



## Área: Tecnologia de alimentos

# EXTRATO RICO EM ANTOCIANINAS DE RESÍDUO DE VINIFICAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ESTABILIDADE EM DIFERENTES PH

Alisson Santa Catarina\*, Jean Pereira\*\*, Bárbara Biduski, Marcelo Hemkemeier

Curso de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo, RS  
E-mail: \*161614@upf.br; \*\*150358@upf.br

**RESUMO** – As antocianinas são pigmentos naturais sensíveis ao processamento como mudanças de pH. Devido essa característica, podem ser usadas como indicador de pH. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento do extrato rico em antocianinas dos resíduos de vinificação sobre a atividade antioxidante e estabilidade da cor em diferentes pH. O extrato foi obtido com o uso de etanol acidificado. O extrato rico em antocianinas do resíduo da vinificação apresentou  $0,55 \pm 0,07$  mg EAG/mL de compostos fenólicos,  $75,515 \pm 13,76\%$  de inibição de DPPH e  $1591 \pm 22,41$   $\mu$ mol de sulfato ferroso/L por FRAP, indicando, dessa forma, boa atividade antioxidante. O teor de antocianinas foi de  $26 \pm 0,01$  mg/L para antocianinas cyanidin-3-glucoside e  $190 \pm 0,01$  mg/L de pelargonidin 3-O-glucoside, influenciando diretamente na sua coloração. O comportamento dos espectros UV de absorção máxima dos extratos estavam na faixa de comprimento de onda de 250-300 nm para forma ácida (pH 1, 2 e 3), apresentando pico de absorção na faixa de 500-550 nm (pH 1, 2 e 3), e na forma básica (pH 10, 11 e 12) houve absorção na faixa de comprimento de onda entre 350-400 nm. Os extratos contendo antocianinas derivados do resíduo da vinificação apresentaram significativa mudança de cor em diferentes pHs, mantendo o padrão de conversão de cátions flavílio em pH ácido em pseudobase de carbinol em pH básico. Portanto, os extratos obtidos neste trabalho podem ser empregados como indicadores de pH, pois alteram seu comportamento em diferentes meios em que são submetidos.

**Palavras-chave:** Extrato rico em antocianinas. Indicadores de pH. Resíduo da vinificação.

## 1 INTRODUÇÃO

As antocianinas são pigmentos naturais, responsáveis por várias cores de vegetais e frutas, estando presente em batata-doce, repolho roxo, uvas, berinjela, morango, entre outros (GUEDES, 2004; RAWDKUEN et al., 2020). Ainda, são metabólitos secundários pertencentes à classe dos flavonoides com pigmentos solúveis em água (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Devido às preocupações dos consumidores com corantes sintéticos, os pigmentos naturais, e particularmente as antocianinas, ganharam crescente interesse na indústria de alimentos. As cascas de uva obtidas como subproduto do processo de vinificação são atualmente uma importante fonte para a extração de antocianinas e outros compostos polifenólicos (MA e WANG, 2016), em razão da abundância de diferentes componentes que são extraídos (pelo menos parcialmente) durante a vinificação. Além disso, servem como uma boa fonte de fitoquímicos e pigmentos.

Os flavonoides, grupo que se encontram as antocianinas, são polifenóis encontrados na maioria dos alimentos e são considerados fortes antioxidantes (SOBRATTE et al., 2005) que atuam como filtro das radiações ultravioleta nas folhas em algumas espécies (PAES, 2016). Vários estudos sugerem que a atividade antioxidante proporciona um efeito protetor contra doenças degenerativas e crônicas na saúde humana (RECORD et al., 2001). Já nos alimentos possui um grande efeito retardando a oxidação lipídica e a peroxidação (PAES, 2016). A adição e incorporação de extratos ricos em antocianinas em filmes promove atividade antioxidante. Assim, embalagens com propriedades antioxidantes pode prevenir processos oxidativos e prolongar a vida útil de produtos alimentícios (FANG et al., 2017).

