅₀) ^b	-	0.20 g/L (EC ₅₀) ^b	-
semente de uva	-	-	>663 µmol TE/g	-
semente de uva sem gordura	36.36 mol TE/100 g	21.6 mol TE/100 g	-	-
semente na íntegra	76.3 mol TE/100 g	58.04 mol TE/100 g	-	-
semente de uva	-	-	16.8 para 92 mmol TE/g	42.18 mmol TE/g
pele de uva	-	-	15.7 para 113.3 mmol TE/g	36.40 mmol TE/g
semente de uva	281.3 µmol TE/g	-	-	-
folha da videira	236.1 µmol TE/g	-	-	-
pele de uva	12.8 µmol TE/g	-	-	-
polpa de uva	2.4 µmol TE/g	-	-	-
sumo de uva	25 mmol TE/g	32 mmol Fe ²⁺ /L	15 mmol TE/L	-
vinho de uva	-	8.8 µmol TE/g	22.9 para 26.7 µmol TE/g	-
vinho de uva	-	3.098 mg TE/L	70.7% inibição	10.724 µmol/L
^a Equivalente de Trolox (TE)				
^b metade da concentração máxima eficaz				

Xia *et al.* compilaram um conjunto de dados obtidos por diferentes autores, utilizando os diferentes métodos acima indicados para a determinação do poder antioxidante, como se pode ver na **tabela 5**. Estes autores concluíram que as sementes da uva são a parte da videira com uma maior capacidade antioxidante, seguindo-se a

pele e, minoritariamente, a polpa. A semente na íntegra tem sensivelmente o dobro da capacidade antioxidante da semente da uva que sofreu a extração do seu óleo. Não obstante, o sumo de uva, o vinho e o bagaço também são bons antioxidantes.

Os polifenóis presentes na semente de uva, principalmente as proantocianidinas, detêm uma maior atividade antioxidante, quando comparados com outros antioxidantes, como é o caso da vitamina E, vitamina C e β -caroteno. Estes compostos são 50 vezes mais potentes que a vitamina E e 20 vezes mais que a vitamina C (Çetin e Sađđýç, 2009). O consumo de 250 ml/dia de vinho tinto, durante dois meses, contribui para a diminuição do *stress* oxidativo na circulação e para o aumento expressivo da capacidade antioxidante (Yoo *et al.*, 2010).

Uma forma de prevenir os danos celulares e de contribuir, de certa forma, para a sua reparação é através da utilização dos compostos que sequestram os radicais livres, como referido anteriormente.

2.6.2. Efeitos cardioprotetores

A nível da comunidade científica é praticamente aceite que o consumo com moderação de vinho, principalmente vinho tinto, está associado a um papel importante na melhoria da saúde e a uma diminuição da incidência de doenças cardiovasculares (Yoo *et al.*, 2010).

Considera-se que a arteriosclerose é acelerada através da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), denominado como o “mau colesterol”. A acumulação dos produtos da oxidação das LDL pode dever-se aos níveis baixos de compostos antioxidantes no plasma. Os compostos fenólicos do vinho tinto, assim como das sementes das uvas, reduzem o risco de doenças cardiovasculares, uma vez que são facilmente absorvidos e ligam-se às LDL, protegendo-as desta forma da oxidação (Çetin e Sađđýç, 2009; Xia *et al.*, 2010; Yoo *et al.*, 2010).

Estudos em ratos demonstraram que baixas concentrações de proantocianidinas, provenientes da semente de uva, têm a capacidade de inibir a peroxidação lipídica. Um outro estudo em ratos e coelhos comprovou uma redução dos danos de isquemia/reperfusão através da suplementação com procianidinas, devido ao aumento

da atividade antioxidante no plasma. Também se confirmou uma diminuição da pressão arterial diastólica e sistólica em ratos hipertensos, após administração oral da pele da uva (Çetin e Sađđýç, 2009).

2.6.3. Efeitos anticarcinogénicos

Ao longo dos últimos anos, há muitas evidências de que os extratos da uva e os seus derivados têm propriedades anticancerígenas, devido à presença de antioxidantes, como as catequinas, as procianidinas, as antocianinas, entre outros, como se pode observar na **tabela 6** (Çetin e Sađđýç, 2009; Nandakumar *et al.*, 2008; Xia *et al.*, 2010).

Testes efetuados em tecido do fígado de ratos mostram que as proantocianidinas, presentes nas sementes das uvas, têm uma grande capacidade de proteção contra lesões provocadas pelo metotrexato e pela radioterapia, uma vez que aumentam a atividade enzimática antioxidante. Prova-se desta forma que os antioxidantes diminuem os efeitos adversos da radioterapia (Çetin e Sađđýç, 2009).

Hudson *et al.* comparou o resveratrol e extratos retirados da pele da uva e comprovou que ambos inibem o crescimento de células cancerígenas do cancro da próstata (Hudson *et al.*, 2007).

2.6.4. Efeito Anti-inflamatório

Foi recentemente relatado que compostos fenólicos provenientes das uvas apresentam um efeito protetor sobre a doença inflamatória, através da inibição da formação de radicais livres de oxigénio. Panico *et al.* verificaram *in vitro* o efeito anti-inflamatório de extratos de vinho de uva em condrócitos humanos, através da determinação da viabilidade celular e da produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), de óxido nítrico e prostaglandina 2 (PGE₂), substâncias que são libertadas durante eventos inflamatórios crónicos. Estes detetaram uma diminuição da concentração destas substâncias, corroborando o efeito anti-inflamatório destes extratos, que podem por isso ser úteis no tratamento de doenças associadas à degradação da cartilagem (Panico *et al.*, 2006).

