

Joana Miguel Leite Duarte Valente

## **Subprodutos Alimentares: Novas Alternativas e Possíveis Aplicações Farmacêuticas**



Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2015



Joana Miguel Leite Duarte Valente

# **Subprodutos Alimentares: Novas Alternativas e Possíveis Aplicações Farmacêuticas**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2015

# **Subprodutos Alimentares: Novas Alternativas e Possíveis Aplicações Farmacêuticas**

---

*Joana Miguel Leite Duarte Valente*

Projeto de Pós Graduação apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:** Prof. Doutora Ana Cristina Mendes Ferreira da Vinha

**Subprodutos Alimentares: Novas Alternativas e Possíveis Aplicações  
Farmacêuticas**

## Resumo

---

As indústrias agroalimentares produzem anualmente grandes quantidades de resíduos cuja valorização é mínima ou nula. Atualmente sabe-se que apenas uma pequena parte é reaproveitada para a alimentação direta de animais ou para compostagem. Tendo em conta que esses resíduos contêm importantes teores de nutrientes e de compostos bioativos, são aqui referidas algumas vias alternativas de aproveitamento desses subprodutos, nomeadamente para a indústria farmacêutica. Esta estratégia de gestão de resíduos, para além de valorizar fortemente um subproduto, diminui consideravelmente a carga poluente resultante da atividade agroindustrial.

A sustentabilidade é um conceito bastante complexo que se resume no desenvolvimento económico e social, sem provocar grandes danos ao ambiente e aos recursos naturais. Atualmente existem inúmeros casos de aproveitamento e consequente valorização de materiais que no passado eram rejeitados pelas indústrias agroalimentares e que devem servir de exemplo para todos os processos de produção alimentar, potenciando outras indústrias, como a farmacêutica.

Assim, a utilização de recursos subaproveitados, com o objetivo de aumentar a produtividade e criar riqueza, terá de merecer, cada vez mais, maior atenção. A nível nacional, os setores mais importantes são os da vitivinícola, produção de azeite, setor cervejeiro, produção de frutas e hortaliças e de torrefação do café.

Atendendo a este mercado emergente, neste trabalho tentou-se caracterizar os resíduos alimentares que apresentam maior impacto ambiental, social e económico, através de uma descrição detalhada da caracterização química e propriedades biológicas dos constituintes químicos presentes nestes resíduos e que podem beneficiar a indústria farmacêutica.

**Palavras-chave:** Resíduos agroalimentares; Compostos químicos; Propriedades biológicas; Indústria de torrefação do café; Indústria vitivinícola; Indústria do azeite; Indústria de Frutas e hortícolas; Indústria farmacêutica.

## Abstract

---

Each year, the agri-food industries produce large amounts of waste, which are often discarded. Only a minor percentage is usually used for animal feeding or for composting. As this waste contains important amounts of nutrients and bioactive compounds, routes for their recovery and valorization are here identified, in particular to pharmaceutical industry. The adoption of such strategy of waste management also results in a strong decrease of its pollution burden.

Sustainability is a complex concept that can be explained as the economic and social development without causing significant damages to the environment and natural resources. Currently there are many cases reporting the use and valorization of materials that were rejected by the food industries and this should be an example for all food producing processes, enhancing other industries, as the pharmaceutical industry.

Thus, the use of underutilized resources, in order to increase productivity and create wealth, must have to earn increasingly greater attention. At the national level the most important sectors are the wine, olive oil, beer industry, fruits and vegetables production and coffee roasting.

In view of this emerging market, this study attempted to characterize the main food waste with the greatest environmental, social and economic impact, through a detailed description of the chemical and biological properties that many of the chemical constituents present in these residues may provide in the pharmaceutical industry.

**Keywords:** Agri-food wastes; Chemical compounds; Biological properties; Coffee roasting industry; Wine industry; Olive oil industry; Fruits and vegetables Industries; Pharmaceutical industry.

## **Agradecimentos**

---

À Professora Doutora Ana Vinha,

Pela sua total disponibilidade, pela extrema paciência e por ter escutado sempre as minhas dúvidas.

Ao meu esposo e filhas,

Pela motivação, pelo carinho incondicional e por serem exemplos de coragem.

Aos meus pais,

Pelo apoio dado durante estes últimos cinco anos.

Aos meus amigos,

Por todo os bons momentos passados e pela vossa amizade.

A todos o meu muito obrigado.

## Índice

---

<b>Resumo</b>	i
<b>Abstract</b>	ii
<b>Agradecimentos</b>	iii
<b>Índice de Figuras</b>	vi
<b>Índice de Tabelas</b>	vii
<b>Abreviaturas</b>	viii
<b>Introdução</b>	1
<b>1. Revisão bibliográfica</b>	3
1.1. Sustentabilidade	3
1.2. Subprodutos agroindustriais	4
1.3. Subprodutos como fonte de compostos bioativos	7
1.4. Fitoquímicos	9
<b>2. Subprodutos alimentares</b>	16
2.1. Valorização de subprodutos do café	16
2.1.1. Casca do grão de café	19
2.1.2. Pele de prata	20
2.1.3. Borra de café	20
2.2. Subprodutos da uva	22
2.2.1. Grainhas	24
2.2.2. Engaços	25
2.2.3. Folhelhos	25
2.2.4. Aplicações farmacêuticas dos subprodutos da uva	26
2.3. Subprodutos da indústria do azeite	28
2.3.1. O azeite	30
2.3.2. Os benefícios do azeite na saúde humana	31
2.3.3. Subprodutos da extração do azeite	34
2.3.4. Águas-ruças	36
2.3.5. O bagaço	39
2.3.6. O caroço	40
2.3.7. A folha da oliveira	41
2.4. Subprodutos da castanha <i>sativa</i>	42
2.4.1. Novas Aplicações da Castanha	45
2.4.2. Folhas	46
2.4.3. Cascas	50
a) Potencial utilização como adsorvente de metais	50
b) Potencial utilização como substituto do fenol na formulação de colas	51
c) Potencial aplicação na Indústria do curtimento de peles	52
2.4.5. Ouriços	52

<b>Conclusões</b>	53
<b>Bibliografia</b>	54

## Índice de Figuras

---

<b>Figura 1.</b> Subsetores do setor das indústrias de processamento de matérias-primas de vegetais.	4
<b>Figura 2.</b> Valorização de subprodutos origem vegetal.	5
<b>Figura 3.</b> Esquema simplificado da classificação dos fitoquímicos.	10
<b>Figura 4.</b> Esquema descritivo do fruto e grão do café, antes e após processo de torrefação.	17
<b>Figura 5.</b> Estrutura da semente do café.	18
<b>Figura 6.</b> Morfologia da uva.	23
<b>Figura 7.</b> Exemplo de subprodutos da vitivinicultura.	24
<b>Figura 8.</b> Estrutura básica de uma drupa.	30
<b>Figura 9.</b> Esquema de obtenção dos subprodutos da indústria do azeite.	34
<b>Figura 10.</b> Esquema do sistema de extração de prensas.	35
<b>Figura 11.</b> Estrutura química do hidroxitirosol.	40
<b>Figura 12.</b> Folha da oliveira.	41
<b>Figura 13.</b> Produção anual de castanha entre 2009 e 2013.	43
<b>Figura 14.</b> Subprodutos da castanha, a folhas, a cascas e os ouriços.	45
<b>Figura 15.</b> Estrutura química da quercetina e da rutina.	48
<b>Figura 16.</b> Imagem do fotoenvelhecimento da pele.	49

## Índice de Tabelas

---

<b>Tabela 1.</b> Principais classes de compostos fenólicos identificados em azeitona.	33
<b>Tabela 2.</b> Subprodutos da indústria do azeite e respetiva valorização.	36
<b>Tabela 3.</b> Composição e valor energético do miolo de castanha.	44

## Abreviaturas

---

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

ATP - Adenosina Trifosfato

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (do inglês *Food and Agriculture Organization*)

GSH - Glutationa

HDL – Lipoproteína de elevada densidade (do inglês *High Density Lipoprotein*)

HPP - Hidrolisado de Proteína de Peixe

ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar

INE - Instituto Nacional de Estatística

LDL – Lipoproteína de baixa densidade (do inglês *Low Density Lipoprotein*)

RNS - Espécies Reativas de Óxidos de Azoto

ROS - Espécies Reativas de Oxigénio

## **Introdução**

---

A valorização de subprodutos na ótica da recuperação de fitoquímicos bioativos assenta na composição da matéria vegetal eliminada, nomeadamente por possuir quantidades elevadas de substâncias antioxidantes naturais e/ou outros de interesse biológico e/ou sensorial, tais como compostos fenólicos, pigmentos, fibras, vitaminas e sais minerais. Em consequência os subprodutos vegetais podem constituir matrizes promissoras e baratas para a extração de fitoquímicos de utilização diversificada, quer na própria indústria alimentar quer nouro tipo de indústrias, como a farmacêutica e a cosmética.

Na realidade, o conceito de sustentabilidade pode ser aplicado a questões particulares, como a “sustentabilidade natural”, com critérios que se baseiam nos fluxos mássicos e na capacidade de uma técnica para recuperar substâncias com valor, para posterior utilização, a partir de resíduos e/ou efluentes. Por outro lado, existe a “sustentabilidade financeira”, conceito associado ao sucesso e sobrevivência de um negócio. Assim, a sustentabilidade está intimamente relacionada com modelos económicos, que têm em consideração os fluxos de massa naturais. Um terceiro e importante fator nas questões da sustentabilidade são os potenciais utilizadores de um sistema.

Nos últimos anos têm sido estudadas e adotadas várias alternativas para a transformação destes produtos, acrescentando-lhes valor para além de redução dos custos associados ao respetivo tratamento, armazenamento e transporte. A implementação de metodologias de valorização de subprodutos a par do processo produtivo principal contribui para a diversificação da oferta dos produtos e a redução da emissão de resíduos sólidos.

Por outro lado, o setor agroindustrial e a comunidade científica têm reunido esforços e realizando vários estudos para desenvolver um maior potencial dos alimentos funcionais, garantindo a promoção da saúde e o bem-estar dos cidadãos, promovendo a diversificação nas suas dietas e tornando viáveis produtos de alto valor acrescentado, criando novos nichos de mercado. Por esta razão, na sociedade atual, têm surgido processos emergentes para aproveitamento sustentável dos resíduos de produtos hortofrutícolas, fontes naturais de compostos bioativos.

Uma das grandes limitações no desenvolvimento economicamente sustentado destes processos está na disponibilidade das quantidades de subproduto necessárias, muitas das vezes, quantidades variáveis associadas à sazonalidade. No entanto, tal não deve constituir uma limitação, mas sim, ser considerada como uma oportunidade para as indústrias se agregarem ou desenvolverem soluções integradas com subprodutos de várias empresas com composição semelhante ou complementar. As restrições de legislação são outro fator a considerar, nomeadamente na valorização dos novos ingredientes (em particular funcionais) para garantir que o produto final seja facilmente valorizável no mercado com o retorno esperado. Concluindo, a valorização de subprodutos é uma questão da maior importância para o setor agroalimentar, pois são várias as oportunidades existentes para o desenvolvimento sustentado de novos produtos de valor acrescentado. As empresas agroalimentares devem estar conscientes deste desafio e, desde já, assumirem esta questão como determinante para o seu desenvolvimento e noutros setores industriais.

Para cumprir os objetivos propostos, realizou-se uma revisão bibliográfica sobre o tema supracitado, tendo-se realizado uma pesquisa entre os meses de setembro de 2014 e julho de 2015, através das fontes de pesquisa científicas: PubMed, o Science Direct e a b-On e em motores de busca tais como: o Google Académico e o AltaVista Search. Os critérios utilizados na seleção dos artigos resultantes da pesquisa científica foram: o interesse para o tema, limitando a pesquisa para artigos científicos e estudos escritos em inglês e português, com data de publicação de um período de 10 anos ou de anos anteriores cujo conteúdo é relevante e ainda com evidências experimentais acerca do tema.

De uma maneira geral, algumas das palavras-chave utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho foram: subprodutos; resíduos agroindustriais; propriedades biológicas; compostos bioativos.

## Revisão Bibliográfica

---

### 1.1. Sustentabilidade

A ideia de sustentabilidade ganhou expressão política na adjetivação do termo desenvolvimento, fruto da percepção de uma crise ambiental global iniciada na década de 50. O termo sustentabilidade está cada vez mais presente no ambiente industrial. A definição de sustentabilidade descrita segundo a Comissão Brundtland (WCED, 1987) considera que o desenvolvimento sustentável deve satisfazer as necessidades da geração atual sem comprometer as necessidades das gerações futuras. Assim, cada vez mais aumentam as preocupações com o meio ambiente e com a sustentabilidade do planeta. Esta procura por um desenvolvimento sustentável que garanta a existência de recursos para o desenvolvimento de gerações futuras tem motivado a procura de materiais subaproveitados ou até desvalorizados, numa tentativa de os tornar mais sustentáveis (Bond e Morrison-Saunders, 2011).

Para se atingir um desenvolvimento sustentável é portanto, necessário promover a escolha de materiais mais sustentáveis, a exploração racional de recursos e torna-se muito importante também, o estudo das formas de aproveitamento dos resíduos resultantes das mais diversas atividades industriais, de forma a aumentar o valor desses produtos, resultando na transformação de resíduos em subprodutos industriais e consequentemente, em novas matérias-primas.

A qualidade, a segurança e a conformidade ambiental são fatores decisivos para a aquisição dos produtos, assim os produtores têm de responder a estas novas exigências do consumidor, aumentando a sustentabilidade dos processos e produtos. A utilização de processos sustentáveis deve repercutir-se na redução de custos/aumento de receita (Wognum *et al.*, 2011).

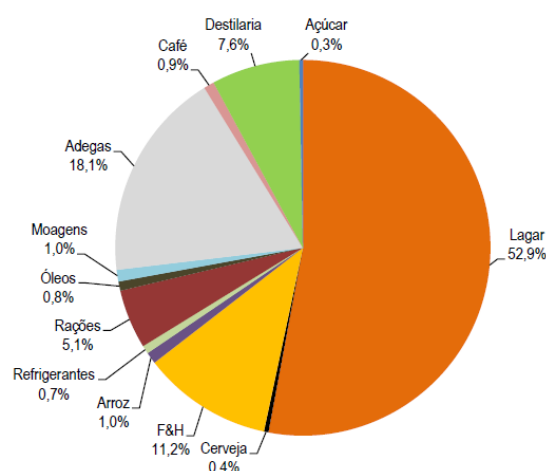
Por outro lado, consumidor atual tornou-se cada vez mais crítico e exigente a nível dos processos de produção dos alimentos dos níveis de segurança, da higiene, da presença de produtos químicos e dos efeitos ambientais associadas, estando cada vez mais

sensibilizado para a utilização adequada das matérias-primas e respetivos resíduos bem como para o impacto que os dos alimentos têm na sua saúde (Falguera *et al.*, 2012).

## 1.2. Subprodutos agroindustriais

Nas orientações para uma Europa de recursos eficientes, a Comissão Europeia prevê que até 2020, os resíduos sejam geridos como um recurso, e por isso a reciclagem e reutilização de resíduos, para além da sua elevada relevância, tornaram-se opções economicamente viáveis (Pintado e Teixeira, 2015). Neste setor a valorização de subprodutos representa uma tendência de interesse crescente por parte de muitas áreas industriais, incluindo a farmacêutica e cosmética, uma vez que estes subprodutos podem ser adquiridos a um preço reduzido e, em contrapartida, podem ser matrizes ricas em compostos bioativos importantes para a promoção da saúde. Esta situação assume uma importância crucial sobretudo quando se trata de um setor com elevado peso na economia, como é o caso da indústria alimentar (INE, 2014).

As agroindústrias portuguesas contemplam diversos setores de entre os quais mais de metade das instalações referenciadas neste setor são Lagares, sendo o subsector do Vinho (adegas e destilarias) o segundo mais importante. O subsector dos frutos e hortícolas (F&H) e do de rações animais também representam um número significativo de instalações e todos os restantes subsectores correspondem a menos de 1% (Figura 1).

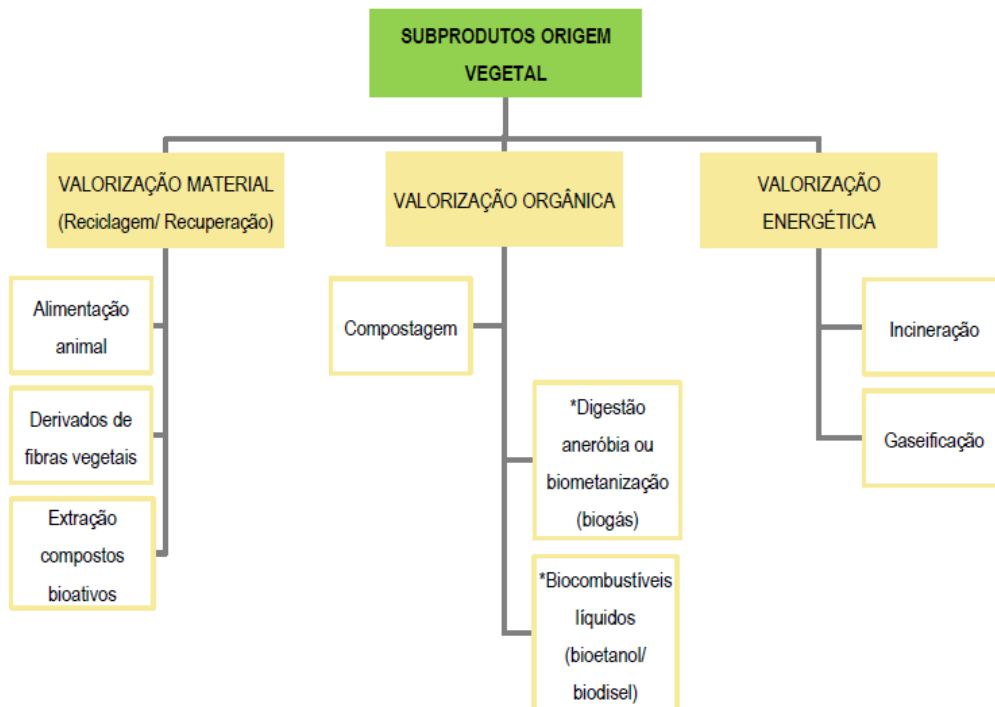


**Figura 1.** Subsectores do setor das indústrias de processamento de matérias-primas de vegetais (Total = 1381 empresas nacionais do setor) (adaptado de Duarte *et al.*, 2007).