A sensibilidade ao pH é uma das principais características no processamento e utilização das antocianinas, afetando a cor e a estabilidade química. Em solução ácida, a antocianina é vermelha em função do cátion flavílio (Levi et al., 2004). Em solução alcalina, a cor azul é obtida através da liberação da anidrobases quinoidal azul/roxa, sendo instável (HALÁSZ e CSÓKA, 2018). Já, os resíduos da fabricação do vinho tornam-se rosa na exposição a pH ácido (2-4) e verde na exposição a pH alcalino (10-12) (CHI et al., 2020; MA et al., 2017).

As antocianinas, por serem sensíveis ao pH, podem ser bons componentes em filmes inteligentes. Através desta característica executam a função de identificar quando o produto embalado pelo filme poderá estar estragado ou em processo de deterioração, o que poderá ser observado pela mudança de cor do indicador conforme muda o brusamente pH do produto (RAWDKUEN et al., 2020). Nos resíduos agroindustriais da produção de vinho e suco de uva, há grande quantidade de cascas que sobram ao final do processo industrial. Estas cascas podem ser usadas para a extração de antocianinas, e assim, serem aplicadas como indicador de pH (BOCANEGRA et al., 2019).

O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento do extrato rico em antocianinas dos resíduos de vinificação como indicadores de pH. Para isso, (I) avaliamos a atividade antioxidante dos extratos obtidos, (II) apuramos a



concentração das principais antocianinas presentes nas uvas, e (III) verificamos as mudanças colorimétricas em diferentes pHs das antocianinas extraídas do resíduo de vinificação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Os subprodutos da uva niagara rosada (*Vitis vinifera L.*) da produção de vinho por vinicultores caseiros foram coletadas durante o primeiro semestre de 2020, na cidade de Pontão, Rio Grande do Sul.

### 2.2 Extração das antocianinas

A extração das antocianinas foi realizada de acordo Francis (1982). Para tal, as antocianinas foram extraídas com etanol acidificado (85 mL de etanol P.A. e 15 mL de HCl 1,5 mol/L), utilizando 3 g de amostra e 30 mL de etanol acidificado, deixando sob agitação constante durante 1 h. Após, o sobrenadante foi retirado e adicionado na amostra 20 mL de etanol acidificado, deixando novamente sob agitação constante durante 30 min. O pH do extrato foi corrigido para pH 5 com NaOH 1M.

#### 2.2.1 Determinação do teor de antocianinas

O teor de antocianinas foi determinado conforme adaptações dos métodos relatados por He et al. (2017) e Ge et al. (2018). O extrato (1 mL) foi diluído em tampões aquosos (5 mL) de pH 1 (0,025 M) e pH 4,5 (0,4 M), sendo verificadas as absorvâncias nos comprimentos de onda de 520 e 700 nm para cyanidin-3-glucoside e 500 e 700 nm para pelargonidin 3-O-glucoside. O teor de antocianinas foi calculado conforme a seguinte equação (Equação 1):

$$\text{Conteúdo de antocianina (g.L}^{-1}\text{)} = \frac{(Abs_{pH1} - Abs_{pH4,5}) \cdot Mw \cdot DF}{\epsilon \cdot l} \quad (1)$$

Onde  $Abs_{pH1} = (Abs_{520nm} - Abs_{700nm})_{pH1}$  e  $Abs_{pH4,5} = (Abs_{520nm} - Abs_{700nm})$  para cyanidin-3-glucoside, e  $Abs_{pH1} = (Abs_{500nm} - Abs_{700nm})_{pH1}$  ou  $Abs_{pH4,5} = (Abs_{500nm} - Abs_{700nm})$  para pelargonidin 3-O-glucoside;  $Mw$  é massa molecular (g/mol) da cyanidin-3-glucoside (449,2) e da pelargonidin 3-O-glucoside (468,8);  $\epsilon$  é o coeficiente de extinção, 26900 L/mol x cm para a cyanidin-3-glucoside e 15600 L/mol x cm para pelargonidin 3-O-glucoside) e  $l$  é o comprimento da cubeta (1 cm).