Tabela 6 - Efeitos anticancerígenos dos polifenóis das uvas (adaptado de Xia *et al.*, 2010).

Polifenóis	Sujeito	Efeitos
Proantocianidinas	Linha de células do carcinoma mamário do rato	Inibição das metástases do cancro da mama
Antocianinas	Linhas celulares do cancro do cólon Biologia do tumor vascular	Indução do aumento da fragmentação do ADN Reparação e proteção da integridade do ADN genómico e retardamento do crescimento dos vasos sanguíneos em alguns tumores
Procianidinas, catequinas ou ácido gálico	Células do baço de ratos	Inibição dos danos do ADN induzidos pelo peróxido de hidrogénio
Catequinas	Linha de células do cancro da mama humano	Diminuição da viabilidade e proliferação celular com extrato de catequinas das sementes de uva a 30 e 60 µg/ml
Procianidinas	Linha de células do cancro da mama humano	Diminuição da viabilidade e proliferação celular com extrato de procianidinas das sementes de uva a 30 µg/ml, mas não a 60 µg/ml
Flavonas	Células do carcinoma do cólon humano	Redução da proliferação celular com um EC50 de 54.8±1.3 µmol/l de extrato de flavonas, indução da diferenciação e apoptose
Flavonoides	Células do carcinoma do cólon humano	Indução mais efetiva da apoptose do que como agente anti tumor
Resveratrol	Linha de células do cancro da próstata Células epiteliais mamárias humanas	Indução de efeitos apoptóticos e antiproliferativos a concentrações ≥ 15 µmol/l de resveratrol e acima de 24 horas Inibição da transcrição da ciclooxigenase-2

O principal mecanismo anti-inflamatório das proantocianidinas das sementes de uva é através da inibição de citocinas inflamatórias, tais como a interleucina 1 Beta (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α). Estas interagem com outros fatores inflamatórios como PGE₂, óxido nítrico e ROS, participando desta forma na formação e

desenvolvimento da artrite reumatoide. Segundo Wen-Guang *et al.*, uma concentração de 10 mg/Kg de proantocianidinas é suficiente para suprimir este processo (Wen-Guang *et al.*, 2001).

2.6.5. Efeitos Anti envelhecimento

Pensa-se que o envelhecimento se deve ao aumento da suscetibilidade dos efeitos a longo prazo do *stress* oxidativo e da inflamação. O consumo de compostos fenólicos presentes em frutas e legumes, como as uvas, com um alto poder antioxidante, pode ser benéfico para inverter o envelhecimento neuronal. Shukitt-Hale *et al.* observaram em ratos com idades compreendidas entre 19-21 meses que, após a toma de sumo de uva a uma concentração de 10%, houve melhorias no desempenho cognitivo, enquanto que o consumo de sumo de uva a 50% melhorava o desempenho da função motora, a qual depende do equilíbrio, coordenação e força (Shukitt-Hale *et al.*, 2006). Noutra pesquisa foi descoberto que a suplementação de 100 mg/Kg de extratos das sementes da uva, em ratos, durante 30 dias, teve a capacidade de inibir a acumulação dos danos do ADN oxidativo no tecido neuronal devido à idade (Balu *et al.*, 2005).

2.6.6. Efeitos antimicrobianos

Os compostos fenólicos presentes no vinho de uva ou na videira têm a capacidade de afetar o crescimento e o metabolismo de bactérias, de acordo com a sua concentração e constituição. Vaquero *et al.* demonstraram que os compostos fenólicos presentes no vinho de uva inibem o crescimento microbiano de bactérias Gram-positivas, *L. monocytogenes*. Esta atividade antimicrobiana cresce com o aumento da concentração dos polifenóis, sendo que os não-flavonoides (ácido cafeico) e os flavonoides (rutina e quercetina) são os compostos com maior atividade inibitória desta bactéria (Vaquero *et al.*, 2007).

Relativamente aos extratos da pele da uva branca, estes apresentam atividade antimicrobiana, tanto contra bactérias Gram-positivas, como Gram-negativas. Contudo, estes extratos são mais eficientes sobre bactérias Gram-negativas, como *Campylobacter*

e *Salmonella*, que são das principais causas de infecções bacterianas de origem alimentar em países desenvolvidos (Katalinic *et al.*, 2010).

2.7. Biodisponibilidade

Para que os compostos fenólicos exerçam um efeito benéfico sobre a saúde humana, pressupõem-se que estes têm de ser absorvidos.

García-Alonso *et al.* demonstraram que a rápida absorção dos polifenóis no plasma atinge o pico plasmático duas horas após a ingestão. Quando entram na corrente sanguínea, ligam-se aos lípidos, diminuindo desta forma a peroxidação destes últimos e desempenhando, por isso, um papel fundamental na prevenção de doenças cardiovasculares (García-Alonso *et al.*, 2006).