Nos últimos anos tem-se observado uma tendência crescente para a valorização do material vegetal, uma vez que existe uma legislação ambiental cada vez mais restritiva. Os materiais descartados neste tipo de indústrias, muitas vezes designados erroneamente por resíduos e sujeitos a eliminação sem qualquer aproveitamento, apresentam-se assim como subprodutos, ou seja, produtos que apesar de não serem o objetivo final do processo produtivo principal podem ser valorizados por diferentes vias (FIPA, 2007).

Neste contexto, os diversos tipos de valorização destes subprodutos podem contribuir para acrescentar valor económico na linha de produção das empresas do mesmo setor, ou em setores industriais diferentes, constituindo uma excelente oportunidade de negócio.

Segundo a Associação Empresarial de Portugal (AEP) (2011) e o Decreto-Lei nº 73/2011, a valorização dos materiais de origem vegetal pode ser classificada em três tipos: valorização material, valorização orgânica e valorização energética, conforme a Figura 2.



**Figura 2.** Valorização de subprodutos origem vegetal (adaptado de AEP, 2011).

\*Processos com potencial energético.

De uma maneira geral, grande parte dos subprodutos produzidos no setor dos frutos e hortícolas, incluem a pele e as sementes dos frutos e/ou vegetais, cascas, talos, ou produtos que apresentam danos físicos ou químicos. Usualmente, e apesar do seu valor significativo, estes subprodutos são comumente subaproveitados e o seu potencial valor é frequentemente perdido. As vias tradicionais para a valorização deste tipo de subprodutos são a alimentação animal, a incineração e a compostagem, embora elas nem sempre demonstram eficiência e acarretem custos muitas vezes mais elevados dos que os que são estimados pelas próprias empresas.

Atualmente cerca de 1/3 dos alimentos para consumo humano é perdida mundialmente (como resíduo de processamento ou perda na cadeia), correspondendo a uma produção mundial de resíduos alimentares de cerca de 1,3 bilhões toneladas/ano (Gustavsson *et al.*, 2011). No entanto, a nível nacional a valorização dos subprodutos pode ser pequena ou até nula. Por exemplo, o repiso de tomate que apresenta, atualmente um valor comercial nulo, a polpa de alfarroba com um valor próximo dos 120 €/t, a casca de amêndoa e a casca de pinhão, com valores aproximados de 70 e 30 €/t, respetivamente (Duarte *et al.*, 2007). Nesse sentido, a valorização de resíduos e subprodutos agroalimentares apresenta-se hoje em dia, não só como uma necessidade, mas como uma oportunidade para obtenção de novos produtos de valor acrescentado e com grande impacto na economia das indústrias.

Vários estudos atuais têm contemplado a obtenção de inúmeros ingredientes a partir de subprodutos, incluindo subprodutos de cereais (farelo de arroz) com obtenção principal de fibras, hemiceluloses,  $\beta$ -glucanas e oligossacáridos pré-bióticos, a partir de raízes e tubérculos (resíduos de cana, mandioca), com obtenção principal de polifenóis e ácidos orgânicos, a partir de culturas oleaginosas (soja, bagaço de azeitona) com obtenção de fitoesteróis, polifenóis e pectinas, a partir de frutos e vegetais (cascas de vários frutos, bagaço de tomate) com obtenção principal de pectinas, fibras, carotenoides e polifenóis, a partir de carnes (ossos, sangue, vísceras de bovinos, aves e suínos) com principal obtenção de proteínas, péptidos ou aminoácidos, a partir de peixe e crustáceos (espinhas, peles, cascas) com principal obtenção de proteínas, péptidos ou aminoácidos, quitina e quitosano, e finalmente a partir de subprodutos de leite principalmente o soro,

com obtenção de várias proteínas e péptidos ou lactose (Pintado e Teixeira, 2015; Galanakis, 2012; Armenta e Guerrero-Legarreta, 2009).

### **1.3. Subprodutos como fonte de compostos bioativos**

Os resíduos produzidos no setor agroalimentar são variados e a maioria destes apresentam teores consideráveis de compostos bioativos. Contudo, existem alguns exemplos do aproveitamento dos compostos bioativos a partir de diferentes subprodutos, tais como os dos frutos de casca rija: a casca e pele de avelã (Contini *et al.*, 2008; Locatelli *et al.*, 2010), casca de amêndoa (Pinelo *et al.*, 2004; Mandalari *et al.*, 2010) e casca de pistácio (Rajaei *et al.*, 2010).

Devido ao elevado impacto que a indústria de azeite e óleos apresenta no nosso país, os subprodutos do azeite também constituem um recurso natural rico em matéria orgânica, compostos bioativos e sais minerais (Cabrera *et al.*, 1996; Mekki *et al.*, 2008). As folhas da oliveira são ricas em fitoquímicos, muitas vezes descritos na azeitona e cujo efeito sinérgico entre eles promove uma elevada capacidade antioxidante (Herrero *et al.*, 2011; Ahmad-Qasem *et al.*, 2014; Stamatopoulos *et al.*, 2014).

Da indústria de frutas e hortícolas também são produzidas grandes quantidades de resíduos orgânicos, maioritariamente cascas ou peles que, quando reaproveitados poderão constituir matérias-primas de elevado valor nutricional e fitoquímico. Por exemplo, os subprodutos da cebola apresentam grandes quantidades de compostos antioxidantes (Balasundram *et al.*, 2006; Peschel *et al.*, 2006) e, ademais, os resíduos de cebola não são adequados para forragens, bem como a sua eliminação em aterros é prejudicial devido ao rápido crescimento de fitopatógenos, como *Sclerotium cepivorum* (Roldán *et al.*, 2008). A cebola tem uma composição nutricional muito complexa, rica em flavonoides, maioritariamente quercetina e outros compostos bioativos, tais como fruto-oligossacáridos e compostos de enxofre que podem ser reaproveitados como matérias-primas para outras indústrias, nomeadamente a farmacêutica (Roldán *et al.*, 2008).

Os frutos também produzem uma elevada quantidade de desperdícios alimentares. Cascas e sementes são frequentemente desperdiçadas e a sua valorização é uma hipótese a considerar. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), em 2014, a produção mundial de laranja atingiu 68 milhões de toneladas, representando 8,5% da produção total de frutas. Aproximadamente 40-60% das laranjas processadas para a produção de sumo, 50-60% são resíduos, incluindo sementes e cascas. Perante um valor tão elevado de subprodutos formados, muitos estudos têm sido efetuados com um objetivo comum: o reaproveitamento dos mesmos. Por exemplo, Wikandari *et al.* (2015) concluíram que as cascas de laranja podem ajudar na produção de biogás, através do processo de lixiviação do limoneno. Também é possível extrair a amilase das cascas de batata e da banana (Jadhav *et al.*, 2013). De facto, nos últimos anos, a produção de amilase aumentou drasticamente devido ao seu uso generalizado em alimentos bem como nas indústrias têxtil, química e de panificação. Para além da sua utilização na liquefação do amido, esta enzima também pode ser utilizada em colagens de fibras têxteis e incorporada em rações animais para aumentar a digestibilidade das mesmas (Kokab *et al.*, 2003).

Os frutos tropicais também estão em destaque. Por exemplo, em extratos de casca de manga foram encontradas grandes quantidades de compostos fenólicos e de carotenoides com possíveis aplicações na indústria farmacêutica (Ajila *et al.*, 2010). Além disso, na semente de manga foram quantificados elevados teores de ácido tânico, ácido gálico e epicatequina na proporção 17: 10: 1, respetivamente (Arogba, 2000). Abdalla *et al.* (2007) caracterizaram diferentes compostos fenólicos nas sementes de manga, nomeadamente taninos, ácido gálico, cumarina, ácido cafeico, vanilina, mangiferina, ácido ferúlico e ácido cinâmico, provando que este subproduto constitui uma boa fonte de antioxidantes naturais.

Muitos estudos destacam as propriedades dos fitoquímicos como substâncias antioxidantes sequestradoras de radicais livres. Parece que os efeitos biológicos desses antioxidantes são diversos e envolvem respostas mediadas pelas células e a modulação de várias vias de sinalização celular. As hipóteses sobre os mecanismos de ação dos fitoquímicos têm procedido frequentemente do conhecimento das suas estruturas químicas e das suas propriedades físico-químicas. Presentemente, o desafio está em

interpretar as complexas relações entre os fitoquímicos presentes nas diferentes matrizes vegetais e a saúde, tendo em conta, quer a diversidade das suas estruturas químicas, quer a complexidade dos seus efeitos metabólicos, como pela sua biodisponibilidade e absorção no metabolismo humano (Manach *et al.*, 2009).

#### **1.4. Fitoquímicos**

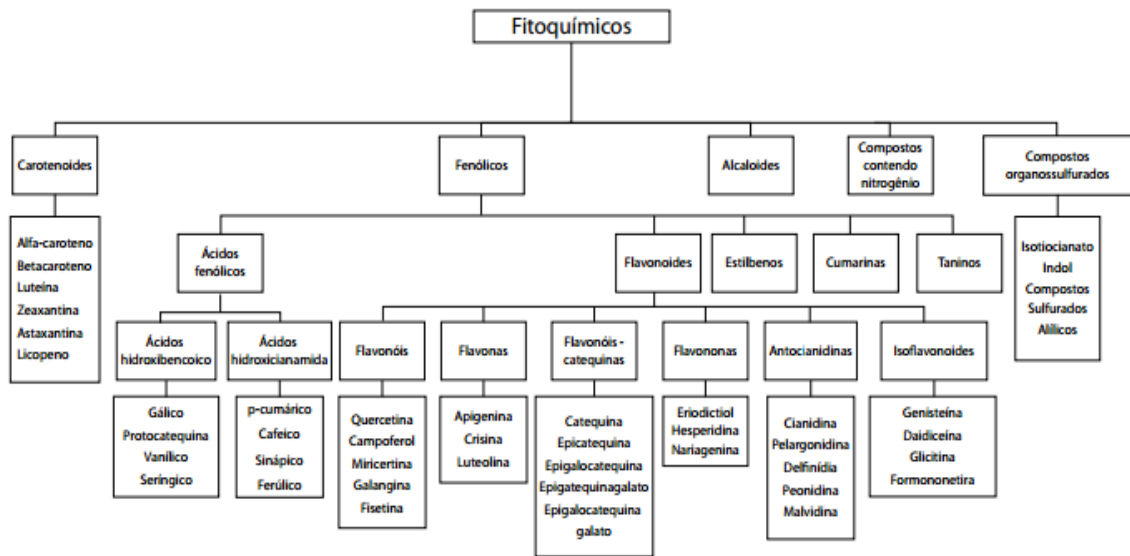
Atendendo a que o principal objetivo deste trabalho de pesquisa bibliográfica visa compilar informações sobre a obtenção de compostos bioativos em subprodutos alimentares e sua possível integração na indústria farmacêutica, será de todo pertinente que, de uma forma muito breve, sejam abordados os principais grupos desses compostos.

O termo “fitoquímico” refere-se a um grupo amplo de compostos produzidos e acumulados nas plantas. Muitos desses compostos possuem atividades biológicas importantes, e alguns podem apresentar toxicidade quando ingeridos em doses elevadas. O interesse nesses compostos advém de vários estudos realizados até à data e que evidenciam muitos dos efeitos benéficos para a saúde, nomeadamente na diminuição do risco de doenças crónicas degenerativas.

Estima-se que no reino vegetal existam entre 5.000 a 25.000 fitoquímicos individuais, dependendo das espécies vegetais e, consequentemente das famílias botânicas que os integram, dos quais apenas uma pequena fração foi identificada. Com a presença de milhares de fitoquímicos, é imperativo classificar os diferentes agentes para melhor estudar as complexas misturas encontradas nos vegetais (Mehta *et al.*, 2010). Os fitoquímicos apresentam uma grande diversidade de estruturas químicas, sendo por isso classificados em vários grupos, entre os quais, os compostos fenólicos, terpenóides, alcalóides, carotenóides e outros compostos nitrogenados ou organosulfurados (Figura 3) (Lampe e Chang, 2007).

De acordo com Li *et al.* (2006), os compostos fenólicos são os constituintes químicos predominantes no reino vegetal e que apresentam maior amplitude de estruturas químicas, variando de moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos, a compostos

complexos, tais como taninos. Os diferentes grupos dos fenólicos compreendem os fenóis simples (e.g. catecol, resorcinol, entre outros), os ácidos fenólicos, estilbenos (resveratrol), flavonóides (e.g. quercetina, cianidina, rutina, luteolina, apigenina), biflavonóides (e.g. ormocarpina), proantocianidinas (e.g. epicatequina) (Wollenweber, 1993; Robards e Antolovich, 1997), cumarinas e antraquinonas (Middleton e Kandaswami, 1994).



**Figura 3.** Esquema simplificado da classificação dos fitoquímicos (retirado de Liu, 2004).

Os fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, atuando como mecanismos de defesa contra agentes patogênicos, parasitas e predadores, contribuindo também no processo de coloração das plantas. Os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grandes grupos: ácidos hidroxibenzoicos e ácidos hidroxicinâmicos. Esses estão comumente presentes na forma ligada e são componentes de uma estrutura complexa, como lenhinas, melaninas e taninos (Liu, 2004; Silva *et al.*, 2007). As ações fisiológicas dos compostos fenólicos despertam grande interesse devido aos seus efeitos antiaterogênicos, neuroprotetores, anti-inflamatórios, anticarcinogênicos e antioxidantes (Ajila *et al.*, 2008). Tais efeitos estão relacionados, principalmente, com o combate na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) contribuindo para a redução do stresse

oxidativo, comum em doenças cardiovasculares, neuro degenerativas, cancro, entre outras (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2011).

Os flavonoides talvez formem o grupo de compostos fenólicos mais importante das plantas. Mais de 5.000 desses compostos já foram descritos, entre os quais estão consideradas as flavonas, flavonóis, flavanonas, proantocianidinas, antocianinas, catequinas e isoflavonas, como principais (Ratnam *et al.*, 2006). Os flavonoides são uma subclasse dos fitoquímicos vastamente distribuídos na natureza, possuindo uma estrutura marcada pela presença de um esqueleto com 15 átomos de carbono na forma C6-C3-C6, e são divididos em classes dependendo do estado de oxidação do anel central de pirano (Março *et al.*, 2008). Grupos específicos de alimentos provenientes do reino vegetal são frequentemente fontes exógenas de uma ou mais subclasse desses polifenóis e seus efeitos na promoção da saúde dependem da quantidade consumida e da sua biodisponibilidade (Prior, 2006). Vários estudos descreveram os benefícios para a saúde através da ingestão de alimentos ricos em flavonoides, evidenciando as melhorias na função cognitiva e atividade antidepressiva (Samman *et al.*, 2003), no entanto, estes compostos também manifestam-se importantes na cosmética, e na indústria farmacêutica, devido ao facto de poderem ser usados como substitutos de antioxidantes sintéticos.

As isoflavonas estão presentes em vários vegetais, sendo a soja a leguminosa que apresenta o maior teor. As formas não glicosídeas, também chamadas de agliconas, como a daidzeína, genisteína e gliciteína encontram-se amplamente descritas nas leguminosas, sendo a daidzeína e a genisteína as isoflavonas de maior interesse na nutrição humana. As isoflavonas são consideradas fitoestrógenos devido à sua habilidade de se ligar aos recetores  $\alpha$ - e  $\beta$ -estrógenos. A proteína da soja parece ter vários benefícios na saúde cardiovascular (Hernandez-Montes *et al.*, 2006; Prior, 2006). Alguns desses benefícios parecem resultar da sua ação na diminuição da peroxidação lipídica, redução na pressão arterial e ação favorável na função vascular endotelial. A genisteína inibe fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear NF-kappaB (NF-kB) e ativador de proteína-1 (AP-1), que são moléculas sinalizadoras importantes envolvidas na resposta inflamatória stress oxidativo. Por outro lado as isoflavonas são responsáveis pela prevenção de doenças como o cancro (Bektic *et al.*, 2005; Gikas e

Mokbel, 2005), doenças cardiovasculares (Omoni e Aluko, 2005) e osteoporose (Weaver e Cheong, 2005). A estimulação de enzimas tais como, a catalase, a superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase e a glutathione reductase podem estar relacionadas com a capacidade das isoflavonas aumentarem as defesas antioxidantes das células (Suzuki *et al.*, 2002).

Os taninos são polifenóis encontrados em plantas, alimentos e bebidas, sendo correntemente utilizados como fonte de matéria-prima para diferentes indústrias, como farmacêutica, alimentar, curtumes, borracha, tratamento de águas potáveis (Vieira *et al.*, 2011). De acordo com Haslam (1998), os taninos são os compostos fenólicos com maior massa molecular que interagem com as proteínas salivares provocando uma sensação de adstringência (Soares *et al.*, 2012). Estes compostos podem ser hidrolisáveis ou condensados (Okuda, 2005) sendo estes últimos mais comuns (Santos-Buelga e Scalbert, 2000).

Os taninos elágicos, também conhecidos por elagitaninos, são mais abundantes na natureza, e podem fazer parte da dieta através do consumo de um grupo pequeno de frutos, tais como, a framboesa, morangos, amoras e castanha e de alguns frutos secos tais como avelã, caju e pistácio. No caso dos frutos secos a maior concentração destes compostos encontra-se na casca e pele que reveste a semente edível, razão que justifica a insuficiência do seu consumo e aumenta o interesse da sua obtenção através do reaproveitamento dos subprodutos (Clifford e Scalbert, 2010). E estes compostos estão descritas propriedades antimicrobianas inibindo o crescimento de bactérias, bolores, leveduras e vírus (Scalbert, 1991; Aerts *et al.*, 1999). Por sua vez, a indústria alimentar utiliza o ácido tânico no processamento e conservação de alguns alimentos como agente conservante, prolongando o tempo de vida útil (Chung *et al.*, 1998) e utiliza-os na indústria de bebidas para clarificar vinhos, cervejas e sumos (Khanbabae e van Ree, 2001).