#### 2.2.2 Análise de cor e espectro UV dos extratos em diferentes pHs

A análise de sensibilidade dos extratos foi avaliada conforme as mudanças da coloração dos extratos ricos em antocianinas em diferentes pHs conforme metodologia descrita por Rawdkuen et al. (2020). Utilizou-se em 5 mL do extrato rico em antocianina foi adicionado em 20 mL solução tampão ajustados para o pH 1 até pH 12 usando HCl 1 M e NaOH 1 M. Por fim, as amostras foram avaliadas em colorímetro (Color Quest II, Hunter Lab, Estados Unidos) e fotografadas.

A análise de espectro UV dos extratos em diferentes pHs foi realizada com adaptações a metodologia de Rawdkuen et al. (2020). Utilizou-se espectrofotômetro UV-Vis (Eppendorf BioSpectrometer kinetic) nos comprimentos de onda na faixa de 200 a 800 nm para montar a curva de absorvância x comprimento de onda (nm) dos extratos em diferentes pHs.

##### 2.2.3.1 Compostos fenólicos totais

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada através da determinação do teor de compostos fenólicos por metodologia descrita na literatura por Singleton et al., (1999) e Rodrigues et al., (2020). Usou-se ácido gálico como composto fenólico padrão. No procedimento, as amostras do extrato foram misturadas em 50  $\mu$ L de reagente de Folin por 5 min. Após, alcalinizou-se o meio com 200  $\mu$ L solução de carbonato de sódio (20% v/v) com a reação ocorrendo por 15 min em ambiente fechado (escuro). Por fim, leu-se as absorvâncias em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por mL de amostra a partir da curva padrão.

##### 2.2.3.2 Método DPPH

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pela capacidade de eliminação dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) através de metodologia descrita por (YONG, et al., 2019; TONG, et al., 2020). As amostras de extrato foram adicionadas a 2 mL de solução de metanol DPPH 0,06 mM e posteriormente colocadas para reagir no escuro



em recipientes fechados por 60 min. Durante os 60 min, realizou-se leituras das absorvâncias a cada 15 min das amostras em espectrofotômetro. A taxa de inibição (%) de eliminação de radicais livres DPPH foi calculado através da seguinte equação (Equação 2).

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{1 - Abs_{60min}}{Abs_{0min}} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde  $Abs_{0min}$  é a leitura da absorvância no tempo 0 min e  $Abs_{60min}$  é a leitura da absorvância no tempo de 60 min.

### 2.2.3.3 Método FRAP

A atividade antioxidante dos extratos foi utilizando o método de redução de ferro (FRAP) descrito na literatura por Benzie e Strain (1999). Utilizou-se um reagente preparado com tampão acetato 300 mM, pH 3,6, TPTZ 10 mM e FeCl 20 mM na proporção de 10:1. As amostras dos extratos foram misturadas com o reagente e incubados a 37°C por 30 min. Posteriormente, leu-se a absorvância em espectrofotômetro. Ainda, a curva padrão foi criada a partir de uma concentração de solução de sulfato ferroso variando 0 a 1000 µM, e os resultados demonstrados em µmol de sulfato ferroso/L.

## 2.3 Análise estatística

As determinações foram realizadas no mínimo em triplicata, e as médias ± desvio padrão foram reportados. Os dados das análises foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), verificando as médias dos resultados quanto ao nível de significância de 5% em teste de Tukey. Utilizou-se o programa *Statistica* versão 12

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Atividade antioxidante e teor de antocianinas dos extratos do resíduo de vinificação

A atividade antioxidante e o teor de antocianinas do extrato de resíduo de uva estão apresentados na Tabela 1. O conteúdo de compostos fenólicos totais nos extratos ricos em antocianinas do resíduo de vinificação foi de  $0,55 \pm 0,07$  mg EAG/mL (Tabela 1). Segundo Lenquiste et al. (2015), os compostos fenólicos totais estão relacionados não só pelo tipo de fruta e sua variedade, além da espécie e sazonalidade, como também pelo modo de extração, o tipo de solvente usado, o uso de temperatura ou agitação, entre outros.