Os processos de absorção e digestão de compostos fenólicos no lúmen gastrointestinal são complexos e não se encontram bem esclarecidos. Considera-se que os compostos fenólicos são capazes de formar um quelato com o ferro. Este metal de transição participa na formação das ROS que estão relacionadas com várias patologias, como cancro e doenças cardiovasculares. Esta ligação dos antioxidantes flavonoides ao ferro altera o seu potencial redox, diminuindo assim a acessibilidade deste metal às moléculas de oxigénio, o que inibe o dano oxidativo (Khokhar e Apenten, 2003).

3. Potencial alimento funcional com base em extratos de vinho de uva ou de videira

A extração de compostos fenólicos da videira ou do vinho de uva é o primeiro passo deste processo. Posteriormente, e com base em técnicas cromatográficas e espectrofotométricas, realizam-se a separação adequada dos componentes fenólicos, a sua identificação e consecutiva quantificação.

A composição dos compostos fenólicos do vinho depende do tipo de uva, do processo de vinificação utilizado, do clima, do tipo de solo, da localização da vinha, da adição de dióxido de enxofre, da quantidade de água presente na videira, entre outros fatores. Portanto, o controlo da quantidade destes compostos é muito difícil de se realizar, mesmo quando se utilizam boas práticas vinícolas (Kennedy, 2008; Lorrain *et al.*, 2013; Yoo *et al.*, 2010).

Devido à longa história de consumo de compostos ativos derivados da vinha na dieta, como os flavonoides, e devido ao seu uso como medicamentos naturais, estes compostos são considerados seguros (Yoo *et al.*, 2010).

O conhecimento da composição química e das potenciais propriedades biológicas dos extratos do vinho de uva e da videira é essencial para a sua utilização na indústria alimentar. Em seguida, fazem-se sugestões de métodos e técnicas a utilizar para a produção, análise e propriedades bioativas do potencial alimento funcional à base de extratos de vinho de uva e da videira, tendo em conta toda a revisão bibliográfica efetuada.

3.1. Métodos de extração de compostos fenólicos presentes no vinho e seus derivados

Com a evolução dos diversos métodos analíticos consegue-se facilmente, hoje em dia, proceder à extração de compostos presentes nas uvas e seus derivados, assim como à análise da sua atividade biológica (Xia *et al.*, 2010). Segundo Lorrain *et al.*, alguns autores indicam que o vinho tanto pode primeiramente passar por uma fase de purificação, que traz vantagens na hora da separação/ quantificação/ identificação dos

seus constituintes bioativos, como ser diretamente analisado, sem sofrer qualquer tipo de preparação em especial (Lorrain *et al.*, 2013).

Em seguida, sugere-se um método de extração dos compostos fenólicos presentes nos produtos derivados da vinha.

3.1.1. Material vegetal

As folhas de *Vitis vinífera L.* devem ser secas ao ar livre, à sombra e à temperatura ambiente. De seguida, separam-se cuidadosamente os pecíolos das folhas secas e pulverizam-se a pó num moinho de alta velocidade (Katalinic *et al.*, 2013).

As peles e as sementes são removidas manualmente a partir das uvas, lavadas com água destilada, liofilizadas durante dois dias e, por fim, armazenadas a -20°C. De seguida, as peles e sementes congeladas são moídas até obtenção de pó (Chira *et al.*, 2009).

No vinho, os compostos fenólicos são extraídos durante os processos de prensagem e fermentação, quando o mosto (suco) está em contato com as sementes e a pele das uvas (Yoo *et al.*, 2010).

3.1.2. Extração dos polifenóis

Vários métodos são utilizados para proceder à extração destes componentes, podendo-se destacar a extração líquido-líquido, que é a mais frequentemente utilizada e que permite a recuperação de grandes quantidades de compostos fenólicos das uvas. Como principais solventes extratores, utilizam-se metanol, etanol, acetona ou ácido fórmico e água, em proporções distintas (Xia *et al.*, 2010).

Katalinic *et al.* efetuou a extração líquido-líquido dos compostos fenólicos presentes nas folhas de *Vitis vinífera L.* utilizando o solvente alcoólico etanol/água (80:20, v/v) (Katalinic *et al.*, 2013). Por sua vez, Chira *et al.*, para a extração dos compostos fenólicos presentes na pele e nas sementes da uva empregou este mesmo método, mas usando outros solventes, como acetona/água (80:20, v/v) e metanol/água (60:40, v/v) (Chira *et al.*, 2009).

Este método dispõe de uma alta recuperação de compostos fenólicos das uvas, contudo esta técnica pode trazer problemas relacionados com a manipulação de grandes quantidades de solventes orgânicos, que podem apresentar riscos para a saúde e para o ambiente (Xia *et al.*, 2010).

Ao longo dos últimos anos, várias técnicas de extração mais eficientes e amigas do ambiente foram desenvolvidas. Uma das técnicas mais amplamente explorada e utilizada, seja a nível laboratorial, seja a nível industrial, é a extração assistida por ultrassom, uma vez que o equipamento necessário é relativamente barato, simples de operar e de alta eficiência (González-Centeno *et al.*, 2015). Uma melhor extração pelo uso desta técnica é atribuída ao comportamento das bolhas formadas pela cavitação na propagação das ondas sonoras. De forma a aumentar a eficácia do processo de extração, existem vários mecanismos interligados por meio de ultrassons que originam uma melhor transferência de massa. O colapso das bolhas pode produzir efeitos químicos, físicos e mecânicos que levam à quebra celular, aumentando desta forma a permeabilidade do tecido e a libertação do material intracelular. Outro mecanismo advém do aumento da temperatura e pressão no local da implosão de bolhas, o que leva a uma melhoria da solubilidade dos analitos e da penetração do solvente. A micro transmissão gerada pelos ultrassons também permite uma maior difusão dos componentes (González-Centeno *et al.*, 2015; Oliveira, 2010).