Os tocoferóis integram uma classe importante de compostos com grande impacto nos subprodutos alimentares e, respetiva reutilização na indústria farmacêutica. Estes compostos são antioxidantes de natureza fenólica, quase sempre na forma livre, podendo apresentar-se sob a forma esterificada com um ácido gordo. Os óleos vegetais,

nozes e sementes oleaginosas de nozes, gema de ovo, margarina, queijo, soja, trigo, aveia, abacate, azeitonas, vegetais de folhas verdes são algumas fontes exógenas ricas em vitamina E (Colombo, 2010). Também estão descritos em azeitonas verdes e no farelo de arroz (subproduto da indústria alimentar) (Sookwong *et al.*, 2007). São bastante utilizados, uma vez que são considerados antioxidantes primários (dadores de elétrons), inibindo a fase de propagação ao reagirem com os radicais livres (peróxido ou alcóxilo) com estabilização simultânea do radical tocoferilo (Engin, 2009). Os tocoferóis apresentam-se sob a forma de quatro isómeros:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  que diferem entre si no número e posição de grupos metilo do anel dihidrocromanol. A sua atividade antioxidante depende do alimento ao qual são adicionados, da sua concentração, de disponibilidade em oxigénio e da presença de metais pesados e de presença de outros compostos que exerçam algum tipo de sinergismo (Engin, 2009). O  $\delta$ -tocoferol é o que apresenta uma maior atividade antioxidante, seguido do  $\gamma$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol e o  $\alpha$ -tocoferol como o menos efetivo. Porém a baixas concentrações ( $\leq 50 \mu\text{g/g}$ ) o  $\alpha$ -tocoferol é mais efetivo que o  $\gamma$ -tocoferol, mas a concentrações altas ( $> 100 \mu\text{g/g}$ ) o  $\gamma$ -tocoferol é mais efetivo. A atividade antioxidante dos tocoferóis tem sido alvo de estudo principalmente em gorduras que apresentam pequenas quantidades de antioxidantes, uma vez que a concentrações altas se observa um efeito pró-oxidante (Porkorny *et al.*, 2005). Considerando as propriedades químicas destes compostos, o recurso à sua utilização também é vantajosa, uma vez que os tocoferóis apresentam elevada estabilidade ao calor, são completamente miscíveis com óleo e gorduras e insolúveis em água. Como intercetores de radicais livres, os antioxidantes reagem com os radicais alquilo ( $R\cdot$ ) e alquilperóxido ( $ROO\cdot$ ), interrompendo a cadeia de propagação e inibindo a formação de hidroperóxidos e com os radicais alcóxilo ( $RO\cdot$ ), produzidos por decomposição dos hidroperóxidos na presença de metais diminuindo a sua decomposição e conseqüente formação de aldeídos (Pokorný *et al.*, 2005; Engin, 2009).

Os efeitos protetores da vitamina E em quase todos os tecidos do olho têm sido demonstrados em estudos *in vitro* e *in vivo*. Por exemplo, a vitamina E aumenta o tempo de sobrevivência de células endoteliais da córnea do coelho (Neuwirth-Lux e Billson, 1987) e aumenta a sobrevivência das células da retina, através do seu efeito sobre a atividade mitocondrial (Rego *et al.*, 1998).

Outro grupo de fitoquímicos importantes presentes nos subprodutos alimentares são os carotenoides. Os carotenoides constituem um grupo de pigmentos lipossolúveis que conferem colorações variadas, compreendidas entre o amarelo e o vermelho, presentes em muitos vegetais e frutas. Estes compostos podem ser divididos em dois grandes grupos: os carotenos, que são puramente hidrocarbonetos sem oxigénio, e as xantofilas, que contêm oxigénio (Britton, 1992). Em plantas superiores, os carotenoides estão localizados em organelos subcelulares (cloroplastos e cromoplastos). Nos cloroplastos encontram-se associados principalmente a proteínas e são, normalmente, disfarçados pela presença de outros pigmentos clorofílicos dominantes. Atuam como estabilizadores de membranas e no processo da fotossíntese como pigmentos fotoprotetores. Nos cromoplastos, eles são depositados na forma cristalina (e.g. tomate e cenoura) ou como gotas de óleo (e.g. manga e paprica) (Kurz *et al.*, 2008).

Os tecidos de plantas comestíveis contêm uma ampla variedade de carotenoides, citando-se os mais comuns como: tomate (licopeno), cenoura ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno), milho (luteína e zeaxantina), pimento vermelho (capsantina) e batata-doce ( $\beta$ -caroteno). O conteúdo de carotenoides nas frutas e vegetais depende de vários fatores, tais como: variedade genética, estado de maturação, armazenamento pós-colheita, processamento e confeção (Capecka *et al.*, 2005; Vinha *et al.*, 2014; 2015).

Outro dado acrescido sobre os carotenoides prende-se com o facto do organismo humano não ser capaz de sintetizar estes compostos, por isso só podem ser obtidos exclusivamente pela via exógena. Algumas das principais fontes de carotenoides são cenoura e abóbora ( $\beta$ -caroteno), tomate e produtos derivados, como, polpa e molhos (licopeno) (Silva e Naves, 2001; Moritz e Tramonte, 2006; Vinha *et al.*, 2015). Estudos apontam que a função antioxidante dos carotenoides desempenha um papel importante na redução do risco de doenças cancerígenas, cataratas, aterosclerose e no processo de envelhecimento (Damodaran *et al.*, 2008).

Assim, seguindo metodologias apropriadas, a maioria dos compostos acima referidos podem ser obtidos e aplicados sobretudo nas indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética. No entanto, as restrições legislativas impostas, sobretudo na área alimentar pela EFSA, com a entrada do Regulamento (CE) N°1924/2006 do Parlamento Europeu

e do Conselho, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, podem dificultar a valorização de alguns dos compostos com bioatividade, para os quais as alegações de saúde ainda não foram aprovadas, por falta de evidências científicas suficientes. No entanto, sempre que existem limitações de legislação, deve ser valorizado e validado o papel tecnológico ou nutricional que muitos ingredientes podem ter, como sejam propriedades espessantes, gelificantes, valor energético, entre outros.

Posteriormente serão abordados alguns produtos alimentares com alguma representação a nível económico nacional e caracterização e valorização dos subprodutos formados de forma a alargar o campo de visão de diferentes áreas, como a farmacêutica e cosmética, numa perspetiva de reutilização desses resíduos e, conseqüentemente, promover o desenvolvimento de novos produtos enriquecidos com compostos naturais, de menor custo e com uma amplitude maior no campo terapêutico.

## 2. Subprodutos alimentares

---

### 2.1. Subprodutos do café



O *cafeeiro* (*Coffea* sp.) é um arbusto da família *Rubiaceae* e do género *Coffea* L., abrangendo cerca de 500 espécies. No entanto, as espécies *Coffea arabica* (Arábica) e *Coffea canephora* var. *robusta* (Robusta) são as que apresentam maior produção e, consequentemente, a exportação. Estas duas espécies diferenciam-se pela aparência e origem e, por último mas o mais importante, pela sua qualidade e sabor (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015).

Cerca de 80% da população nacional ingere diariamente café, sendo que esta bebida aparece associada a hábitos sociais e tradições, como traço distintivo da cultura portuguesa. De uma forma geral, os portugueses preferem o “café expresso”, um tipo de café que sendo comum também em outros países do sul da Europa, em Portugal apresenta características únicas que definem o Expresso Português. De acordo com os últimos dados da ECF (*European Coffee Federation*) relativos a 2013, a diferença de consumo de café entre portugueses e os congéneres europeus está mais estreita: a média de consumo de café em Portugal ronda os 4,7 kg por pessoa/ano enquanto nos países europeus se situa perto dos 6,4 kg por pessoa/ano. Neste momento, segundo dados Nielsen, o mercado de café em Portugal vale 424.441.528 euros. À escala global, o café é a segunda bebida mais consumida no mundo e a segunda matéria-prima comercializada em todo o mundo, seguido do petróleo. Nesse sentido, o mercado internacional assume uma importância extrema no setor do café, em Portugal, tendo em conta que, segundo dados no INE, em 2014 as exportações ultrapassaram os 50 milhões de euros. Embora Portugal não seja produtor de café, o mesmo para ser consumido

requer um processo de torrefação e é exatamente nesse processo industrial que Portugal apresenta uma taxa de exportação tão elevada.

A Figura 4 mostra a sequência entre o fruto, o grão verde (antes da torrefação) e o grão torrado (após torrefação), respetivamente.



**Figura 4.** Esquema descritivo do fruto e grão do café, antes e após processo de torrefação.

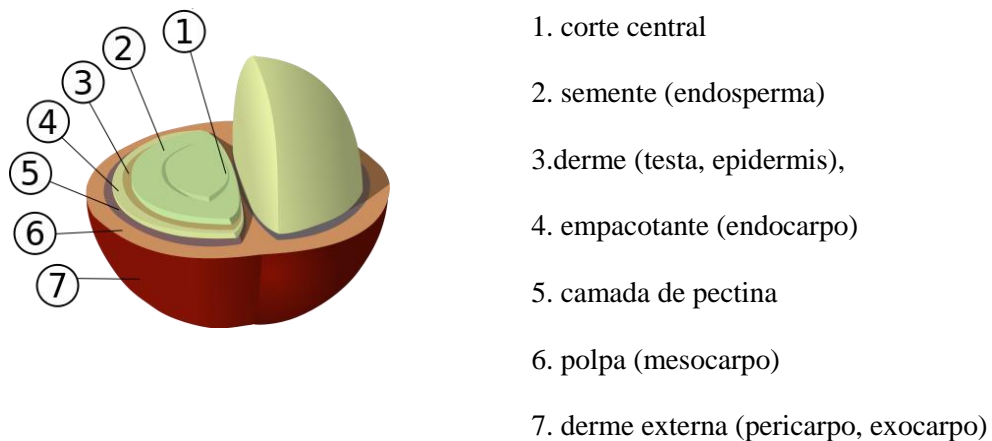
O alto consumo mundial de café tem estimulado o desenvolvimento de estudos relacionados com as possíveis atividades biológicas exercidas pelos diferentes constituintes do café. Tradicionalmente dizia-se que o consumo de café, especialmente em quantidades elevadas causava distúrbios a nível hepático, principalmente doenças do fígado e, por conseguinte, a recomendação para o seu baixo consumo. Atualmente, e através de estudos fitoquímicos, mais de 1000 compostos foram descritos nesta matriz, associando a sua presença com os efeitos positivos que os mesmos exercem no metabolismo humano (Gómez-Ruiz *et al.*, 2007; Esquivel e Jiménez, 2012; Bhupathiraju *et al.*, 2013; Cano-Marquina *et al.*, 2013). Assim, o consumo de café em quantidades apropriadas tem um impacto positivo sobre o sistema cardiovascular e sobre o metabolismo dos hidratos de carbono e dos lípidos. Segundo diversos autores, o consumo de café reduz a incidência de cancro, diabetes, doenças hepáticas, doenças degenerativas como Parkinson, e ainda reduz o risco de mortalidade (Esquivel e Jiménez, 2012; Bhupathiraju *et al.*, 2013; Cano-Marquina *et al.*, 2013).

Os compostos bioativos mais importantes presentes nos grãos de café incluem os compostos fenólicos (tais como ácidos clorogénicos), metilxantinas (cafeína, teofilina e

teobromina), diterpenos incluindo o cafestol, e o ácido nicotínico (vitamina B3) (Gómez-Ruiz *et al.*, 2007).

Os ácidos clorogénicos, principalmente os ácidos 3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico e 5-cafeoilquínico constituem aproximadamente 85% dos compostos presentes nos grãos de café verde (Farah *et al.*, 2006a), atuando como antioxidantes (Iwai *et al.*, 2004) e exercendo atividades hepatoprotetora e antivírica (Esquivel e Jiménez, 2012). O grupo dos ácidos clorogénicos está presente nos grãos de café em altas concentrações e estes compostos são determinantes na qualidade do café e do seu sabor (Farah *et al.*, 2006b). No entanto, o teor total destes ácidos pode variar entre espécies, grau de maturação, práticas agrícolas e condições edafo-climáticas (Campa *et al.*, 2005; Monteiro e Farah, 2012). Assim, pode-se afirmar que a qualidade do café usado como bebida estimulante é estritamente relacionada com a composição química dos grãos torrados, a qual é afetada pela composição do grão verde e pelas condições de processamento pós-colheita (secagem, armazenamento, torrefação e moagem).

Durante o processo de torrefação do café são produzidos grandes quantidades de resíduos sólidos como cascas, polpa do fruto, os grãos de baixa qualidade ou defeituosos, a pele de prata e a borra de café (Figura 5) (Esquivel e Jiménez, 2012).



**Figura 5.** Estrutura da semente do café (<http://imagepo.com/coffee-fruit-diagram>).

### 2.1.1. Casca do grão de café

Os subprodutos formados no decurso da torrefação do café mostram ser uma mais-valia a nível da composição química, apresentando elevados teores de hidratos de carbono, proteínas, pectinas e compostos bioativos.

A casca de café é considerada antinutricional, devido à presença de substâncias tóxicas para os ruminantes, como a cafeína (1,2%), taninos (6,3%) e polifenóis (Soccol *et al.*, 1999). A proporção de 1:1 entre o grão de café e a casca do mesmo, no decurso do processo de torrefação, é habitualmente reutilizada nos terrenos agrícolas para a recuperação de solos intensamente cultivados (Badocha *et al.*, 2003) ou para obtenção de energia pela queima ou compostagem das mesmas (Saenger *et al.*, 2001).

Atualmente existem poucos estudos sobre a valorização da casca do café para reutilização na indústria farmacêutica (Esquivel e Jiménez, 2012), no entanto, a presença de cafeína, taninos, polifenóis e pectinas podem suscitar maior interesse na área terapêutica. Por exemplo, as pectinas como fibras dietéticas. Na indústria farmacêutica, alguns trabalhos demonstram que a ingestão de pectina pode reduzir os níveis séricos de colesterol e triglicéridos e também diminuir a absorção de glicose (Sriamornsak, 2003; Hur *et al.*, 2013).

Outro grupo de compostos presentes na casca do café são os taninos. Estes compostos, embora classificados como antinutrientes exercem atividades benéficas, atuando como anticarcinogénicos, anti-inflamatórios, cardioprotetores e antioxidantes (Dixon *et al.*, 2005; Crozier *et al.*, 2009; Floegel *et al.*, 2010).

Pelos motivos supracitados, as cascas obtidas no decurso do processo de torrefação do café tornam-se uma mais-valia na sua recuperação e futuras aplicações na indústria farmacêutica.

### **2.1.2. Pele de prata**

A pele de prata é a película que está diretamente em contacto com o grão de café (Figura 5). Esta película encontra-se fortemente ligada ao grão verde, libertando-se após a torra, com o auxílio de temperaturas elevadas (Esquivel e Jiménez, 2011) e, muito embora, seja o resíduo maioritário da torrefação do café, a pele de prata é talvez o subproduto da indústria do café menos estudado. O uso da pele de prata, como ingrediente funcional, tem sido recomendado por alguns autores, tendo por base a sua baixa concentração em lípidos e hidratos de carbono, alto teor em fibras solúveis (60% da composição total) e comprovada atividade antioxidante (Esquivel e Jiménez, 2011; Costa *et al.*, 2014; Jimenez-Zamora *et al.*, 2015). Segundo Mussatto e Teixeira (2010) a pele de prata também é uma boa matéria-prima para extrair a enzima frutofuranosidase durante o processo de fermentação dos fruto-oligossacáridos, influenciando positivamente a flora intestinal. A presença dos ácidos clorogénicos anteriormente descritos nos grãos de café, também está descrita na pele de prata. Vários estudos relacionam os seus efeitos benéficos com a sua elevada biodisponibilidade e capacidade absorptiva pelo aparelho gastrointestinal (Bravo *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2012; Brescani *et al.*, 2014).

Pelas características supracitadas, a valorização deste subproduto pode ser uma alternativa segura e natural com aplicações na área farmacêutica e cosmética, para além de contribuir para a redução dos resíduos da indústria de torrefação do café.

### **2.1.3. Borra de café**

No processo de obtenção da bebida de café é produzido, um outro resíduo, a borra de café. A borra é um subproduto, que resulta da preparação das várias bebidas de café ou da produção de café solúvel (Esquivel e Jiménez, 2012). Esta é rica em açúcares (manose e galactose) e proteínas (Mussato *et al.*, 2011). Estes resíduos domésticos e comerciais contêm elevadas concentrações de açúcares, matéria orgânica, compostos orgânicos e inorgânicos, com grande potencial poluidor que, se libertados no meio ambiente sem tratamento, podem causar graves problemas ambientais (Fan e Soccol, 2005). As potencialidades do aproveitamento da borra de café não têm sido tão

estudadas como a da polpa e/ou casca do café. Embora em menor quantidade, a borra contém à semelhança da polpa e da casca, cafeína, taninos e polifenóis tornando-o por isso um resíduo tóxico. No entanto, vários estudos têm sido realizados com o intuito de avaliar possíveis aplicações da borra do café, nomeadamente na produção de cogumelos comestíveis, nomeadamente de *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* e *Lentinus edodes* (Pandey *et al.*, 2000; Fan *et al.*, 2005). A presença de borra de café na mistura de lixo orgânico doméstico revelou ser eficiente na vermicompostagem por *Lumbricus rubellus* (Adi e Noor, 2009). O vermicomposto obtido tornou-se mais rico em K e Mg comparativamente ao vermicomposto obtido só a partir de lixo orgânico doméstico. Também a elevada quantidade de lípidos presente na borra, a maioria dos quais triglicéridos e ésteres de álcool diterpeno e de açúcares sugerem a possibilidade do uso de óleo extraído da borra para a produção de biodiesel (Kondamudi, *et al.*, 2008; Couto *et al.*, 2009). Também estão descritos teores consideráveis de cafeína na borra. A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcaloide natural presente em mais de 60 espécies de plantas (Sawynok, 2011), amplamente consumida através da fonte natural (café, chá e chocolate) e "não natural", como fontes dietéticas (bebidas energéticas e comprimidos de cafeína), bem como a partir de vários medicamentos (Dawkins *et al.*, 2011).

Em 2006, a bióloga Alessandra Laranja, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual de São Paulo (Unesp/São José do Rio Preto) demonstrou que mosquito *Aedes aegypti* responsável pelo dengue pode ser combatido com a borra de café. Neste estudo, a bióloga demonstrou que a cafeína da borra de café altera as enzimas esterases, responsáveis por processos fisiológicos fundamentais como o metabolismo hormonal e da reprodução do *Aedes aegypti*, podendo ser essa a causa dos efeitos verificados sobre a larva e o inseto adulto (Laranja *et al.*, 2006).

Também Jimenez-Zamora *et al.* (2015) concluíram que o uso da borra de café apresenta elevada atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, devido à presença de melanoidinas, compostos reconhecidos como bactericidas. Estes resultados mostram que o uso da borra em aplicações farmacêuticas é vantajoso.

## 2.2. Subprodutos da uva

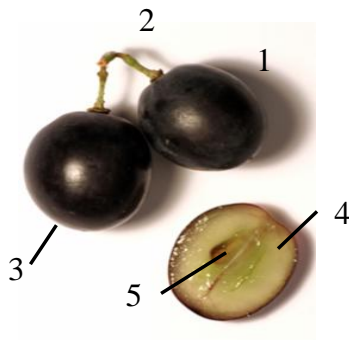


A uva é o fruto edível da videira (*Vitis* sp.), família *Vitaceae*. É utilizada frequentemente para produzir sumo, doces vinho e passas, podendo também ser consumida *in natura*. Tanto no vinho como no sumo são encontrados em grandes quantidades o resveratrol que elimina plaquetas causadoras de coágulos que pode entupir as artérias e os flavonoides, antioxidantes inibidores do envelhecimento das células.