3.2. Determinação dos compostos fenólicos

Vários métodos espectrofotométricos foram desenvolvidos para a quantificação de compostos fenólicos em material vegetal. O método mais rápido para estimar a quantidade total de compostos fenólicos é através da leitura da absorvância a 280 nm no vinho ou nos extratos vegetais da videira. Este método baseia-se na absorção dos anéis benzénicos presentes nos compostos fenólicos ao comprimento de onda de 280 nm. Este processo é vantajoso na medida em que é rápido e reprodutível. No entanto, alguns polifenóis, como os ácidos cinâmicos, não apresentam a sua máxima absorção a este comprimento de onda, e outras substâncias que possuem anel benzénico podem interferir na leitura (Lorrain *et al.*, 2013).

Um outro teste para a determinação do teor de compostos fenólicos no vinho de uva ou nos extratos da videira pode ser realizado pelo método colorimétrico do reagente de fenol segundo Folin-Ciocalteu que, devido às suas propriedades redutoras, atua sobre os polifenóis. Este método baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdico-fosfotúngstico a um complexo de compostos fenólicos de cor azul, em meio alcalino (Lorrain *et al.*, 2013). Como padrão utiliza-se o ácido gálico, sendo os compostos fenólicos expressos em equivalente do mesmo (GAE/g) (Prabhasankar *et al.*, 2009). Trata-se de um dos métodos mais antigos concebidos para determinar o teor total de componentes fenólicos em diversas matrizes vegetais, estando bem estabelecido e difundido (Fernandes *et al.*, 2013). Contudo, este método não é muito específico, dado que outros grupos fenólicos presentes em proteínas extraíveis ou substâncias redutoras, como o ácido ascórbico, podem participar na reação de redução (Herderich e Smith, 2005; Lorrain *et al.*, 2013).

Como métodos mais específicos existem o ensaio de vanilina, o índice p-dimetilaminocinamaldeído (DMACH) e o princípio de Bate-Smith para a determinação do teor de taninos. Os métodos da vanilina e DMACH baseiam-se na reação entre um reagente aldeído e os taninos, levando à formação de produtos coloridos. O ensaio de Bate-Smith, por sua vez, baseia-se na despolimerização dos taninos através da rutura das ligações intra-flavonóis em meio ácido aquecido (Lorrain *et al.*, 2013).

Um outro método para a caracterização e quantificação dos compostos fenólicos no vinho é a voltametria cíclica. Este método auxilia na caracterização de uma série de ácidos fenólicos e flavonoides, ácido ascórbico e metabissulfito de sódio, componentes que contribuem para as propriedades antioxidantes dos vinhos. Neste caso, o carbono vítreo é o melhor eletrodo, uma vez que tem a capacidade de minimizar as interferências do etanol, que se oxida em eletrodos metálicos inertes, como é o caso da platina e do ouro. A medição dos sinais voltamétricos a baixo potencial (500 mV) determina a presença de polifenóis com uma elevada atividade antioxidante, enquanto que os compostos de baixo poder antioxidante apresentam uma atividade eletroquímica a potenciais de oxidação mais elevados (1200 mV). Trata-se de uma técnica rápida e barata, após a compra do equipamento (Kilmartin *et al.*, 2001).

3.3. Separação e análise dos compostos fenólicos

A cromatografia líquida de alta resolução é muito utilizada para a separação e a quantificação de compostos fenólicos. Existe disponível uma variedade de suportes, colunas, detetores e fases móveis para a análise dos diferentes tipos de compostos antioxidantes, como é o caso das antocianinas, dos flavonóis, dos flavanóis, dos ácidos fenólicos e das procianinas (Lorrain *et al.*, 2013).

Neste método, os polifenóis são identificados de acordo com os seus tempos de retenção e são quantificados utilizando curvas de calibração com padrões externos (Katalinic *et al.*, 2013).

Os vinhos podem ser diretamente injetados sem qualquer preparação especial, para além da filtração. Quanto aos extratos da uva, sob a forma de pó, antes de os injetar, é necessário dissolvê-los num solvente adequado e filtrá-los (Lorrain *et al.*, 2013).

O método mais utilizado para a separação e análise de antocianinas e outros compostos fenólicos, como as proantocianidinas, flavonóis e ácidos fenólicos, é a cromatografia líquida de alta resolução de fase reversa (HPLC-RP) (Lorrain *et al.*, 2013; Ranilla *et al.*, 2009).

3.4. Propriedades antioxidantes

As propriedades antioxidantes dos extratos do vinho de uva e da videira podem ser determinados através da capacidade de remoção do radical DPPH e pela redução do ferro pelo método FRAP.

3.4.1. Método do radical DPPH

Este método baseia-se na reação entre o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e moléculas que têm capacidade de doar átomos de hidrogénio, como é o caso da maioria dos compostos antioxidantes. Como consequência, obtém-se uma forma não estável de radical DPPH, resultando numa alteração da cor violeta para amarelo pálido, devido ao grupo de picrilo presente na solução. A atividade antioxidante de um extrato é

tanto maior, quanto mais rápida a descoloração da solução de DPPH, sendo que esta diminuição da absorvância se mede a 517 nm. A percentagem de inibição do radical DPPH (% Inh DPPH) após a adição de amostras individuais é calculada de acordo com a seguinte equação (Katalinic *et al.*, 2013):

$$\% \text{ Inh DPPH} = 100 (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}$$

Trata-se de um teste simples, rápido e muito utilizado, que fornece informações sobre a atividade antioxidante, mais concretamente sobre a capacidade de prevenir que espécies reativas de oxigénio alcancem biomoléculas, como lipoproteínas ou ácidos gordos polinsaturados, em sistemas biológicos e alimentares (Katalinic *et al.*, 2013).

3.4.2. Avaliação do poder redutor (FRAP)

O método FRAP baseia-se na redução do complexo ferro-tripiridil-triazina, (Fe(III))-(TPTZ), à sua forma ferrosa, desenvolvendo uma cor azul intensa com absorção máxima a 700 nm. A mudança na absorvância está relacionada com a presença de antioxidantes com eletrões dadores na mistura. Quanto maior o valor da absorvância, maior é a capacidade redutora (Katalinic *et al.*, 2013).

O método FRAP reconhece compostos com potencial redox inferior a 0.7 V, que é o caso do (Fe(III))-(TPTZ). Contrariamente ao método DPPH, que inclui várias reações, o FRAP baseia-se numa única reação completa de transferência de eletrões, não podendo detetar compostos que atuam por transferência de átomos de hidrogénio (Katalinic *et al.*, 2013).

3.5. Atividade antimicrobiana

Várias estirpes microbianas foram avaliadas quanto à sua susceptibilidade aos compostos presentes nos extratos da uva e da videira. Por exemplo, kjbvksbdkv selecionou os seguintes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*, que são conhecidos por causar doenças transmitidas por alimentos; *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria resistente a vários antibióticos; e *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, que são os principais fungos responsáveis por

infecções fúngicas invasivas na corrente sanguínea, uma importante causa de mortalidade em pacientes imunocomprometidos (Oliveira *et al.*, 2013).

Oliveira *et al.* sugeriram para análise destes microorganismos o método de difusão em agar que se baseia na inoculação das suspensões microbianas numa superfície de agar. Em seguida, perfuram-se nesta superfície extratos de uva e de óleo de bagaço. Por fim, procede-se à incubação das placas para posterior exame do efeito de inibição. Um resultado é considerado positivo se apresentar uma zona de inibição (tamanho do halo) igual ou superior a 9 mm à volta dos furos, sendo indicativo da presença de substâncias antimicrobianas nos extratos testados (Oliveira *et al.*, 2013).

3.5.1. Método da microdiluição

Para análise da atividade antibacteriana sugere-se o método da microdiluição, utilizado por vários autores em diferentes extratos da vinha, nomeadamente na folha da videira e na pele da uva (Katalinic *et al.*, 2010; Katalinic *et al.*, 2013; Orhan *et al.*, 2009), que se baseia na determinação da quantidade mínima de substância necessária para inibir o crescimento bacteriano, sendo que este valor se denomina concentração mínima inibitória (MIC) (Orhan *et al.*, 2009). A MIC é expressa em mg de GAE / ml de compostos fenólicos (Özçelik *et al.*, 2005).

Katalinic *et al.* determinaram a MIC através deste método, por inserção de extrato da pele da uva numa microplaca de 96 poços. A concentração mínima inibitória foi então calculada a partir da concentração mais baixa, após 24 horas com base num sinal de bioluminescência medido por um leitor de microplacas (Katalinic *et al.*, 2010).

3.6. Desenvolvimento de uma massa enriquecida com compostos fenólicos provenientes da uva, da videira ou seus derivados

Ao longo do tempo, o número de patologias causadas por dietas inadequadas aumentou, criando um novo nicho de mercado preocupado com a alimentação e com a procura de alimentos saudáveis, que possam prevenir doenças. Desta forma, o interesse por parte da indústria alimentar pelo desenvolvimento de produtos que inibam ou previnam doenças tem crescido.

Um dos objetivos da elaboração deste alimento funcional é aumentar a quantidade de compostos promotores de saúde, de forma a conseguir atingir a quantidade adequada dos mesmos para o organismo humano.

3.6.1. A massa

A massa é um alimento essencial em muitos países. Devido ao seu elevado teor em hidratos de carbono é usado especialmente como fonte de energia. Apresenta também na sua constituição uma pequena quantidade de proteínas com baixo teor do aminoácido essencial lisina. A massa é considerada um excelente veículo para a suplementação com proteínas, minerais e outros componentes promotores de saúde, passíveis de serem incorporados na sua formulação, sendo desta forma projetada como um alimento funcional (Borneo e Aguirre, 2008; Hernández-Nava *et al.*, 2009).

Nesta monografia propõe-se aumentar a qualidade nutricional das massas de farinha de trigo, através da adição de compostos fenólicos presentes nos extratos do vinho de uva ou da videira.