A vitivinicultura está historicamente ligada a Portugal como atividade agrícola de grande importância económica e social. Foi também graças à Revolução que o setor vitivinícola ganhou um novo fôlego na década de 80, com a classe média portuguesa a progredir, criando-se um mercado novo: mais exigente e com hábitos de consumo diferentes (Políticas, 2007). Mas Portugal também se abriu ao mundo e em especial à Europa, com a adesão à União Europeia em 1986. Esta constituiu o passo revolucionário do setor vitivinícola e que permitiu a modernização tão aguardada e a reestruturação profunda de todo o setor (infoVini, 2009). Este setor, em Portugal, abrange todo o tipo de empresas desde, as micro empresas, PME, grandes empresas e o setor cooperativo responsável por metade da produção nacional. Segundo dados do Instituto da Vinha e do Vinho (IVV), na campanha de 2005/2006 foram reconhecidos 38.683 locais de vinificação, com uma produção total de 6,7 milhões de hectolitros (hL) de vinho, dos quais 61% tinto e 39% branco. Do total de adegas em laboração, a grande maioria são pequenas ou muito pequenas sem expressão em termos nacionais e apenas 475 adegas produziram mais de 1.000 hL, o que correspondeu a cerca de 85% da produção nacional. A produção média anual de Portugal é de cerca de sete milhões de hectolitros de vinho, o que corresponde à laboração de cerca de 10 milhões de toneladas de uvas (Regional, 2007).

Portugal é um dos países onde o vinho atinge uma expressão económica considerável, com uma produção média anual de 7.000.000 hL de vinho, o que corresponde a uma vinificação de 10.000.000 ton/ano de uvas. Por tal facto, a formação de resíduos é inevitável e o aproveitamento dos mesmos tem merecido mais atenção pelos responsáveis pela política vitivinícola, comunidade científica e áreas da dermocosmética e alimentar. São diversos os produtos a obter e diversas as matérias a valorizar e que correspondem a definidas operações tecnológicas, não só as que se referem à sua elaboração como igualmente à sua conservação.

A morfologia mais simples da uva está descrita na Figura 6.



1. Bago inteiro
2. Engaço
3. Película (pele ou casca)
4. Polpa
5. Grainhas

**Figura 6.** Morfologia da uva.

A casca da uva é mais rica em flavonoides, maioritariamente antocianinas e resveratrol, taninos e compostos voláteis. O engaço contém elevados teores de taninos enquanto a polpa da uva é rica em compostos bioativos, maioritariamente polifenóis glicosilados. Esta última também é rica em açúcares e ácidos orgânicos, como por exemplo o ácido tartárico. A semente, por sua vez, para além de ácidos gordos é igualmente rica em taninos e resveratrol.

Existem muitos subprodutos formados a partir da produção do vinho, nomeadamente as grainhas e os engaços (Figura 7), como também o bagaço, o folhelho, as borras e o sarro.



**Figura 7.** Exemplos de subprodutos da vitivinicultura (grainhas e engaços, respetivamente).

Estes resíduos são compostos por água, proteínas, lípidos, açúcares, vitaminas, minerais e compostos com propriedades biológicas importantes tais como fibra, vitamina C e compostos fenólicos (taninos, ácidos fenólicos, antocianinas e resveratrol). Dependendo do tipo de resíduos, das cultivares, das condições climáticas e das condições de cultivo, as concentrações destes compostos podem variar significativamente (Burin *et al.*, 2010; Ahmad e Ali Siahisar, 2011).

### 2.2.1. Grainhas

A grainha constitui 20 a 25% do peso do bagaço húmido e cerca de 40% do bagaço fortemente prensado e desengaçado e representa cerca de 3% em relação ao peso da uva (Silva, 2002). Podem ser reutilizadas nas indústrias de rações animais e adubos, bem como para a extração de proantocianidinas para as indústrias enológica e farmacêutica (Magnier, 1991). Como qualquer semente, as grainhas apresentam um teor de substâncias gordas considerável (14-20%), dependendo das condições das uvas quando colhidas (Ahmad e Ali Siahisar, 2011). No entanto, o rendimento do óleo não é muito significativo. Atualmente, o recurso ao óleo das grainhas e das próprias está direcionado para produtos de nutricosmética e estética, no entanto, a sua riqueza em compostos bioativos pode potenciar novas alternativas do seu uso na terapêutica farmacêutica.

Também já existem produtos com incorporação das grainhas de uva, concretamente em cosmeceúticos, como hidratantes, retinoides, antioxidantes, agentes despigmentantes e esfoliantes (Rivers, 2008).

### **2.2.2. Engaços**

São as matérias-primas mais pobres e de valorização mais simples. Os engaços, quando separados por máquinas apropriadas, constituem cerca de 3,5 – 4,5% da massa total da vindima. Até à data, existem poucos dados que forneçam a caracterização química dos engaços, sabendo-se apenas que contêm 50% de humidade e que na matéria seca predomina a celulose (~40%), a lenhina e, em menor quantidade, matéria tartárica. Pela escassez de compostos bioativos, o seu reaproveitamento é limitado, sendo corrente o seu uso como matéria-prima da indústria do papel e de materiais de construção, combustível e estrume. No entanto, face ao seu elevado conteúdo de celulose, este subproduto pode ser reutilizado na indústria farmacêutica para a obtenção de proteína vegetal. A celulose pode também ser importante para a obtenção de polímeros naturais e/ou naturais modificados como excipientes farmacêuticos para a formulação de cosméticos, medicamentos de libertação convencional e de libertação modificada. Nos dias atuais, os polímeros são desenvolvidos para atuarem como moduladores e direcionadores da libertação de fármacos em locais específicos no organismo. Polímeros biodegradáveis, bioadesivos, biomiméticos e hidrogéis têm sido amplamente incluídos em formulações farmacêuticas (Villanova e Oréfica, 2010). A celulose, um dos materiais mais utilizados como adjuvante farmacotécnico, é disponibilizada para a indústria farmacêutica com as mais variadas características de tamanho de partícula, graus de mistura, fluidez, densidade e outras propriedades físicas. De uma forma geral, as celulosas com faixas de tamanho de partícula maior, apresentam melhores propriedades de fluxo (Kibbe, 2000; Toller e Schmidt, 2005).

### **2.2.3. Folhelhos**

Entende-se por folhelho o conjunto das películas desidratadas isentas de grainhas e de engaços. O folhelho constitui cerca de 40 a 50% do peso do bagaço fresco e tanto pode ser utilizado como adubo húmido ou incorporado em alimentos para gado.

Este subproduto apresenta na sua composição química teores de humidade inferiores a 13%, celulose inferior a 22% e superioridade no teor proteico (> 11%). Este subproduto

pode ser considerado como uma mais-valia nas indústrias alimentares e farmacêutica devido à sua riqueza em antocianinas e resveratrol.

Também é do conhecimento geral que quanto mais intensa for a cor, quer do vinho quer das uvas, tanto maior o seu conteúdo em polifenóis. Além do resveratrol, existem outros polifenóis com interesse para a saúde humana, tais como os taninos, flavonas (e.g. quercetina) e os ácidos fenólicos.

Alguns estudos revelam que o resveratrol ajuda a diminuir os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumentar os níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL). O LDL, principalmente no seu estado oxidado, pode acumular-se nas paredes dos vasos sanguíneos, levando à formação de placas de ateroma. Essas placas originam a aterosclerose. O resveratrol tem, assim, importância na redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

#### **2.2.4. Aplicações farmacêuticas dos subprodutos da uva**

A indústria de derivados de uva gera diferentes produtos processados e desses são obtidos subprodutos como cascas e sementes, que constituem o resíduo da industrialização da uva e que podem ser reaproveitadas para a indústria farmacêutica e cosmética. Os compostos presentes na uva, como o resveratrol, o ácido linoleico, ácido palmítico, entre outros, bem como no bagaço apresentam propriedades fitoterápicas de elevada importância para as indústrias farmacêuticas, químicas e de alimentos, permitindo assim agregar valor a este resíduo industrial (Campos, 2005).

O resveratrol é conhecido pela medicina Oriental no tratamento de arteriosclerose, afeições inflamatórias e alérgicas. As suas particularidades polifenólicas conferem-lhe atividade anti agregação plaquetária, antioxidante e redutora de triglicédeos. De acordo com os estudos acerca das características farmacológicas deste composto, o resveratrol auxilia na redução dos níveis de lipídeos no plasma sanguíneo e a agregação plaquetária, elevando o HDL, que auxilia na remoção do LDL da corrente sanguínea, prevenindo desta forma a formação de trombos nas artérias. Esta substância apresenta estrutura molecular semelhante à estrutura do estrogênio sintético (dietilestilbestrol),

sendo assim apresenta propriedades farmacológicas similares ao estradiol (principal estrogênio humano natural).

Até ao momento atual, encontram-se comprovados cientificamente os seguintes benefícios do resveratrol:

- Aumento da resistência das fibras de colagênio, que desempenham um papel protetor sobre as paredes dos vasos sanguíneos;
- Disseminação das plaquetas responsáveis pela formação de coágulos e trombozes;
- Inibição da constituição de radicais livres, diminuindo a oxidação de lípidos que resultam na redução das placas de arteriosclerose;
- Diminuição da destruição de linfócitos, conservando o sistema imunológico;
- Beneficiar funções digestivas e aumentar o apetite;
- Possuem substâncias que atrasam o envelhecimento celular e orgânico.

Alguns estudos referem que o resveratrol apresenta efeitos benéficos na prevenção do cancro, devido à sua capacidade em diminuir a proliferação das células neoplásicas, por meio da inibição da proteína NK Kappa B, a qual está relacionada com a regulação da proliferação celular (Jang, 1997; Sautter *et al.*, 2005).

Foi lançada mais uma novidade que interessa principalmente as enófilas: os cosméticos elaborados com uva.

A casca da uva é uma fonte de antocianidinas e antocianinas, corantes naturais com propriedades antioxidantes. O engaço, por sua vez, é rico em taninos os quais apresentam alto potencial nutracêutico e farmacológico (Murga *et al.*, 2000). O extrato de procianidinas da semente da uva apresenta atividade antioxidante (Sato *et al.*, 2001) e poderia ser tão importante quanto a vitamina E na inibição dos danos oxidativos nos tecidos (Tebib *et al.*, 1997), reduzindo a oxidação lipídica (Bouhamidi *et al.*, 1998), e/ou inibir a produção de radicais livres (Bagchi *et al.*, 1998).

O óleo de semente de uva possui propriedades antioxidantes, que retardam o envelhecimento, pois tem um complexo de bioflavonoides conhecido como *Procyanidolic oligomers* (PCO), com ação comprovada contra os radicais livres.

Por outro lado, o uso dos corantes naturais provenientes da uva tornam-se essenciais para diminuir os impactos ambientais provocados pelos corantes sintéticos que são largamente eliminados para o meio ambiente por indústrias têxteis, químicas e farmacêuticas (Grinevicius, 2006). Dado o problema ambiental que geram, os resíduos dos subprodutos vînicos e de outras indústrias alimentares podem e devem ser diminuídos, desenvolvendo-se novos métodos de processamento e de recuperação (Makris *et al.*, 2007). Assim, a utilização de subprodutos vînicos para a recuperação de compostos antioxidantes podem representar um avanço na manutenção do equilíbrio do meio ambiente, pois as elevadas quantidades de resíduos gerados nas empresas vitivinícolas representarem também um problema ecológico (Rockenbach *et al.*, 2008).

### 2.3. Subprodutos da indústria do azeite



A indústria do azeite é uma das atividades agroindustriais mais antigas dos países da orla mediterrânica, resultando num setor fundamental na estrutura da produção agrícola e económica destes países.

Atualmente cerca de 95% da superfície oleícola mundial encontra-se na Bacia Mediterrânica, sendo os países da União Europeia tais como a Espanha, a Itália, a França, a Grécia e Portugal) os responsáveis por cerca de 71% da produção a nível mundial. Sendo a Tunísia (4,1%), a Turquia (5,4%), a Síria (6,6%), Marrocos (5,1%) e a Argélia (1,6%) os outros países produtores (<http://www.faostat.fao.org>).

O aumento crescente da produção de azeite nos últimos anos levantou a problemática entre o dimensionamento/capacidade dos lagares para laborarem continuamente e o escoamento dos produtos produzidos, azeite e subprodutos. As quantidades de resíduos e subprodutos produzidos, embora biodegradáveis e não sejam considerados perigosos constituem um grave problema ambiental. Geralmente, os subprodutos da indústria do azeite, são direcionados para a agricultura como fertilizantes, usados como fonte de energia nos lagares e alimentação animal.

A cultura da oliveira (*Olea europaea L.*) é considerada como uma das mais antigas do mundo. A sua origem está intimamente relacionada com a expansão das civilizações dos fenícios, gregos e romanos que se desenvolveram na bacia do Mediterrâneo, podendo-se encontrar referências na literatura em Ebla, no Norte da Síria, na Palestina, na Anatólia e no Egito, entre outros (Blazquez, 1996).

No século XII, em Coimbra e Santarém, já se praticava em escala apreciável a cultura da oliveira, a extração do azeite e o seu comércio, mas foi em Évora no ano de 1392 que se redigiu a primeira regulamentação do ofício de lagareiro (Saramago, 2001).

O crescimento da população das cidades no século XVIII impulsionou a expansão da produção de azeite atingindo um máximo de produção. Nos finais do séc. XIX e meados do séc. XX, registou-se uma queda na procura e conseqüentemente na produção de azeite devido ao desenvolvimento de técnicas muito pouco dispendiosas de extração de outro tipo de óleos usados para iluminação de casas e ruas. Com a crescente pobreza em Espanha, sul de Itália e Grécia o azeite tornou-se num bem essencial caro e inacessível para a maioria da população e conseqüentemente muitos produtores de azeite diminuíram a qualidade do azeite e os preços, por forma a aumentar a sua procura (Vossen, 2007).

Com a expansão e modernização da indústria do azeite, a competitividade no mercado oleícola levou a um aumento na qualidade do produto e a uma procura cada vez maior. Como já foi referidos os países meridionais da União Europeia, como Portugal, Espanha, Itália e Grécia são os principais produtores e consumidores mundiais de azeite, no entanto, devido às suas características únicas do azeite quer a nível organolético quer

a nível da aplicabilidade, as exportações alargaram-se para países como os E.U.A., o Brasil, o Canadá ou o Japão (Vossen, 2007).

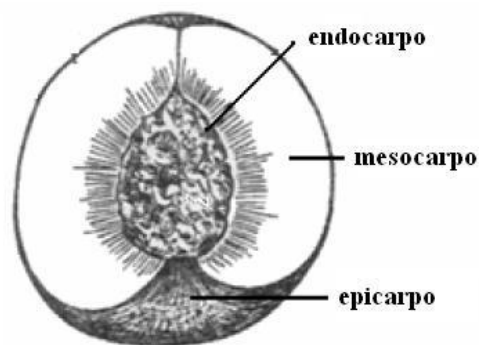
Na atualidade existem cerca de 330 mil hectares de olival plantados em Portugal, dos quais cerca de 40% em produção e área estão no Alentejo. Nos últimos 5 a 6 anos foram plantados 45.000 hectares de olival (70% dos quais no Alentejo, em regadio) e existem mais de 20.000 hectares de olival solicitado através de candidaturas ao PRODER.

### 2.3.1. O azeite

A oliveira (*O. Europaea* L.) é uma árvore pertencente à família *Oleaceae* e é a única espécie desta família que produz frutos comestíveis (COI, 1996; Barranco *et al.*, 2001).

Segundo Caldas (1998) esta terá sido a primeira planta de porte arbóreo a ser cultivada.

O fruto da oliveira tem a estrutura básica de uma drupa constituída por três tecidos principais: o epicarpo (pele), o mesocarpo (polpa) e o endocarpo (caroço) (Figura 8) contudo apresentam diferenças morfológicas e físico-químicas que o tornam distinto das restantes drupas (Barranco *et al.*, 2001; Cabezas, 2011; Hammami *et al.*, 2011).



**Figura 8.** Estrutura básica de uma drupa.

O azeite pode ser considerado o óleo comestível constituído principalmente por oleína e palmitina extraído da azeitona apenas por processos físicos (Ramiro Samouco, 1998), sendo o seu valor nutritivo o dobro da maioria dos cereais e dez vezes superior do que o

do vinho. Muitos povos da antiguidade, nomeadamente os Gregos, utilizavam o azeite como constituinte dominante da alimentação, mas também como óleo hidratante para aumentar a elasticidade dos músculos dos atletas, suavidade do corpo, flexibilidade e brilho dos cabelos.

Segundo Kiritsakis (1992) o azeite para além da sua ampla utilização na alimentação, era utilizado para fins medicinais, para proteger a pele das queimaduras, como cosmético (óleo aromático) e como combustível.

### **2.3.2. Os benefícios do azeite na saúde humana**

Uma dieta alimentar é considerada “um regime especial de alimentação que restringe a ingestão de certos alimentos e/ou reduz a sua quantidade, com o objetivo de perder peso ou por razões de saúde” (Dicionário on-line da Porto Editora). Em dezembro de 2013 no decorrer da 8.<sup>a</sup> sessão do comité intergovernamental da organização, que decorria em Baku a dieta mediterrânica foi aprovada pela UNESCO como Património Imaterial da Humanidade, consiste num sistema de alimentação saudável para uso diário de qualquer pessoa sadia, ou seja, uma forma de comer. O termo “dieta mediterrânica” refere-se aos padrões alimentares praticados em zonas da região mediterrânica onde se cultivava a oliveira. Esta dieta, rica na variedade de pratos e alimentos tem como um dos seus principais componentes o azeite. Ao contrário de outras dietas, a dieta mediterrânica não se enquadra nas dietas para casos particulares ou patológicos (Torrado, 2000).

A dieta Mediterrânica assume padrões alimentares do final da década de 50, praticados especialmente em Creta, em zonas da Grécia, no Sul de Itália e ainda que com algumas variações, na bacia do Mediterrâneo Oriental, nomeadamente em Portugal. De uma maneira geral, caracterizava-se pela abundância de:

- Hortaliças, legumes e frutos secos;
- Peixe, ovos e aves, em detrimento de carnes vermelhas;
- Lacticínios à base de queijo e iogurte;
- Cereais pouco refinados, sementes e leguminosas secas;

- Vinho, especialmente tinto, às refeições (Flandrin e Montanari, 1998).

Nos últimos anos tem-se vindo a dar um interesse especial à dieta Mediterrânica como resultado dos diversos trabalhos científicos que demonstram este regime alimentar com a diminuição do risco de doenças cardiovasculares, cancro, diabetes e declínio cognitivo e com o aumento da qualidade de vida e longevidade (Flandrin e Montanari, 2001).

Ao contrário de outras dietas, a gordura na dieta mediterrânica provém exclusivamente do azeite, baixa em gordura saturada, colesterol e gordura *trans* e rica em gordura monoinsaturada. O azeite é composto por ácidos gordos semelhantes aos de outros óleos vegetais, como os óleos de girassol e soja, contudo, estes últimos necessitam de ser refinados antes do consumo, o que altera a sua composição original. Por sua vez, o azeite é obtido a partir de processos mecânicos e físicos que não alteram a sua composição (Flandrin e Montanari, 2001; Simopoulos, 2001).

Diversos estudos demonstram que a substituição da gordura saturada por gordura monoinsaturada contribui para a diminuição dos níveis de colesterol LDL e para o aumento dos níveis de colesterol HDL e que os níveis de triglicéridos diminuem em dietas ricas em ácidos gordos monoinsaturados, comparativamente a dietas pobres em gordura e ricas em hidratos de carbono. Similarmente, o consumo de azeite está associado ao aumento da resistência à oxidação das lipoproteínas e gorduras insaturadas, a uma diminuição da pressão arterial, à melhoria do metabolismo da glicose e a efeitos anti-inflamatórios e anti-trombóticos (Peres, 2006).

O azeite também é composto por outros constituintes com características benéficas para a saúde, como por exemplo, a vitamina E, os fitoesteróides, os carotenóides e os compostos fenólicos (tabela 1).

**Tabela 1.** Principais classes de compostos fenólicos identificados na azeitona (Ghanbari *et al.*, 2012; Peres, 1995; Simopoulos, 2001; Vinha *et al.*, 2005).

<b>Álcoois fenólicos</b>	Hidroxitirosol (3,4 dihidroxifeniletanol) Tirosol ( <i>p</i> - hidroxifeniletanol)
<b>Flavonóides</b>	Rutina Luteolina 5-glucósido Luteolina 7- <i>O</i> -glucósido Apigenina 7- <i>O</i> -glucósido
<b>Ácidos fenólicos</b>	Ácido clorogénico Ácido cafeico Ácido protocatecuico Ácido vanílico Ácido ferúlico Ácido benzóico Ácido cinâmico Ácido gálico Ácido <i>p</i> -cumárico
<b>Secoiridoides</b>	Oleuropeína Demetiloleuropeína
<b>Derivado ácido Hidroxicinâmico</b>	Verbascosídeo

Ao longo dos anos tem-se vindo a efetuar diversos estudos relativos aos benefícios do azeite na dieta mediterrânea, assim podemos resumir alguns dos benefícios do azeite como:

- Ajudar na redução da taxa de colesterol total e aumentar as lipoproteínas de alta densidade (HDL) e diminuir as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) diminuindo o risco de doenças cardiovasculares;
- Proteger o sistema digestivo e regular o trânsito intestinal;
- Favorecer o normal crescimento ósseo estimulando o crescimento e a absorção de cálcio;
- Prevenir a diminuição das funções cerebrais com a idade e o envelhecimento dos tecidos e órgãos em geral;
- Funcionar como fonte natural de vitaminas, nomeadamente, as vitaminas E e K;
- Face às suas propriedades antioxidantes prevenir o cancro;
- Diminuir a agregação das plaquetas sanguíneas e consequentemente reduzir o risco de trombose (Monteiro, 1999).

O azeite pode ser utilizado em todas as formas de confeitaria sem ocorrer a formação de substância nocivas à saúde, nomeadamente os ácidos gordos *trans*, como acontece com outras gorduras pois este suporta temperaturas muito elevadas (até 210°-220°C) sem degradação significativa (Santos, 2010).

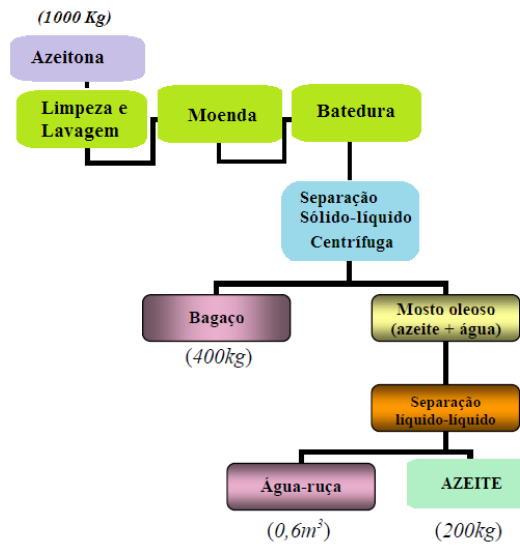
### 2.3.3. Subprodutos da extração do azeite

O processo de extração do azeite origina uma quantidade de subprodutos sólidos e líquidos, (Figura 9 e Tabela 2), que para serem reaproveitados carecem de um prévio tratamento físico-químico e biológico que as transformem em produtos de excelente qualidade não provocando impactos negativos ao ambiente e ao Homem, assim, não podem ser deixadas ao abandono (Sebadelhe, 2005). Os subprodutos originários do sistema de extração de azeite por pressão e por centrifugação de 3 fases são constituídos por uma fase líquida (água ruça) e por uma fase sólida (bagaço de azeitona) (Figura 10). No sistema de extração de azeite por centrifugação de duas fases, Figura 10, também designado por ecológico, a fase sólida (bagaço) e líquida (água ruça) ficam juntas (Fernández *et al.*, 1996) sendo este subproduto denominado de bagaço húmido ou ecológico. A evolução tecnológica verificada nos últimos anos, originou um aumento de produção de bagaços húmidos (obtidos nos sistemas de centrifugação de duas fases) evitando a produção de águas ruças (Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007b).

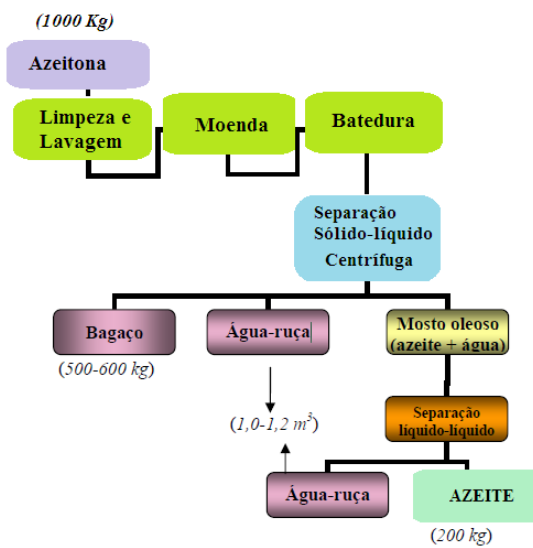


**Figura 9.** Esquema de obtenção dos subprodutos da indústria do azeite.

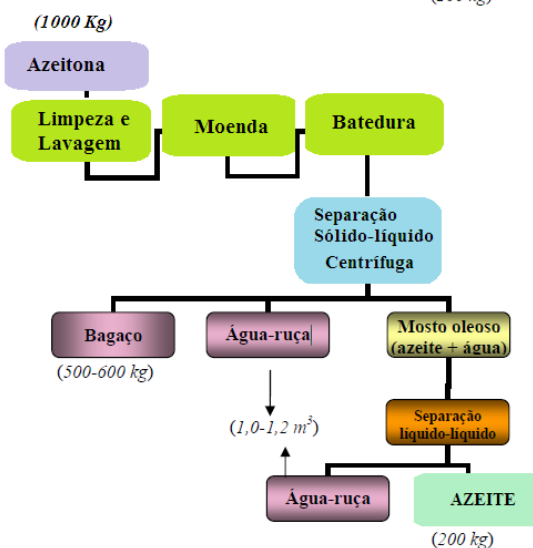
A



B



C



**Figura 10.** Esquema do sistema de extração de prensas (A), sistema de extração contínuo de duas fases (B), sistema de extração contínuo de três fases(C) (Aires, 2007).

**Tabela 2.** Subprodutos da indústria do azeite e respetiva valorização.

Subproduto	Bagaço	Águas Ruças	Folhas	Caroço
<b>Valorização</b>	- Compostos orgânicos; - Óleo de bagaço	- Lamas fertilizantes; - Biogás; - Biomassa; - Biocombustível.	- Extração de compostos fenólicos.	- Aquecimento

#### 2.3.4. Águas-ruças

A água-ruça é um licor aquoso, composto por água de vegetação e por tecidos brandos da azeitona e pela água usada nas distintas etapas da laboração do azeite (Niaounakis e Halvadakis, 2006; Peres 2006). De acordo com o Concelho Oleícola Internacional COI (1984), água-ruça, designada em castelhano por *alpechin*, é o líquido aquoso residual obtido no processo de produção do azeite e que engloba a água de constituição da azeitona, a água de adição e lavagem e uma percentagem variável de elementos sólidos.

A composição das águas-ruças varia segundo a composição da água de vegetação, o processo de extração de azeite e a duração e características do armazenamento. Já a composição da água de vegetação varia com a variedade das oliveiras, o estado de maturação da azeitona, o teor de água dos frutos, as características do solo do olival, a época de colheita dos frutos, a presença de pesticidas e o uso de fertilizantes. Relativamente ao processo de extração, sabe-se que a quantidade de água utilizada no lagar varia de acordo com o tipo de equipamento de extração e com as diferentes técnicas operacionais (Niaounakis e Halvadakis, 2006). O armazenamento altera a composição das águas-ruças como resultado das fermentações aeróbias ou anaeróbias dos vários compostos orgânicos provocando a libertação de compostos voláteis, aumento da acidez e a precipitação de sólidos suspensos (Cabrera, 1995; Candeias, 1996; Niaounakis e Halvadakis, 2006).

Segundo alguns estudos existe uma grande heterogeneidade na composição das águas-ruças, contudo estas apresentam uma composição genérica de 83 a 96% de água, 3,5 a 15% de matéria orgânica (gorduras, açúcares, substâncias azotadas, ácidos orgânicos, polialcoois, pectinas, mucilagens, taninos e polifenóis) e 0,2 a 2,0% de sais minerais nomeadamente, potássio, sódio, carbonatos e fosfatos (COI, 1996). A água-ruça recém-produzida apresenta um odor semelhante ao do azeite que após fermentação torna-se desagradável, para além do impacto negativo em termos ambientais (Cabrera, 1995).

Em termos microbiológicos, a água-ruça apresenta um número considerável e bastante variável de bactérias e fungos. Já foram identificadas várias espécies de bactérias, *Actinetobacter*, *Pseudomonas* e *Enterobacter*, e nas lagoas de armazenamento, vários géneros de fungos: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chalara*, *Phytomyces*, *Rhinochadiella* e *Scopulariopsis*. Alguns fungos demonstram capacidade de eliminar a toxicidade das águas-ruças, sendo utilizados nos tratamentos biológicos para a degradação de compostos fenólicos (Niaounakis e Halvadakis, 2006).

Também fazem parte da constituição das águas-ruças os açúcares e, entre estes, os diretamente fermentescíveis como a glucose e a frutose. Relativamente aos ácidos orgânicos, estão presentes nas águas-ruças os ácidos acéticos, fumárico, glicérico, láctico, malárico, tartárico e oxálico, entre outros. Foram identificados variados aminoácidos, nomeadamente, o ácido glutâmico e a prolina. As águas-ruças possuem em quantidade muito pequenas substâncias cerosas e resinosas, bem como vitaminas e hormonas (Ranali, 1991).

Os compostos fenólicos presentes nas águas-ruças em concentrações entre 0,5 e 24 g l<sup>-1</sup>, constituem um grupo particular de substâncias orgânicas antioxidantes, lentamente biodegradáveis, responsáveis pela cor acastanhada confere-lhes propriedades anti bactericida e carácter fitotóxico. Por outro lado sendo solúveis em água, manifestam ação herbicida. A ação antioxidante e bactericida pode influenciar o ciclo oxidativo dos nutrientes orgânicos e minerais presentes no terreno em particular nos processos de oxidação dos compostos amoniacais (Pagliai *et al.*, 2001).

Segundo Ranali (1991) o poder antimicrobiano da água-ruça resulta da desnaturação das proteínas celulares dos microrganismos que ocasionando danos nas membranas celulares dos mesmos. Diversos compostos fenólicos têm sido identificados nas águas-ruças podendo ser divididos em quatro grupos: derivados do ácido dinâmico, derivados do ácido benzoico, derivados do hidroxifenilacético e os flavonoides diferentes eficiências de extração (Fragoso, 2003).

Segundo De Marco *et al.* (2006), um dos compostos fenólicos mais abundantes é o hidroxitirosol que apresenta um elevado poder antioxidante, tal como o ácido cafeico. As águas ruças também contêm compostos fenólicos com apenas um grupo hidroxilo e conseqüentemente com um menor poder antioxidante, como o tirosol, o ácido *p*-cumárico e o ácido *p*-hidrofenilacético. O tirosol e seus derivados são resistentes à degradação oxidativa, enzimas e bacteriológicas, no entanto, apresentam um caráter altamente poluente (Niaounakis e Halvadakis, 2006). Outros compostos fenólicos também foram identificados nas águas-ruças, como por exemplo o ácido protocatéquico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido ferúlico, a oleuropeína, a luteolina, o ácido *p*-hidroxibenzoico (Ranali, 1991; Fragoso, 2003; De Marco *et al.*, 2006; Roig *et al.*, 2006).

Segundo Fragoso (2003), durante o armazenamento ocorrem alterações na composição fenólica das águas-ruças. Segundo este autor, durante o armazenamento do efluente em tanque ocorre um aumento na concentração de hidroxitirosol resultante da hidrólise da oleuropeína e do tirosol, e uma redução da concentração dos restantes compostos. Este facto poderá condicionar a gestão das águas-ruças, nomeadamente no que respeita a sua utilização.

Durante os últimos anos, muitos esforços têm sido realizados para ser encontrada uma solução que permita resolver o problema gerado pelos efluentes dos lagares de azeite, aumentando o potencial valor comercial das águas-ruças. A reciclagem e a utilização das águas-ruças como fertilizante e pela multiplicidade dos seus usos também é vantajosa, designadamente:

- Produção de biogás (como valores de orientação pode indicar-se que, a partir de 1 m<sup>3</sup> de água-ruça, se pode produzir cerca de 30 m<sup>3</sup> de biogás, a partir do qual se pode gerar por metro cubito cerca de 70 kWh de energia elétrica e 150 kWh de energia térmica);
- Utilização das substâncias antioxidantes naturais (polifenóis), destinadas a indústria alimentar, farmacêutica e da cosmética;
- Produção de proteína de organismos unicelulares mediante a utilização de certas de leveduras (especialmente dos géneros *Saccharomyces* e *Candida*), para utilização na alimentação animal;
- Utilizada como meio de crescimento de algas como a *Dunaliella* ou a *Spiroliina*, para produção de biomassa ou de β-caroteno;
- Utilização como substrato para produção microbiana de polissacáridos de interesse industrial ou farmacológico e
- Utilização como substrato para produção de etanol por leveduras isoladas do próprio efluente, como a *Candida wickerhamii*, *Candida molischiana* e *Saccharomyces cerevisiae* (Fragoso, 2003).

### 2.3.5. O bagaço

O bagaço é constituído pelas películas, caules e outros resíduos.

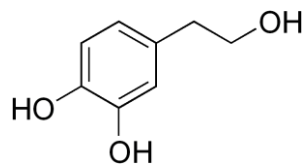
O bagaço resultantes dos lagares de duas fases são subprodutos sólidos muito fluidos, moderadamente ácidos, ricos em potássio, pobres em fosforo, cálcio e magnésio e contem um teor intermédio de azoto, a maior parte deste na forma orgânica. Possui também cobre, manganês e zinco, mas em níveis bastante inferiores. O teor de matéria orgânica em lenhina, hemicelulose e celulose é elevado, sendo os outros compostos orgânicos as gorduras, os hidratos de carbono hidrossolúveis e as proteínas. Estes apresentam uma pequena quantidade de fenóis hidrossolúveis que têm sido relacionados com efeitos fitotóxicos e antimicrobianos destes subprodutos (Albuquerque *et al.*, 2004; Cegarra *et al.*, 2004).

O facto de ser praticamente isento de contaminação microbiana e de metais pesados, torna o bagaço num material interessante do ponto de vista da sua utilização como

corretivo orgânico. No entanto, dadas as características físicas do mesmo, nomeadamente no elevado grau de humidade e fluidez, o seu escoamento é um problema grave para os lagareiros, acarretando um encargo económico adicional.

A partir do bagaço é possível obter o óleo de bagaço, por extração com solventes orgânicos. Este óleo extraído pode ser utilizado tanto para a alimentação como na produção de sabão (Olive Pomace).

Outra aplicação do bagaço é a obtenção de compostos orgânicos de interesse comercial através de compostagem por fermentação aeróbia controlada de bagaços, folhas e resíduos pecuários (Pinto, 2003; Laboratório Nacional de Energia e Geologia, 2011). Alguns estudos demonstraram que é possível extrair compostos fenólicos do bagaço e os resíduos daí resultantes apresentam um impacto ambiental reduzido (Aliakbarian *et al.*, 2011). O hidroxitirosol (HT) ou 3,4-dihidroxifeniletanol (Figura 11) é um composto fenólico pertencente ao grupo dos secoiridóides com propriedades antioxidantes reconhecidas (de Leonardis *et al.*, 2008). Segundo Schaffer *et al.* (2007) o HT apresenta proteção neurológica e pode contribuir para diminuir a incidência de doenças degenerativas. Exerce ainda efeitos positivos no sistema cardiovascular (Visioli e Galli, 1999), inibe a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Aruoma *et al.* (1998) e inibem a agregação das plaquetas (Petroni *et al.*, 1995). O HT demonstrou ainda atividade antimicrobiana *in vitro* (Bisignano *et al.*, 1999).



**Figura 11.** Estrutura química do hidroxitirosol ou 3,4-dihidroxifeniletanol.

### 2.3.6. O caroço

O caroço originado durante o processo de produção de azeite é bombeado e lançado numa máquina de descaroçamento que separa o caroço dos outros constituintes. O caroço limpo é reutilizado na produção de energia calorífica para aquecimento de águas,

e o excesso vendido para a indústria de panificação e para caldeiras de aquecimentos centrais de habitações e edifícios públicos. Este é um subproduto que tem grande procura uma vez que apresenta elevado poder calorífico com pouca emissão de fumos e faúlhas e também de fácil manuseamento (Pinto, 2003).

### 2.3.7. A folha da oliveira

A folha da oliveira apresenta mais de 40 compostos fenólicos de interesse, contudo ainda é bastante subaproveitado (Figura 12). Estes compostos fenólicos têm sido descritos como apresentando efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-aterogénicos e ainda possíveis efeitos anticancerígenos (Kajozanosca *et al.*, 2011).