Ingredientes

Tabela 7 - Formulação de uma massa com extratos de uva e seus derivados secos. ^a

Ingredientes	Quantidade (g)
Farinha de trigo	1000
Extratos de uva e seus derivados secos ^b	250
Ovos ^c	160
Sal	20
Água destilada	q.b.

^a Água destilada adicionada para alcançar a consistência adequada para a produção de massas (aproximadamente 33-35 g de água / 100 g farinha)

^b Ver secção 3.1

^c Partir um ovo inteiro e homogeneizar a clara com a gema, sendo esta a mistura a utilizar

Procedimento para a elaboração da massa

Adicionam-se todos os componentes secos da fórmula (farinha de trigo, extratos de uva ou seus derivados secos e o sal – ver **tabela 6**) num misturador automático de bancada e homogeneizam-se a velocidade lenta, até obtenção de uma mistura uniforme. Depois, adicionam-se os ovos inteiros líquidos e a água destilada até ganhar a consistência adequada para a laminação. De seguida, divide-se a massa à mão em tamanhos apropriados e passa-se por um laminador até à espessura final que se pretende obter. Alternativamente, pode-se passar a massa por uma máquina extrusora, sendo depois cortada à temperatura ambiente e à pressão atmosférica ou sob vácuo. Posteriormente, a massa é seca num secador com diferentes ciclos de secagem (Borneo e Aguirre, 2008; Boroski *et al.*, 2011; Hernández-Nava *et al.*, 2009).

Muitos autores, como por exemplo Boroski *et al.* e Gallegos-Infante *et al.*, utilizaram sêmola em vez de ovo na produção da massa, sendo portanto uma outra alternativa para a composição deste produto (Boroski *et al.*, 2011; Gallegos-Infante *et al.*, 2012).

3.6.2. Análise de parâmetros físicos e químicos

Após o desenvolvimento da massa, esta tem de passar por uma análise rigorosa, por forma a comprovar a sua boa ou má qualidade alimentícia.

Os principais parâmetros a analisar são:

- *Composição química*: análise do conteúdo em hidratos de carbono, proteínas, lípidos, cinzas e humidade;
- *Diâmetro, densidade e cor*: sendo que a cor da massa é um parâmetro de qualidade que apresenta relação direta com a sua aceitabilidade;
- *Testes de cozimento*: tempo de cozimento, ganho de peso e aumento de volume, perda de sólidos solúveis ou resíduo na água de cozimento, textura (firmeza);
- *Avaliação sensorial*: a massa cozida passa por um painel de provadores que realiza uma avaliação com base numa escala de classificação

(Boroski *et al.*, 2011; Chang e Flores, 2004; Hernández-Nava *et al.*, 2009).

Sugere-se que estes métodos devem seguir as condições aprovadas, por exemplo, pela *American Association of Cereal Chemists*.

Não obstante, como o objetivo deste projeto é sugerir uma massa à base de extratos do vinho de uva ou da videira, é crucial determinar as propriedades antioxidantes da massa, por forma a estimar a quantidade de compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante total, entre outros ensaios antioxidantes *in vitro*, investigando também se os compostos bioativos presentes não são destruídos durante o processo de desenvolvimento e cozedura. O estudo da atividade antioxidante pode ser realizado através dos métodos do radical DPPH e do FRAP, a diferentes concentrações de extratos de vinho de uva ou da videira.

4. Conclusão

O mercado dos alimentos funcionais tem aumentado ao longo dos últimos anos, assim como o interesse das pessoas pela sua saúde, bem-estar e esperança de vida. O sucesso deste tipo de produto depende do gosto de cada indivíduo, da conveniência, da forma convencional de alimento e de ter um preço competitivo. A massa enriquecida com compostos fenólicos extraídos do vinho de uva ou das diferentes partes da videira corresponde a estes critérios.

As uvas e os seus derivados já são consumidos desde há sensivelmente dois milhões de anos. Vários estudos demonstram que o seu consumo tem efeitos positivos sobre a saúde humana, principalmente relacionados com o seu efeito antioxidante, anti envelhecimento e cardioprotetor. Os extratos de vinho de uva e da videira apresentam toxicidade mínima e uma ampla janela terapêutica para intervenções eficazes. Estes benefícios na saúde são devido aos compostos bioativos que possuem, mais concretamente os polifenóis, como as antocianinas, flavonóis, flavanóis, resveratrol, entre outros. Estes compostos estão portanto intimamente relacionados com a prevenção de doenças e a promoção de saúde pública, tornando-os uma mais-valia no campo da indústria alimentar.

Uma massa rica em compostos antioxidantes provenientes de extratos de vinho de uva e da videira poderia ser um exemplo de um alimento funcional de valor acrescentado, podendo mesmo incorporar extratos de baixo custo provenientes dos subprodutos do vinho, como as sementes e as folhas.

Contudo, seria necessário elaborar vários estudos, de forma a comprovar se realmente é possível o fabrico deste alimento funcional, pondo em prática este projeto e avaliando se os procedimentos propostos, desde a extração dos compostos bioativos até ao desenvolvimento da massa, seriam exequíveis.