**Figura 12.** Folha da oliveira.

As folhas de oliveira são ricas em bifenois (60-90 mg/g base seca) embora estejam igualmente na árvore e no fruto (pele, polpa e caroço) dos quais se destacam a oleuropeína e o hidroxitirosol (Micol *et al.*, 2005).

À oleuropeína são atribuídos vários benefícios para a saúde, nomeadamente, a prevenção de doenças cardiovasculares, a proteção de enzimas e células hipersensíveis em pacientes cancerígenos (Bonoli *et al.*, 2004). Como vasodilatador, a oleuropeína aumenta a velocidade da corrente sanguínea na artéria coronária e melhora a arritmia (Zaruelo *et al.*, 1991). Também favorece o metabolismo lipídico reduzindo problemas de obesidade (Japon-Lujan *et al.*, 2006) e apresenta propriedades antivíricas (Ucella, 2001). Este bifenol é um forte antioxidante e possui propriedades anti-inflamatórias

(Visioli e Galli, 2002) que segundo outros estudos possui também atividade antimicrobiana sobre vírus, retrovírus, bactérias, leveduras, fungos, bolores e outros parasitas (Guinda, 2006).

A oleuropeína permite a fortificação celular e do sistema imunitário através dos macrófagos (Visioli *et al.*, 1998), inibição da agregação das plaquetas (Petroni *et al.*, 1995) e reduz em cerca de 30% o nível do LDL (Visioli e Galli, 1994).

Por todos os motivos supracitados, este trabalho deixa em aberto futuros estudos sobre o reaproveitamento dos sub-produtos do azeite para a indústria farmacêutica.

#### 2.4. Subprodutos da castanha *sativa*

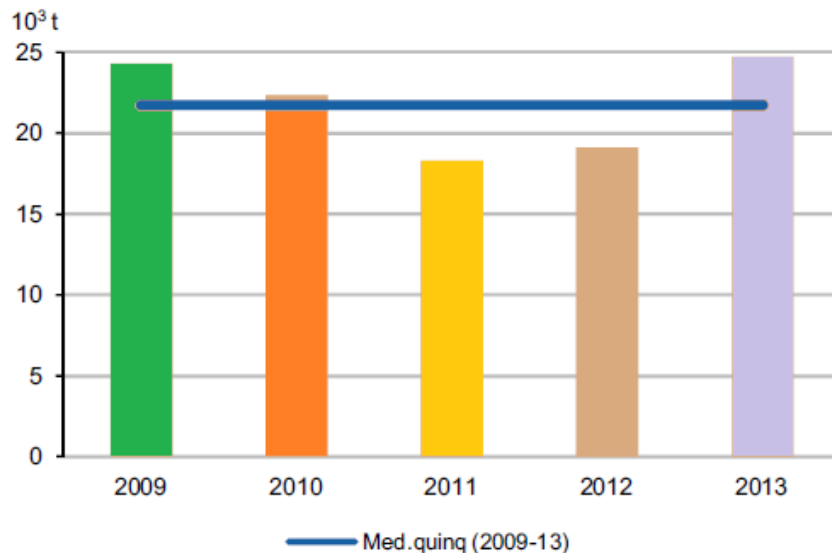


A castanha (*Castanea sativa* Mill), foi, durante muito tempo, o principal alimento das populações rurais. Na época, este fruto foi considerado de qualidade inferior sendo utilizado apenas para a alimentação animal, para aumentar a qualidade da qualidade da carne, nomeadamente nos suínos.

Atualmente, a agroindústria do processamento da castanha utiliza este fruto para fins alimentares.

A *Castanea sativa* Mill. é uma espécie de castanha que pertence à família *Fagaceae*, encontrando-se maioritariamente presente em países do sul da Europa e da Ásia. Em Portugal, a área ocupada por castanheiros é cerca de 30.500 hectares, dando origem a uma produção de mais de 20.500 toneladas anuais de castanha (Figura 13). As áreas de produção mais representativas são Bragança, Chaves, Guarda e Portalegre, onde são

produzidas as cultivares *Cota*, *Judia*, *Longal*, *Matainha*, *Bária*, *Rebordã* e *Colarinha*. Em Portugal a castanha tem quatro Denominações de Origem Protegida (DOP): Castanha da Terra Fria; Castanha dos Soutos da Lapa, Castanha da Padrela e Castanha de Marvão (INE, 2013).



**Figura 13.** Produção anual de castanha no período entre 2009 e 2013 (INE).

A castanha é considerada uma importante fonte de energia, face ao elevado teor em amido, hidratos de carbono e sais minerais, principalmente, fósforo, potássio e ferro (de Vasconcelos *et al.*, 2010; Barreira, 2012), conforme Tabela 3.

A castanha é constituída por minerais de elevada importância na manutenção dos processos biológicos do organismo, podendo estes funcionar como cofatores enzimáticos e intervir nos processos de digestão e absorção (Gonçalves, 2010; Cruz, 2013). Os ácidos gordos polinsaturados, como o ácido oleico e linoleico estão associados à prevenção de doenças cardiovasculares (Livingstone *et al.*, 2013). A vitamina E, presente na castanha na forma de  $\alpha$ -tocoferol, atua como antioxidante prevenindo a peroxidação lipídica pelas espécies reativas de oxigénio e o desenvolvimento de doenças neuro degenerativas (Engelhart *et al.*, 2002; Barreira *et al.*, 2012). Pode também ser usada como marcador de autenticidade, permitindo a

identificação de diferentes variedades de castanha, de acordo com o seu perfil de tocoferóis e tocotrienóis (Barreira *et al.*, 2009).

**Tabela 3.** Composição e valor energético do miolo de castanha (adaptado de Tabela da Composição de Alimentos, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge).

Componentes	Composição da castanha por 100g de produto edível
Valor Energético	185 kcal
Água	48,5 g
Proteína	3,1 g
Gordura total	1,1 g
Glúcidos totais	39,8 g
Amido	30 g
Fibra alimentar	6,1 g
Vitamina C	51 mg
Folatos	61 µg
Potássio	500 mg
Fósforo	63 mg
Magnésio	33 mg
Cálcio	20 mg

A indústria de processamento da castanha apresenta variadas fases, e durante todo o processo é gerada uma elevada quantidade de resíduos de produção, onde cerca de 20% corresponde à casca da castanha.

Os subprodutos gerados na indústria na sua maioria não têm qualquer utilização. A valorização dos subprodutos, casca e ouriço, podem originar a novos ingredientes com qualidades biológicas com várias utilizações na indústria, nomeadamente, a alimentar, a cosmética e a farmacêutica. O ouriço e a casca são comumente utilizados na produção de biocombustível e esta valorização, poderá conduzir à maior sustentabilidade do processo de produção de castanha (Vázquez *et al.*, 2009).

### 2.4.1. Novas aplicações da castanha

A indústria de processamento de castanha utiliza principalmente o fruto para fins alimentar, sendo os outros subprodutos, a folhas, a cascas e os ouriços considerados resíduos (Figura 14).



**Figura 14.** Subprodutos da castanha, a folhas, a cascas e os ouriços.

Estes subprodutos são usados como combustível ou são simplesmente considerados lixo, não lhes sendo atribuída qualquer outra aplicação. Vários estudos demonstraram que os subprodutos da castanha são uma boa fonte de compostos fenólicos, com elevada atividade biológica, principalmente capacidade antioxidante (Barreira *et al.*, 2008; Vázquez *et al.*, 2012). Neste sentido, os extratos dos subprodutos da castanha podem contribuir para a sustentabilidade desta indústria, sendo necessário o desenvolvimento de métodos de baixo custo, capazes de extrair compostos com atividade biológica passíveis de serem utilizados em diferentes industriais, diminuindo assim o impacto negativo destes resíduos sobre o meio ambiente. A indústria poderá assim alcançar benefícios através de uma gestão sustentável, acompanhada de um melhor desempenho económico e ambiental, com base no uso eficiente de recursos, materiais e energia (Husgafvel *et al.*, 2013).

A madeira do castanheiro pode ser utilizada na indústria vinícola para a construção de barris (Alañón *et al.*, 2012; Alañón *et al.*, 2013). Esta madeira apresenta níveis elevados de compostos fenólicos, voláteis e aldeídos, principalmente derivados da vanilina, que podem ser utilizados no processo de envelhecimento do vinho, conferindo-lhe

características particulares e diferenciadores que aumentem a aceitação por parte do consumidor final (Alañón *et al.*, 2012).

Segundo Sánchez-Martín e seus colaboradores a casca da castanha poderá ser utilizada como bioabsorvente para corantes catiónicos com resultados promissores para o meio ambiente. Assim sendo, os subprodutos do processamento da castanha poderá num futuro próximo originar novos produtos de valor acrescentado para a saúde, gerando um aumento dos lucros para a indústria alimentar. Concomitantemente, o meio ambiente é tido em conta, procurando sempre trabalhar numa base de sustentabilidade e de química verde (Sánchez-Martín *et al.*, 2011).

Por outro lado, a castanha é um fruto isento de glúten, o que o torna útil na produção de produtos alimentares para os doentes com doença celíaca. Hoje em dia é possível encontrar no mercado pão sem glúten derivado da flor da castanha (Demirkesen *et al.*, 2010). A flor da castanha também apresenta propriedades antitumorais e antimicrobianas, o que a torna interessante para novas aplicações na indústria farmacêutica e na indústria alimentar (Carocho *et al.*, 2014).

O amido da castanha apresenta um elevado teor de amilose com características elásticas, podendo ser utilizada na indústria alimentar para melhorar a textura das massas. Também foram descritos efeitos benéficos para a saúde provenientes do consumo de castanha, como é o caso das fibras que ajudam a melhorar o trânsito intestinal (Federici *et al.*, 2009; Herrero, 2011).

#### **2.4.2. Folhas**

As folhas da castanha, outrora usadas para a produção de infusões utilizadas no tratamento de variados problemas de saúde, diarreia, tosse, problemas digestivos, problemas capilares, vêm a sua valorização reforçada devido à presença de compostos bioativos, antioxidantes, na sua composição (Salgueiro, 2010).

As propriedades antioxidantes apresentadas pelo extrato de folhas de *C. sativa* tiveram bons resultados na prevenção do stresse oxidativo em células pancreáticas de ratos

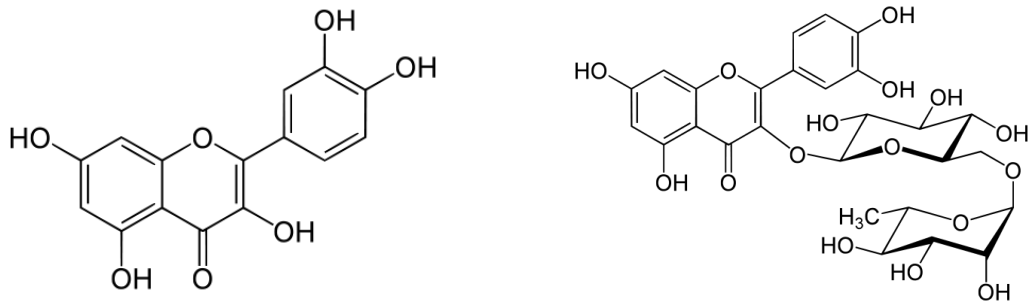
(Lenzen, 2008). Os extratos foram capazes de aumentar a viabilidade celular após o tratamento com *Streptozotoci*, inibindo a peroxidação lipídica verificando-se um aumento nas concentrações de glutathiona GSH, o que comprova o efeito positivo destes extratos na prevenção da diabetes (Lenzen, 2008).

As plantas cuja composição tem moléculas bioativas apresentam a capacidade de interagir com os microrganismos no meio ambiente, nomeadamente, à inibição do crescimento de bactérias e fungos, característica da atividade antibacteriana, ou modular o desenvolvimento de outros vegetais, demonstrando uma atividade alelopática (Mujic *et al.*, 2011).

O desenvolvimento de resistência aos agentes antibacterianos do mercado e a escassez de agentes antifúngicos eficazes estimula a pesquisa de novas moléculas com efeitos terapêuticos. Os compostos fenólicos sintetizados pelas plantas em resposta a infeções microbianas, podem atuar como agentes antimicrobianos naturais (Silver e Bostian, 1990). A sua presença destes pode ser importante na indústria alimentar para aumentar o prazo de validade dos alimentos (Cowan, 1999). O mecanismo de ação destes antifúngicos naturais pode dever-se à ação direta na membrana ou na parede celular dos microrganismos (Cowan, 1999). Por outro lado, a eficácia dos compostos fenólicos no crescimento de bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) e bolores foi comprovada pela realização de ensaios microbianos (Tian *et al.*, 2009).

O extrato aquoso das folhas da castanha *sativa* demonstrou ser eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas contra sete estirpes bacterianas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter cloacae*. As bactérias mais sensíveis ao extrato das folhas da castanha *sativa* foram as *E. aerogenes* e as *S. aureus*. A concentração mínima para o efeito foi de 62,5 µg/ml (Raccach, 1984).

A quercetina e a rutina (Figura 15) foram os flavonoides mais ativos nos ensaios antibacterianos (Raccach, 1984). A quercetina atua pela inibição das girases através da interação com moléculas de ADN e com a ligação das girases à adenosina trifosfato (ATP) (Basile, 2000).



**Figura 15.** Estrutura química da quercetina e da rutina.

A rutina promove seletivamente a clivagem da topoisomerase-IV com o ADN, induzindo a resposta das *E. coli* (Tian *et al.*, 2009). Esta atividade pode inibir o crescimento das células de *E. coli*, pois a topoisomerase-IV é essencial para a sobrevivência celular destes microrganismos (Plaper *et al.*, 2003). Assim, os extratos das folhas da castanha *sativa* podem vir a ter um enorme potencial na indústria farmacêutica e na indústria alimentar.

O envelhecimento da pele devidos às agressões das radiação ultravioleta (UV) da luz solar e o envelhecimento natural da pele está relacionado com o stresse oxidativo (Matsumura e Ananthaswamy, 2004). Os efeitos adversos visíveis após algumas horas de exposição ao sol tais como: a vermelhidão e o ardor, resultantes da libertação de substâncias que originam vasodilatação e eritema são facilmente visíveis. Os efeitos a longo prazo destas agressões resultam fotoenvelhecimento, perda de elasticidade, aparecimento de manchas e, numa situação extrema, cancro da pele (Matsumura e Ananthaswamy, 2004). As radiações de UV provocam danos na pele como consequência da produção de radicais livres, os quais interagem com proteínas, lípidos e ADN, resultando em modificações estruturais e funcionais no tecido cutâneo (Figura 16) (Bernard *et al.*, 1997, Ayala *et al.*, 2013).



**Figura 16.** Imagem do fotoenvelhecimento da pele (<http://wtpeliculas.com.br>).

As radiações UV e os ROS estão associados às doenças de pele, como eritema, cancro, psoríase, acne, vasculite cutânea, dermatite de contato alérgica e fotoenvelhecimento (Bernard *et al.*, 1997; Ayala *et al.*, 2013). Os compostos fenólicos são considerados os inibidores mais eficazes contra a dermatite de contacto (Sander *et al.*, 2004). Estes compostos atuam através de mecanismos não-específicos como atividade antioxidante, mas também por mecanismos específicos, como a inibição dos mediadores envolvidos na resposta imunitária, demonstrando propriedades anti-inflamatórias (Sander *et al.*, 2004; Rios *et al.*, 2005). Neste sentido, o fotoenvelhecimento pode ser prevenido utilizando antioxidantes tais como a vitamina C e vitamina E (Nichols e Katiyar, 2010; Almeida *et al.*, 2013).

Um estudo no qual se avaliou a aplicação dos extratos etanólicos de *C. sativa* para futuras aplicações tópicas mostrou que estes extratos apresentaram uma forte absorção a 280 nm, o que faz prever uma possível eficácia na prevenção dos danos provocados por radiações UV (Lin *et al.*, 2003). O extrato era constituído essencialmente, por compostos fenólicos, como o ácido clorogénico, o ácido elágico, a rutina e a quercetina (Lin *et al.*, 2003). Um outro estudo caracterizou uma formulação tópica contendo um extrato etanólico de folhas de *C. sativa* definindo que a estabilidade física, microbiológica e funcional do extrato é de 6 meses para valores de temperatura entre 20°C e 40°C (Nichols e Katiyar, 2010). O aumento da temperatura acima dos 40°C provoca modificações nas propriedades reológicas da formulação e pode diminuir a eficácia antioxidante do extrato. Este resultado pode estar associado à instabilidade da

rutina a temperaturas mais elevadas que é o principal composto fenólico do extrato (Nichols e Katiyar, 2010).

A formulação tópica de extrato de folha de *C. sativa* demonstrou-se segura e estável, podendo ser utilizada na indústria cosmética para a prevenção e tratamento do stresse oxidativo e do fotoenvelhecimento.

### **2.4.3. Cascas**

As cascas da castanha contêm compostos fenólicos, os quais conferem propriedades antioxidantes bem como a possibilidade de serem utilizadas em novas aplicações para além da produção biocombustível.

#### **a) Potencial utilização como adsorvente de metais**

A toxicidade dos metais como o cobre, chumbo, zinco e cádmio, são facilmente encontrados em efluentes industriais e a sua bioacumulação são fatores de preocupação para a saúde pública (Sander *et al.*, 2004). Assim de extrema importância a sua remoção das águas residuais para uma futura separação, recuperação e reutilização (Almeida *et al.*, 2010).

A bioadsorção com subprodutos ou resíduos provenientes de operações industriais e da agricultura pode ser uma nova alternativa às tecnologias convencionais, com as vantagens da elevada eficiência, o baixo custo e a regeneração de bioadsorventes (Garg *et al.*, 2007).

A nível da sustentabilidade e do ambiente, esta nova utilização de resíduos agroindustriais, pode conduzir a uma melhoria ambiental e a uma diminuição dos custos associados à bioacumulação de metais pesados na água e no solo.

A casca da castanha demonstrou ser boa alternativa para a remoção de íons tóxicos de águas residuais com a mesma eficiência e menores custos, comparativamente com outros adsorventes disponíveis no mercado (Díaz Reinoso *et al.*, 2012; Barakat, 2011).

A casca da castanha após tratamento com formaldeído em meio ácido para polimerizar e imobilizar os compostos fenólicos solúveis em água apresenta a capacidade de adsorção dos íons segundo a seguinte ordem de afinidade:  $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+}$  (Vázquez *et al.*, 2009).

Segundo este estudo, os grupos funcionais como o grupo carbonilo, o grupo amino e os grupos hidroxilo estarão envolvidos na captação de metais (Vázquez *et al.*, 2009). Além disso, verificou-se um aumento da capacidade de adsorção com o aumento da temperatura e do pH (Vázquez *et al.*, 2009).

#### **b) Potencial utilização como substituto do fenol na formulação de colas**

A indústria madeireira utiliza colas constituídas por uma mistura de fenol com formaldeído, ureia com formaldeído e melamina, ureia e formaldeído (Vázquez *et al.*, 1994).

A mistura de fenol com formaldeído é a mais utilizada para aplicações exteriores, proporcionando uma alta resistência à humidade e uma boa estabilidade à temperatura (Olivares *et al.*, 1988). Contudo estas misturas apresentam problemas ambientais associadas aos custos do fenol (Olivares *et al.*, 1988; Çetin e Özmen, 2002). A utilização de substitutos naturais ao fenol, tais como taninos e lignina são alvo de estudos. Estes substitutos naturais para além dos benefícios naturais económicos e ambientais apresentam similaridade estrutural e elevada reatividade (Zhang *et al.*, 2013; Hoong *et al.*, 2011). Com efeito, os taninos da casca da castanha em condições otimizadas podem ser utilizados como potenciais substitutos do fenol (Vázquez *et al.*, 2009).

c) **Potencial aplicação na indústria do curtimento de peles**

O tratamento de águas residuais do curtimento das peles é um dos maiores problemas na indústria do couro de elevados custos e de difícil controlo (Hoong *et al.*, 2011). Cerca de 90% do processo curtimento das peles recorre ao uso de sais de crómio (III), que é considerado um resíduo perigoso para a saúde pública (Marsal *et al.*, 2012; Sundar *et al.*, 2002). O crómio (III) é utilizado no processo de curtimento das peles para evitar-se a sua degradação estabilizando a estrutura de colagénio (Marsal *et al.*, 2012). A utilização de taninos vegetais na substituir os sais de crómio na indústria dos curtumes é uma opção vantajosa quer para o meio ambiente quer para a indústria dos curtumes pois permite isolamento das fibras naturais contra fungos e bactérias que são as responsáveis pela degradação da pele conferindo ainda diferentes propriedades organoléticas e químicas aos couros (Sundar *et al.*, 2002; Falcão e Araújo, 2011). O rendimento da extração de taninos da casca da castanha encontra-se entre 8,7 e 49,4% valores estes próximo dos valores descritos para taninos já comercializados (42-43%) (Vázquez *et al.*, 2009). Os taninos extraídos eram do tipo condensado e as massas moleculares médias adequadas à utilização na indústria de peles (Vázquez *et al.*, 2009).

**2.4.4. Ouriços**

Apesar dos poucos estudos acerca da utilização dos ouriços da castanha, Moure *et al.* (2001) analisaram ouriços de castanha e verificaram que estes apresentam um elevado potencial antioxidante, semelhante ao de antioxidantes sintéticos encontrados no mercado. Por outro lado, outros estudos revelaram que os ouriços são uma fonte rica de fibra, com potenciais aplicações na indústria alimentar e no desenvolvimento de nutracêuticos (Subramani *et al.*, 2011).

## Conclusões

---

A produção de resíduos da indústria agroalimentar é uma problemática que preocupa a sociedade atual. As políticas atuais relativas aos resíduos e aos subprodutos procuram reduzir o impacto destes a nível ambiental e da saúde pública através de sistemas de gestão eficazes, e mostram a preocupação das organizações governamentais em relação a estes temas tão pertinentes.

Os progressos alcançados nos últimos anos foram notáveis, mas é necessário continuar a alertar a sociedade para a importância da gestão correta dos resíduos, especialmente quando estes são produzidos em grandes quantidades. Neste momento ainda não estão criadas as condições para que a grande maioria destes resíduos sejam encaminhados para um fim adequado. Apesar de tudo, é importante que prossigam os esforços para sensibilizar os operadores e produtores do impacto positivo da separação dos resíduos, e da valorização dos mesmos. Os vários projetos já finalizados e outros a decorrer indicam que esta valorização é possível, principalmente a nível da cosmética e indústria farmacêutica.

As vias de valorizações identificadas na literatura para os produtos estudados foram diversas e os subprodutos apresentam-se como potenciais matérias-primas para a obtenção de compostos de valor biotecnológico o que justifica o aproveitamento destes subprodutos no nosso país.

Atualmente é possível encontrar diversos exemplos para a valorização de subprodutos, sendo que alguns são já aplicados em algumas indústrias mas outros são alvo da investigação e esperam por ser postos em prática. Algumas das aplicabilidades da valorização de subprodutos que a comunidade científica avança necessitam de ser estudados e avaliados convenientemente pois, é provável, que nem todos sejam viáveis, quer a nível económico quer a nível social. No entanto, é urgente que toda a humanidade se envolva neste processo e que trabalhe com vista a alcançar uma maior sustentabilidade.

## Bibliografia

---

Abdalla, A. E. M. *et al.* (2007). Egyptian mango by-product . Compositional quality of mango seed kernel. *Food Chemistry*, 103(4), pp. 1134-1140.

Adi, A. J. e Noor, Z. M. (2009). Waste recycling: Utilization of coffee grounds and kitchen waste in vermicomposting. *Bioresource Technology*, 100, pp. 1027-1030.

AEP. (2011). Manual de Gestão de Resíduos Industriais. Associação Empresarial de Portugal.

Aerts, R. J. *et al.* (1999). Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agr Ecosyst Environ*, 75, pp. 1-12.

Ahmad, S. M. e Ali Siahsar, B. (2011). Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivar. *Ciencia e Investigación Agraria*, 38(2), pp. 291-301.

Ahmad-Qasem M. H. *et al.* (2014). Influence of olive leaf processing on the bioaccessibility of bioactive polyphenols. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 62(26), pp. 6190–6198.

Aires, C. M. G. L. S. (2007). *Contribuição para o estudo da aplicação de subprodutos da indústria de extracção de azeite em solos agrícolas*. Tese de Doutoramento. Lisboa: Universidade Técnica De Lisboa.

Ajila, R. *et al.* (2008). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, pp. 551-562.

Alañón, M. E. *et al.* (2012). Aromatic potential of *Castanea sativa* Mill. compared to *Quercus* species to be used in cooperage. *Food Chemistry*, 130(4), pp. 875-881.

Alañón, M. E. *et al.* (2013). Enological potential of chestnut wood for aging Tempranillo wines Part II: Phenolic compounds and chromatic characteristics. *Food Research International*, 51(2), pp. 536-543.

Albuquerque, J. A. *et al.* (2004). Agrochemical characterization of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology*, 91, pp. 195-200.

Aliakbarian, B. *et al.* (2011). Valorization of Olive Oil Solid Waste Using High Pressure-high Temperature Reactor. *Food Chemistry*, 128, pp. 704-710.

Almeida, I. F. *et al.* (2010). Evaluation of functional stability and batch-to-batch reproducibility of a *Castanea sativa* leaf extract with antioxidant activity. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), pp. 120-125.

Almeida, I. F. *et al.* (2013). Characterization of an antioxidant surfactant-free topical formulation containing *Castanea sativa* leaf extract. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 62, pp. 144-151.

Armenta, R. E. e Guerrero-Legarreta, I. (2009). Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 6095-6100.

Arogba, S. S. (2000). Mango (*Mangifera indica*) kernel: Chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidase activity. *Journal Food Composition Analysis*, 13(2), pp. 149-156.

Aruoma, O. (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, pp. 199-212.

Ayala, F. *et al.* (2013). The role of optical radiations in skin cancer. *ISRN Dermatology*, 24, pp. 1-8.

Badocha, T. E. *et al.* (2003). Casca de Café: um importante insumo para a agricultura orgânica. *In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. Porto Seguro-Brasil.

Bagchi, D. *et al.* (1998). Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology, Tarrytown*, 30(5), pp. 771–776.

Balasundram, N. *et al.* (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, pp. 191–203.

Barakat, M. A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial waste water. *Arabian Journal.*, 4(4), pp. 361-77.

Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. (2001). *El Cultivo del Olivo*. Ediciones Mundi-Prensa, 4ª Edição, Madrid (Espanha). ISBN: 84-7114-983-4.

Barreira, J. C. *et al.* (2012). Chemical characterization of chestnut cultivars from three consecutive years: chemometrics and contribution for authentication. *Food Chemistry Toxicology*, 50(7), pp. 2311-7.

Barreira, J. C. M. *et al.* (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, 107(3), pp. 1106-1113.

Barreira, J. C. M. *et al.* (2009). Vitamin E profile as a reliable authenticity discrimination factor between chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Cultivars. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57(12), pp. 5524-5528.

Basile, A. *et al.* (2000). Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. *Fitoterapia*, 71(1), pp. 110-116.

Bektic, J. *et al.* (2005). Small G-protein RhoE is underexpressed in prostate cancer and induces cell cycle arrest and apoptosis. *Prostate*, 64, pp. 332–340.

Bernard, F. X. *et al.* (1997). Glycosylated flavones as selective inhibitors of topoisomerase IV. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(5), pp. 992-998.

Bhupathiraju, S. N. *et al.* (2013). Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes. *American Journal Clinical Nutrition*, 97, pp. 155–166.

Bilal, M. *et al.* (2013). Waste biomass adsorbents for copper removal from industrial wastewater - A review. *Journal Hazard Material*, 263, pp. 322-333.

Bisignano, G. *et al.* (1999). On the In-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51, pp. 971-974.

Blazquez, J. M. (1996). *Origen y difusion del cultivo - Enciclopedia Mundial del Olivo*. Madrid, Consejo Oleicola Internacional, pp. 19-20.

Bond, A. J. e Morrison-Saunders, A. (2011). Re-evaluating Sustainability Assessment: Aligning the vision and the practice. *Environmental Impact Assessment Review*, 31(1), pp. 1-7.

Bonoli, M. *et al.* (2004). Qualitative and semiquantitative analysis of phenolic compounds in extra virgin olive oils as a function of the ripening degree of olive fruits by different analytical techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp. 7026-7032.

Bouhamidi, R. *et al.* (1998). High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *Comptes Rendus de l'Acade'mie des Sciences – Series III – Sciences de la Vie. III*, 321, pp. 31–38.

Bravo, J. *et al.* (2012). Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, pp. 12565-12573.

Brescani, L. *et al.* (2014). Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Research international*, 61, pp. 196-201.

Britton, G. (1992). Carotenoids. *In: Hendry, G. F. (Ed.) Natural foods colorants*. New York: Blackie.

Burin, V. M., *et al.* (2010). Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), pp. 1027-1032.

Cabezas, J. M. E. (2011). *La aceituna de mesa: nociones sobre sus características, elaboración y cualidades*. Sevilla : Imprenta tecé.

Cabrera, F. *et al.* (1996). Land treatment of olive oil mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38, pp. 215-225.

Cabrera, K. (1995). *El alpechin: un problema mediterraneo. – in: A. Conelas y F. Cabrera apitan*. CSIC. Logrono: Geoforma Ediciones.

Caldas, C. (1998). *A Agricultura na História de Portugal*. E.P.N. Lisboa: Empresa de Publicações Nacionais, Lda.

Campa, C. *et al.* (2005). Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. *Food Chemistry*, 93, pp. 135–139.

Campos, L. M. A. S. (2005). *Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera): parâmetros de processo e modelagem matemática*. Florianópolis: UFSC. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos),

Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

Campos, M. A. S. (2005). *Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (Vitis vinífera): Parâmetros de processo e modelagem matemática*. Pós- Graduação em Engenharia dos Alimentos. Centro Tecnológico. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis: SC.

Candeias, A. C. (1996). *A aplicabilidade da tecnologia da compostagem no tratamento e valorização de resíduos orgânicos – contributo para a sua validação no sector dos lagares de azeite*. Dissertação de fim de curso de engenharia agro-industrial, Lisboa: UTL, ISA.

Cano-Marquina A. *et al.* (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75, pp. 7-21.

Capectka, E. *et al.* (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*, 93, pp. 223-226.

Carocho, M. *et al.* (2014). Infusions and decoctions of *Castanea sativa* flowers as effective antitumor and antimicrobial matrices. *India Crop Production*, 62(0), pp. 42-46.

Cegarra, J. *et al.* (2004). Tratamiento del orujo de oliva de dos fases mediante compostaje. *Olivae*, 101, pp. 12-17.

Çetin, N. S. e Özmen, N. (2002). Use of organosolv lignin in phenol–formaldehyde resins for particleboard production: I. Organosolv lignin modified resins. *International Journal of Adhesion*, 22(6), 477-480.

Clifford, M. e Scalbert, A. (2010). Ellagitannins -nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, pp. 1118-1125.

COI – Conselho Oleícola Internacional (2011). [Em linha]. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/132-world-table-olive-figures> [Consultado em 10 de abril de 2015].

Colombo, M. L. (2010). An update on Vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. *Molecules*, 15, pp. 2103-2113.

Contini, M. *et al.* (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature, *Food Chem.* 110, pp. 659-669.

Contreras-calderón, J. *et al.* (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International, Essex*, 44(7), pp. 2047-2053.

Costa, A. S. G. *et al.* (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops Products*, 53, pp. 350-357.

Couto, R. M. *et al.* (2009). Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. *Journal Supercritical Fluids*, 59, pp. 159-166.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), pp. 564-582.

Crozier, A. *et al.* (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26, pp. 1001–1043.

Cruz, B. R. *et al.* (2013). Chemical composition and functional properties of native. *Carbohydrate Polymers*, 15;94(1), pp. 594-602.

Cruz, R. *et al.* (2012). Espresso coffee residues: a valuable source of unextracted compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, pp. 7777-7784.

Chung, K. T. *et al.* (1998) Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38, pp. 421-464.

Damodaran, S. *et al.* (2008). *Fennema's food chemistry*. Boca Raton: CRC Press.

Dawkins, L. *et al.* (2011). Expectation of having consumed caffeine can improve performance and mood. *Appetite*, 57, pp. 597-600.

de Leonardis, A. *et al.* (2008). Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea L.*) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food research and Technology*. 226, pp.653-659.

De Marco, E. *et al.* (2006). Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewater. *Food Chemistry*, 104(2), pp. 858-867.

de Vasconcelos, M. D. *et al.* (2010). Composition of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. *Journal Science Food Agriculture*, 90(10), pp. 1578-1589.

Decreto-Lei nº73/2011 - Regime geral da gestão de resíduos. Diário da República nº116 Série I de 17/06/2011.

Demirbas, A. (2008). Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: a review. *Journal of Hazardous Materials*, 157(2), pp. 220-229.

Díaz Reinoso, B. *et al.* (2012). Optimization of antioxidants: Extraction from *Castanea sativa* leaves. *Chemical Engineering Journal*, 203(0), pp. 101-109.

Dixon, R. A. (2005). Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoid research? *New Phytologiste*, 165, pp. 9-28.

Duarte, C. L. *et al.* (2007). Os subprodutos agro-industriais de natureza lenhocelulósica: caracterização da situação portuguesa. *Revista de Engenharia Química*, 5, pp. 56-62.

Engelhart, M. J. *et al.* (2002). Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *JAMA*, 287(24), pp. 3223-3229.

Engin, K. N. (2009). Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidante. *Molecular Vision*, 15, pp. 855-860.

Esquivel, P. e Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46, pp. 488–495.

Falcão, L. e Araújo, M. E. M. (2011). Tannins characterisation in new and historic vegetable tanned leathers fibres by spot tests. *Journal of Cultural Heritage*, 12(2), pp. 149-56.

Fan, L. *et al.* (2005). Shiitake Bag Cultivayion. Parte I Shiitake. Coffee Residues. Mushroom Grower´s Handbook. *Mushworld All*, 2, pp. 92-94.

FAO, Food and Agriculture Organization (2014) [Em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/>. [Consultado em 11 de janeiro de 2015].

Farah, A. (2006a). Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 54, pp. 374–381.

Farah, A. *et al.* (2006b). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 98, pp. 373–380.

Federici, F. *et al.* (2009). *Journal of Chemist Technology and Biotechnology*, 84, pp. 895-900

Fernández, M. H. *et al.* (1996) – *Elaboración de Aceite de Oliva de Calidad. Obtención por el sistema de dos fases*. Informaciones técnicas 61/98. Dirección General de Investigación y Formación Agraria. Servicio de Publicaciones y Divulgación. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.

FIPA. (2007). *Subprodutos e resíduos*. Boletim Informativo da Federação das Indústrias Portuguesas Agro-Alimentares. 95.

Flandrin, J. L. e Montanari, M. (2001). *História da Alimentação. Da Idade Média aos tempos actuais*. Lisboa: Terramar.

Floegel, A. *et al.* (2010). Development and validation of an algorithm to establish a total antioxidant capacity database of the US diet. *International Journal Food Sciences Nutrition*, 61, pp. 600-623.

Fragoso, R. (2003). *Tratamento integrado de agua russa. – A fração fenólica como parâmetro de avaliação da eficiência do processo*. – Dissertação para obtenção do grau de Doutor em eng. Agro-Industrial, UTL, ISA, Lisboa.

Gabinete de Planeamento e Políticas (2007b) – *Olivicultura. Diagnóstico Sectorial 2007. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas*. [Em linha]. Disponível em: [http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/diagnosticos/Azeite\\_Diagnostico\\_Sectorial.pdf](http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/diagnosticos/Azeite_Diagnostico_Sectorial.pdf) [Consultado em 10 de Novembro de 2014].

Galanakis, C. (2012). Recovery of high added-value componentes from food wastes: convencional emerging Technologies na commercialized applications. *Trends Food Sci. Technol*, 26, pp. 68-87.

Garg, U. K. *et al.* (2007). Removal of hexavalent chromium from aqueous solution by agricultural waste biomass. *Journal Hazard Material*, 140(1–2), pp. 60-68.

Ghanbari, R. *et al.* (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.) - A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, pp. 3291-3340.

Gikas, P. D. *et al.* (2005). Phytoestrogens and the risk of breast cancer: a review of the literature. *Int J Fertil Womens Med.*, 50(6), pp. 250-258.

Gómez-Ruiz, J. A. *et al.* (2007). In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55, pp. 6962–6969.

Gonçalves, B. *et al.* (2010). Metabolite composition of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon cooking: Proximate analysis, fibre, organic acids and phenolics. *Food Chemistry*. 122(1), pp. 154-160.

Grinevicius, V. M. A. S. (2006). *Avaliação da remediação de efluentes de uma indústria têxtil utilizando bioindicadores e biomarcadores*. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Guinda, A. (2006). Use of solid residue from the olive industry. *Grasas Y Aceites*. 57, pp. 107-115.

Gustavsson A, *et al.* (2011). Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*, 21, pp. 655–679.

Hammami, S. B. M. *et al.* (2011). Cultivar-based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. *Scientia Horticulturae*, 130, pp. 445-451.

Haslam, E. (1998). *Practical Polyphenolics. From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*. Cambridge:Cambridge University Press.