1. Bibliografia

- Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A.-L. e Haroutounian, S. (2012). Grape stem extracts: polyphenolic content and assessment of their *in vitro* antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 48, pp. 316 - 322.
- Balu, M., Sangeetha, P., Murali, G. e Panneerselvam, C. (2005). Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats. *Brain Research Bulletin*, 68, pp. 469-473.
- Bech-Larsen, T. e Scholderer, J. (2007). Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 18, pp. 231 - 234.
- Bento, O. (2008). Alimentos Funcionais - um mercado em expansão? *I Encontro Luso-Angolano de Economia, Sociologia e Desenvolvimento Rural. Universidade de Évora*, pp. 321-333.
- Bianchi, M. e Antunes, L. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*, 12, pp. 123-130.
- Borneo, R. e Aguirre, A. (2008). Chemical composition, cooking quality, and consumer acceptance of pasta made with dried amaranth leaves flour. *LWT - Food Science and Technology*, 41, pp. 1748-1751.
- Boroski, M., Aguiar, A., Boeing, J., Rotta, E., Wibby, C., Bonafé, E., Souza, N. e Visentainer, J. (2011). Enhancement of pasta antioxidant activity with oregano and carrot leaf. *Food Chemistry*, 125, pp. 696-700.
- Bueno, J., Sáez-Plaza, P., Ramos-Escudero, F., Jiménez, A., Fett, R. e Asuero, A. (2012). Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: chemical structure, color, and intake of anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42, pp. 126-151.
- Çetin, A. e Sađđýç, O. (2009). A concise review: antioxidant effects and bioactive constituents of grape. *Erciyes Medical Journal*, 31, pp. 369-375.

Chang, Y. e Flores, H. (2004). Qualidade tecnológica de massas alimentícias frescas elaboradas de semolina de *Trigo Durum* (T. durum L.) e farinha de trigo (T. aestivum L.). *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, 24, pp. 487-493.

Chira, K., Schimauch, G., Saucier, C., Fabre, S. e Teissedre, P.-L. (2009). Grape Variety Effect on Proanthocyanidin Composition and Sensory Perception of Skin and Seed Tannin Extracts from Bordeaux Wine Grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two Consecutive Vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 545-553.

Crowe, K. e Francis, C. (2013). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Functional Foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 113, pp. 1096-1103.

Eubusiness. *List of permitted Health Claims on food products - guide* [Em linha]. Disponível em <http://www.eubusiness.com/topics/food/nuhclaims-guide/> [Consultado em 3/06/2014].

European Commission 2010. Functional food.

European Food Information Council. *A rotulagem dos alimentos e as alegações nutricionais e de saúde* [Em linha]. Disponível em <http://www.eufic.org/article/pt/artid/rotulagem-dos-alimentos-alegacoes-nutricionais-saude/> [Consultado em 16/06/2014].

European Food Safety Authority. *Nutrition and health claims* [Em linha]. Disponível em <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/nutrition.htm> [Consultado em 16/06/2014].

European Medicines Agency 2010. Assessment report on *Vitis vinifera* L., folium.

European Commission 2008. Functional food in the European Union. *In*: Stain, A. e Rodríguez-Cerezo, E. (eds.). European Commission.

Fernandes, F., Ramalhosa, E., Pires, P., Verdial, J., Valentão, P., Andrade, P., Bento, A. e Pereira, J. (2013). *Vitis vinifera* leaves towards bioactivity. *Industrial Crops and Products*, 43, pp. 434-440.

Gallegos-Infante, J., Rivas, M., Chang, S., Manthey, F., Yao, R., Reynoso-Camacho, R., Rocha-Guzmán, N., Rubén e González-Laredo, F. (2012). Effect of the addition of common bean flour on the cooking quality and antioxidant characteristics of spaghetti. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2, pp. 730-744.

García-Alonso, J., Ros, G., Vidal-Guevara, M. L. e Periago, M. J. (2006). Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Nutrition Research*, 26, pp. 330-339.

González-Centeno, M., Comas-Serra, F., Femenia, A., Rosselló, C. e Simal, S. (2015). Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): experimental kinetics and modeling. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, pp. 506-514.

Hasler, C. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges - A position paper from the American Council on science and health. *The American Society for Nutritional Sciences*, 132, pp. 3772-3781.

Hasler, C. e Brown, A. (2009). Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 109, pp. 735-746.

Health Canada (1998). Police paper - Nutraceuticals/Functional foods and health claims on foods. pp. 1-29.

Herderich, M. e Smith, P. (2005). Analysis of grape and wine tannins: methods, applications and challenges. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, pp. 205-214.

Hernández-Nava, R., Berrios, J., Pan, J., Osorio-Díaz, P. e Bello-Pérez, L. (2009). Development and characterization of spaghetti with high resistant starch content supplemented with banana starch. *Food Science and Technology International*, 15, pp.

Hudson, T., Hartle, D., Hursting, S., Nunez, N., Wang, T., Young, H., Arany, P. e Green, J. (2007). Inhibition of prostate cancer growth by muscadine grape skin extract and resveratrol through distinct mechanisms. *American Association for Cancer Research*, 67, pp. 8396-8405.

Infovini (2009) *História* [Em linha]. Disponível em <http://www.infovini.com/pagina.php?codNode=18094#tab0> [Consultado em 17/07/2014].

Infovini (2014) *Cultura da vinha* [Em linha]. Disponível em <http://www.infovini.com/classic/pagina.php?codPagina=7> [Consultado em 20/06/2014] (a).

Infovini (2014) *Videira* [Em linha]. Disponível em http://www.infovini.com/classic/pagina.php?codPagina=52&codItem=117#_submenu [Consultado em 17/07/2014] (b).