Hernández-Montes, E. *et al* (2006). An Energy-Based Formulation for Firstand Multiple-Mode Nonlinear Static (Pushover) Analyses. *Journal of Earthquake Engineering*, 8(1), pp. 69-88.

Herrero, M. *at al*. (2011). New Possibilities for the Valorization of Olive Oil By-products. *Elsevier*, 1218, pp. 7511-7520.

Hoong, Y. B. *et al*. (2011). A new source of natural adhesive: Acacia mangium bark extracts co-polymerized with phenol-formaldehyde (PF) for bonding Mempisang (Annonaceae spp.) veneers. *International Journal of Adhesion*, 31(3), pp. 164-167.

Hur, S. J. (2013). The effects of biopolymer encapsulation on total lipids and cholesterol in egg yolk during in vitro human digestion. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), pp. 16333-16347.

Husgafvel, R. *et al*. (2013). O. Review of sustainability management initiatives within Finnish forest products industry companies - Translating Eu level steering into proactive initiatives. *Resources, Conservation and Recycling*, 76(0), pp. 1-11.

INE, I. P. (2014). Estatísticas agrícolas 2013. Lisboa-Portugal.

INE, I.P. (2014). Estatísticas da Produção Industrial 2010. Lisboa-Portugal.

INE. (2013). *Estatísticas Agrícolas 2012*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística IP, editor.

InfoVini [Em linha]. Disponível em: [www.infovini.com](http://www.infovini.com). [Consultado em 11 de janeiro de 2015].

Jadhav, S. A. *et al.* (2013). Amylase production from potato and banana peel waste. *International Journal Current Microbiology Applied Sciences*, 2(11), pp. 410-414.

Jang, M. (1997). Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes. *Science*, 275(5297), pp. 218-220.

Japon-Lujan, R. *et al.* (2006). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1108, pp. 76-82.

Jeszka-Skowron, M. *et al.* (2015). Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research Technology*, 240, pp. 19-31.

Jimenez-Zamora, A. *et al.* (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science Technology*, 61, pp. 12-18.

Kajdzanoska, M. *et al.* (2011). Comparison of different extraction solvent mixtures for characterization of phenolic compounds in strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, pp. 5272-5278.

Khanbabaee, K. (2001). Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.*, 18, pp. 641-649.

Kibbe, A. H. (2000). *Pharmaceutical excipients*. London: American Pharmaceutical Association.

Kiritsakis, A. K. (1992). *El Aceite de Oliva*. A. Madrid: Vicent Ediciones.

Kokab, S. *et al.* (2003). Bio-processing of banana peel for alpha amylase production by *Bacillus subtilis*. *International Journal Agriculture Biology*, 1, pp. 1560-1569.

Kondamudi, N. *et al.* (2008). Spent coffee grounds as a versatile source of green energy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (24), pp. 11757-11760.

Kurz, C. *et al.* (2008). HPLC-DAD-MSn characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chemistry*, 110, pp. 522-530.

Laboratório Nacional de Energia e Geologia (2011). I. P., Ministério da Economia, da *Inovação e do Desenvolvimento. Campanha de Promoção de Tecnologias de Tratamento e Valorização dos Subprodutos dos Lagares de Azeite*. Feira Nacional da Agricultura, Santarém.

Lampe, J. W. e Chang, J. L. (2007). Interindividual differences in phytochemical metabolism and disposition. *Seminars Cancer Biology*, 17(5), pp. 347-353.

Laranja, A. T. *et al.* (2006). Efeito da cafeína sobre a mortalidade e oviposição em gerações sucessivas de *Aedes aegypti*. *Revista de Saúde Pública*, 40(6), pp. 1112-1117.

Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.*, 51(2), pp. 216-226.

Li, Y. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96, pp. 254–260.

Lin, J-Y. *et al.* (2003). UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *J Am Acad Dermatology*, 48(6), pp. 866-874.

Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal Nutrition*, 134(12), pp. 3479S-3485S.

Livingstone, K. *et al.* (2013). Is fatty acid intake a predictor of arterial stiffness and blood pressure in men? Evidence from the Caerphilly Prospective Study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular*, 23(11), pp. 1079-1085.

Locatelli, F. *et al.* (2010). Hemofiltration and hemodiafiltration reduce intradialytic hypotension in ESRD. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 21(10), pp. 1798-1807.

Magnier, L. (1991). Utilisation des sous-produits de la vigne dans l'alimentation animale. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*, 1, pp. 89-99.

Manach, C. *et al.* (2009). The complex links between dietary phytochemicals and human health deciphered by metabolomics. *Molecular Nutrition Food Research*., 53(10), pp. 1303-1315.

Mandalari, G. *et al.* (2010). Release of protein, lipid, and vitamin E from almond seeds during digestion. *J Agric Food Chem*, 56, pp. 3409–3416.

Março, R. C. *et al.* (2008). Accumulation of Flavonoids in Mutant Leads to Tolerance to UV-C. *Molecular Plant*, 2, pp. 249–258.

Markakis, P. *et al.* (1982). *Anthocyanin as food colours*. New York: Academic Press Inc.

Marsal, A. *et al.* (2012). Adsorption isotherm, thermodynamic and kinetics studies of polyphenols onto tannery shavings. *Chemical Engineering Journal*, 183(0), pp. 21-29.

Matsumura, Y. e Ananthaswamy, H. N. (2004). Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195(3), pp. 298-308.

Mehta, R. G. *et al.* (2010). Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? *Pharmaceutical Research*, 27(6), pp. 950-961.

Mekki, A. *et al.* (2008). Olive wastewater as an ecological fertiliser. *Agronomy for Sustainable Development*, 26, pp. 61–67.

Micol, V. *et al.* (2005). The olive leaf extract exhibits antity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research*, 66. pp. 129-136.

Middleton, E. e Kandaswami, C. (1994). The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. *In: The flavonoids: advances in research since 1986*. London: Chapman and Hall.

Monteiro, M. (1999). *A Oliveira*. João Azevedo Editor, Mirandela.

Monteiro, M. C. e Farah, A. (2012). Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea arabica* cultivars from various consecutive crops. *Food Chemistry*, 134, pp. 611-614.

Moritz, B. e Tramonte, V. (2006). Biodisponibilidade do licopeno. *Revista de Nutrição*, 19(2), pp. 265-273.

Moure, A. *et al.* (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), pp. 145-71.

Mujic, A. *et al.* (2011). Antioxidative effects of phenolic extracts from chestnut leaves, catkins and spiny burs in streptozotocin-treated rat pancreatic  $\beta$ -cells. *Food Chemistry*, 125(3), pp. 9-14.

Murga, R. *et al.* (2000). Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), pp. 3408-3412.

Mussatto, S. *et al.* (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4, pp. 661-672.

Mussatto, S. I. e Teixeira, J. A. (2010). Increase in the fructooligosaccharides yield and productivity by solid-state fermentation with *Aspergillus japonicus* using agro-industrial residues as support and nutrient source. *Biochemical Engineering Journal*, 53, pp. 154-157.

Neuwirth-Lux O, Billson F. (1987). Vitamin E and rabbit corneal endothelial cell survival. *Australian New Zealand Journal Ophthalmology*, 15, pp. 309-314.

Niaounakis, M. e Halvadakis, C. P. (2006). *Olive processing waste management. Literature review and patent survey*. Nova Iorque:Elsevier.

Nichols, J. A. e Katiyar, S. K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatological Research*, 302(2), pp. 71-83.

Okuda T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*., 66(17), pp. 2012-2031.

Olivares, M. *et al.* (1988). Kraft lignin utilization in adhesives. *Wood SciTechnology*, 22(2), pp. 157-165.

Olive Pomace. [Em linha]. Disponível em: <http://pomace.net/olive-pomace/> [Consultado em 11 de janeiro de 2015].

Omoni, A. O. e Aluko, R. E. (2005). Soybean foods and their benefits: potential mechanisms of action. *Nutr Rev.*, 63(8), pp. 272-283.

Pagliai, M. *et al.* (2001). – Influenza dei reflui oleari sulla qualità del suolo. *Informatore agrario, suplemento*, 50, pp. 13-18.

Pandey, C. R. *et al.* (2000). Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*, 6, pp. 153-162.

Peres, J. A. (2006). Efluentes de lagares de azeite: processos de tratamento e valorização. *Revista da APH*, 86, pp. 16-20.

Peschel, W. *et al* (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97, pp. 137–150.

Petroni, A. *et al*. (1995). Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. 78, pp. 151-160.

Petroni, A. *et al*. (1995). Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. 78, pp. 151-160.

Pinelo, M. *et al*. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*), *Food Chem.*, 85, pp. 267-273.

Pintado, M. E e Teixeira, J. A. (2015). Valorização de subprodutos da indústria alimentar: obtenção de ingredientes de valor acrescentado. *Boletim de Biotecnologia*, 6, pp. 10-12.

Pinto, L. (2003). Azeite e Ambiente. *Voz da Terra*, 1, pp. 5-18.

Plaper, A. *et al*. (2003). Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306(2), pp. 530-536.

Pokorny, J. *et al*. (2005). Antioxidantes de los Alimentos, Aplicaciones prácticas. *Editorial Acribia, S.A.* pp. 52-87.

Políticas, *Gabinete de Planeamento e Vitivinicultura – Diagnóstico Sectorial* (2007). Lisboa, Portugal.

Prior, R. L. (2006). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, PP. 570S-578S.

Raccach, M. (1984). The antimicrobial activity of phenolic antioxidants in foods: A review. *Journal and Food Safety*., 6(3), pp. 141-170.

Rajaei, A, *et al.* (2010). Optimization of Extraction Conditions of Phenolic Compounds from Pistachio (*Pistachia vera*) Green Hull through Response Surface Method. *J. Agr. Sci. Tech*, 12, pp. 605-615.

Ramiro-Samouco (1998). *Dicionário de Agronomia*. Lisboa: Platano ed. Técnicas.

Ranalli, A. (1991). El efluente de las almazaras: propuestas para su utilizacion y depuracion com referencias a la normativa Italiana (segunda parte). *Olivae*, 38, pp. 26-40.

Ratnam, I. *et al.* (2006). Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome in an ethnically diverse HIV type I-infected cohort. *Clin Infect Dis*, 42(3), pp. 418-427.

Regional, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento e Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas. (2007). *Estratégia Nacional para os Efluentes Agro-Pecuários e Agro-Industriais*. Lisboa.

Rego, A. C. (1998). Influence of vitamin E succinate on retinal cell survival. *Toxicology*, 128, pp. 113-124.

Rios, J. L. *et al.* (2005). Effects of Natural Products on Contact Dermatitis. *Curr Med Chem Anti Inflamm Anti Allergy Agents*, 4(1), pp. 65-80.

Rivers, J. K. (2008). The Role of Cosmeceuticals in Antiaging Theraphy. *Skin Therapy Letter* [Em linha]. Disponível em: <http://www.skintherapyletter.com/2008/13.8/2.html> [Consultado em 11 de janeiro de 2015].

Robards, K. e Antolovich, M. (1997). Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. *Analyst*, 122, pp. 11R–34R.

Rockenbach, I. I. *et al.* (2008). Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(Supl.), pp. 238-244.

Roig, A. *et al.* (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste management*, 26, pp. 960-969.

Roldán, E. *et al.* (2008). Characterisation of onion (*Allium cepa* L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *Food Chemistry*, 108, pp. 907-916.

Saenger P, *et al.* (2001). *The Mangrove Vegetation of the Atlantic Coast of Africa*. Toulouse:University of Toulouse Press.

Samman, S. *et al.* (2003). A mixed fruit and vegetable concentrate increases plasma antioxidant vitamins and folate and lowers plasma homocysteine in men. *J Nutr.*, 133, pp. 2188–2193.

Sánchez-Martín, J. *et al.* (2011). *Caesalpinia spinosa* and *Castanea sativa* tannins: A new source of biopolymers with adsorbent capacity. Preliminary assessment on cationic dye removal. *Industrial Crops and Products*, 34, pp. 1238-1240.

Sander, C. S. *et al.* (2004). Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *International Journal Dermatology*, 43(5), pp. 326-335.

Santos, S. (2010). *Desenvolvimento de um azeite com aroma a Limão*. Tese de Mestrado em Biotecnologia. Universidade de Aveiro.

Santos-Buelga, C. e Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), pp. 1094–1117.

Saramago, A. (2001). A oliveira e o azeite - Historia e simbologia. *Revista de Ciências Agrárias*, pp. 7-11.

Sato, M. *et al.* (2001). Grape seed proanthocyanidin reduces cardiomyocyte apoptosis by inhibiting ischemia/reperfusion-induced activation of JNK-1 and C-JUN. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(6), pp. 729–737.

Sautter *et al.* (2005). Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. *Ciênc. Technology Aliments*, 25(3), pp. 437-442.

Sawynok, J. (2011). *Methylxanthines and Pain*. In: B.F. (ed.) *Handbook of Experimental Pharmacology*, London: Springer.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, pp. 3875-3883.

Schaefer, K. M. *et al.* (2007). Movements, behavior, and habitat utilization of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the northeastern Pacific Ocean, ascertained through archival tag data. *Mar. Biol.* 152, pp. 503-525.

Sebadelhe, C. S. (2005). *Uma visão clara sobre as potencialidades do olival*. *Ouro Virgem*. Revista do Museu da Oliveira e do Azeite Mirandela, nº 2.

Selgueiro, J. (2010). *Ervas, Usos e saberes. Plantas medicinais no Alentejo e outros produtos naturais*. Coimbra: Edições Colibri.

Silva, C. e Naves, M. (2001). Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. *Revista de Nutrição*, 14(2), pp. 135-143.

Silva, E. *et al.* (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101, pp. 1012-1018.

Silva, L. R. (2002). *Aproveitamento de subprodutos da vinificação*. Viseu: ESAV.

Silver, L. e Bostian, K. (1990). Screening of natural products for antimicrobial agents. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 9(7), pp. 455-461.

Simopoulos, A. P. (2001). The Mediterranean Diets: What is so special about the Diet of Greece? The scientific evidence. *Journal of Nutrition*, 131, pp. 3065S-3073S.

Soares, J. R. *et al.* (2012). Antimicrobial Peptides from *Adenanthera pavonina* L. Seeds: Characterization and Antifungal Activity. *Protein Pept Lett*, 19(5), pp. 520-529.

Soccol, C. R. *et al.* (1999). *Experiência Brasileira na Valorização Biotecnológica de Subprodutos da Agroindústria do Café*. In: Seminário Internacional Sobre Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira, Londrina-PR.

Sookwong, P. *et al.* (2007). Quantitation of tocotrienol in various rice brans. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55, pp. 461-466.

Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakom University International Journal*, 3, pp. 206-228.

Stamatopoulos, K. *et al.* (2014). Optimization of multistage extraction of olive leaves for recovery of phenolic compounds at moderated temperatures and short extraction times. *Foods*, 3, pp. 66-81.

Subramani, S. *et al.* (2011). Thirumalachari R. Bio-tanning process for leather making. Google Patents; 2006.

Sundar, V. J. *et al.* (2002). Cleaner chrome tanning - emerging options. *Journal Cleaner Production.*, 10(1), pp. 69-74.

Suzuki, K. *et al.* (2002) Studies of cargo delivery to the vacuole mediated by autophagosomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Dev Cell*, 3(6), pp. 815-824.

Taguri, T. *et al.* (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(11), pp. 2226-2235.

Tebib, K. *et al.* (1997). Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol-vitamin E-deficient diet. *Food Chemistry, Kidlington*, 59(1), pp. 135–141.

Tian, F. *et al.* (2009). Identification and structure-activity relationship of gallotannins separated from *Galla chinensis*. *LWT- Food Science and Technology Research*, 42(7), pp. 1289-1295.

Toller, A. B. e Schmidt, C. A. (2005). Cellulose and lactose derived excipients for direct compression. *Disciplinarum Scientia.*, 6(1), pp. 61-80.

Torrado, L. (2000). *A Dieta mediterrânica. Conselhos, receitas e princípios práticos para a sua saúde diária*. Temas e Debates. Lisboa.

Uccella, N. (2001). Olive biophenols: novel ethnic and technological approach, Review. *Trends in Food Science and Technology*. 11, pp. 328-339.

Vázquez, G. *et al.* (1994). Adsorption of heavy metal ions by chemically modified *Pinus pinaster* bark. *Bioresouser Technology.*, 48(3), pp. 251-255.

Vázquez, G. *et al.* (2009). Chestnut shell as heavy metal adsorbent: Optimization study of lead, copper and zinc cations removal. *Journal Hazard Material*, 172(2–3), pp. 1402-1414.

Vázquez, G. *et al.* (2009). G. Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 29(2–3), pp. 364-370.

Vázquez, G. *et al.* (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. *Industrial Crops and Products*., 35(1), pp. 126-134.

Víctor Falguera V. *et al.* (2012). Effect of UV-vis irradiation of must on Cabernet Franc and Xarel·lo wines chemical quality. *International Journal of Food Science & Technology*., 47(9), pp. 2015-2020.

Vieira, M. C. *et al.* (2011). Tannin extraction from the bark of *Pinus oocarpa* var. *oocarpa* with sodium carbonate and sodium bisulfate. *Floresta e Ambiente*., 18(1), pp. 1-8.

Villanova, J. C. O. e Oréface, R. L. (2010). Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 20(1), pp. 51-64.

Vinha A.F. *et al.* (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89, pp. 561-568.

Visioli, F. e Galli, C. (1998). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: New Findings. *Nutrition Reviews*. 56, pp. 142-147.

Visioli, F. e Galli, C. (2002). Biological properties of olive oil phytochemicals. *Journal of Food Science and Nutrition*, 42, pp. 209-221.

Visioli, F. e Galli, C. 1994. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sciences*, 55:1965-1971.

Vossen, P. (2007). Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils. *HortScience*, 7, pp. 1093-1100.

Weaver, C. M. e Cheong, J. M. K. (2005). Soy isoflavones and bone health: The relationship is still unclear. *The Journal of Nutrition*, 135, pp. 1243–1247.

Wikandari, R. *et al.* (2015). Improvement of biogas production from orange peel waste by leaching of limonene. *BioMed Research International*. 15, pp. 1-16.

Wognum, P. M. (2011). Systems for sustainability and transparency of food supply chains e current status an challenges. *Advanced Engineering Informatics.*, 25, pp. 65-76.

Wollenweber, E. (1993). Flavones and flavonols. *In: The flavonoids, advances in research since 1986.* J B Harborne (ed.), Chapman and Hall., London.

World comission on enviromental and development (WCED). (1987).Our common future. Oxford: Oxford University Press.

Zarzuelo, A. *et al.* (1991). Vasodilator Effect of Olive Leaf. *Planta Medica*, 57, pp. 417-419.

Zhang, W. *et al.* (2013). Lignocellulosic ethanol residue-based lignin–phenol–formaldehyde resin adhesive. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 40(0), pp. 11-18.