Instituto Da Vinha E Do Vinho, I. P. *A Vinha e o Vinho em Portugal* [Em linha]. Disponível em <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/91.html> [Consultado em 26/06/2014].

Instituto Da Vinha E Do Vinho, I. P. *Informação do mercado* [Em linha]. Disponível em <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/433> [Consultado em 26/06/2014].

Katalinic, V., Mozina, S., Generalic, I., Skroza, D., Ljubenkovic, I. e Klancnik, A. (2013). Phenolic profile, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of leaf extracts from six *Vitis vinifera* L. varieties. *International Journal of Food Properties*, 16, pp. 45-60.

Katalinic, V., Mozina, S., Skroza, D., Generalic, I., Abramovic, H., Miloš, M., Ljubenkovic, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpin, P. e Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, 119, pp. 715-723.

Kennedy, J. (2008). Grape and wine phenolics: observations and recent findings. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 35, pp. 107-120.

Khokhar, S. e Apenten, R. (2003). Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure–activity relations. *Food Chemistry*, 81, pp. 133-140.

Kilmartin, P., Zou, H. e Waterhouse, A. (2001). A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp. 1957-1965.

Lardos, A. e Kreuter, M. (2000). Red vine leaf. *R & D Department*, pp. 1-7.

- Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L. e Teissedre, P.-L. (2013). Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts. *Molecules*, 18, pp. 1076 - 1100.
- Matos, B. 2012. *Valorização de subprodutos da vinha e do vinho: impacto do tempo e métodos de preservação nas suas características*. ISEP.
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, pp. 181 - 188.
- Ministry of Health Labour and Welfare Japan. *Food for Specified Health Uses* [Em linha]. Disponível em <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html> [Consultado em 27/05/2014].
- Monagas, M., Hernandez-Ledesma, B., Gómez-Cordovés, C. e Bartolomé, B. (2006). Commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. leaves and grape skins: antioxidant and chemical characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp. 319-327.
- Moraes, F. e Colla, L. (2006). Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 3, pp. 109-122.
- Nandakumar, V., Singh, T. e Katiyar, S. (2008). Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins. *Cancer Letters*, 269, pp. 378-387.
- Oliveira, D. 2010. *Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (Vitis vinifera) das variedades Merlot e Syrah*. Pós-Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Oliveira, D., Salvador, A., Jr., A. S., Smânia, E., Maraschin, M. e Ferreira, S. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, 164, pp. 423-432.
- Oliveira, H. e Cardoso, P. (2010). Atitudes e hábitos de consumo de alimentos funcionais - um estudo exploratório. *Cadernos de Estudos Mediáticos*, 7, pp. 83-94.
- Orhan, D., Orhan, N., Özçelik, B. e Ergun, F. (2009). Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. *Turkish Journal of Biology*, 33, pp. 341-348.

- Özçelik, B., Orhan, D., Karaoglu, T. e Ergun, F. (2005). Antimicrobial activities of various *Cirsium hypoleucum* extracts. *Annals of Microbiology*, 55, pp. 135-138.
- Panico, A., Cardile, V., Avondo, S., Garufi, F., Gentile, B., Puglia, C., Bonina, F., Santagati, N. e Ronsisvalle, G. (2006). The in vitro effect of a lyophilized extract of wine obtained from Jacquez grapes on human chondrocytes. *Phytomedicine*, 13, pp. 522-526.
- Prabhasankar, P., Ganesan, P., Bhaskar, N., Hirose, A., Stephen, N., Gowda, L., Hosokawa, M. e Miyashita, K. (2009). Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: chemical, functional and structural evaluation. *Food Chemistry*, 115, pp. 501-508.
- Ranilla, L., Genovese, M. e Lajolo, F. (2009). Effect of different cooking conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of some selected brazilian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 5734-5742.
- Reportlinker. *Functional Food Industry Market Research & Statistics* [Em linha]. Disponível em <http://www.reportlinker.com/ci02036/Functional-Food.html> [Consultado em 4/09/2014].
- Richardson, D. (2005). The scientific substantiation of health claims with particular reference to the grading of evidence. *European Journal of Nutrition*, 44, pp. 319-324.
- Ross, J. e Kasum, C. (2002). Dietary Flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22, pp. 19-34.
- Saad, S. (2006). Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42, pp. 1-16.
- Schneeman, B. (2007). FDA's review of scientific evidence for health claims. *The Journal of Nutrition*, 137, pp. 493-494.
- Shukitt-Hale, B., Carey, A., Simon, L., Mark, D. e Joseph, J. (2006). Effects of Concord grape juice on cognitive and motor deficits in aging. *Nutrition*, 22, pp. 295-302.
- Vaquero, M., Alberto, M. e Nadra, M. (2007). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18, pp. 587-593.

Vergari, F., Tibuzzi, A. e Basile, G. (2010). An overview of the functional food market: From Marketing Issues and Commercial Players to Future Demand from Life in Space. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 698, pp. 308-321.

Wen-Guang, L., Xiao-Yu, Z., Yong-Jie, W. e Xuan, T. (2001). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol Sin*, 22, pp. 1117-1120.

Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J. e Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, pp. 622-646.

Yoo, Y., Saliba, A. e Prenzler, P. (2010). Should red wine be considered a functional food? *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9, pp. 530-551.