Tabela 1: Atividade antioxidante e teor de antocianinas dos extratos de casca de uva

Parâmetros	Extrato
Compostos fenólicos (mg EAG/mL)	$0,55 \pm 0,07$
DPPH (Inibição %)	$75,52 \pm 13,76$
FRAP (µmol de sulfato ferroso/L)	$1591 \pm 22,41$
Antocianinas Cianidinas (mg/L)	$126 \pm 0,01$
Antocianinas Pelargoninas (mg/L)	$190 \pm 0,01$

Fonte: Elaborado pelos autores (2020)

O radical DPPH é um radical livre estável centrado em nitrogênio. A análise de eliminação do radical DPPH é fundamentado na capacidade dos antioxidantes em sequestrar o radical DPPH (SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010). Os extratos ricos em antocianinas do resíduo de vinificação apresentaram atividade de inibição do radical DPPH de 75,515 % (Tabela 1). Segundo Jayaprakasha et al. (2001), o extrato de semente de uva possui atividade antioxidante, apresentando taxas de inibição 65% a 90%. Os valores próximos de inibição do radical DPPH pode ser em decorrência de que nos subprodutos da uva da produção de vinho continham cascas, bagaço de uva e sementes.

A capacidade antioxidante dos extratos ricos em antocianinas dos resíduos de vinificação expressa em termos de poder antioxidante redutor férrico (FRAP) foi de  $1591 \pm 22,41$  µmol de sulfato ferroso/L (Tabela 1). Segundo Rigolon (2017), extratos brutos de amora, mirtilo e jabuticaba demonstraram conter 99,18, 101,26 e 906,76 µmol de sulfato ferroso/L de extrato, respectivamente. O extrato das dos resíduos de vinificação demonstrou possuir boa capacidade antioxidante por FRAP em comparação a espécies de *Myrtaceae*. A maior capacidade antioxidante pode ser em



decorrência maior concentração no resíduo das cascas das bagas das uvas, região da uva com maior concentração de pigmentos. Efeito semelhante foi percebido no estudo de Paludo (2013), no qual cascas de jaboticaba sabará (*Myrciaria jaboticaba*) apresentaram maior atividade antioxidante por FRAP do que na fruta, polpa, semente e geleia.

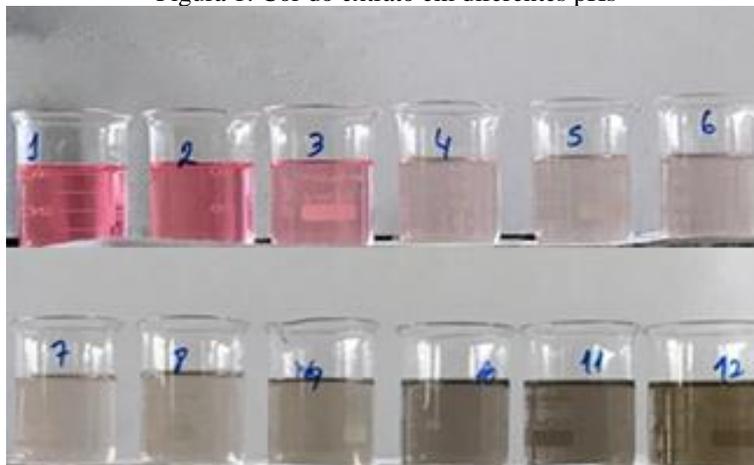
As análises de avaliação da atividade antioxidante foram determinantes para aferir a atividade antioxidante no extrato rico em antocianinas. Dessa forma, podemos interpretar tais resultados que para embalagens biodegradáveis isso pode ser um fator benéfico, pois há componentes ativos para exercer função antioxidante. Além disso, é interessante que o extrato esteja aderido ao sistema polimérico e não seja liberado, e suas hidroxilas fenólicas estejam disponíveis para exercer sua ação antioxidante (RODRIGUES et al., 2020).

O teor de antocianinas do extrato dos resíduos de vinificação foram  $126 \pm 0,00017$  mg/L para antocianinas cianidin-3-glucoside e  $190 \pm 0,00661$  mg/L de pelargonidin 3-O-glucoside. Um grande fator para quantificação de antocianinas é o método e o solvente utilizados. Por exemplo, no estudo de Kato et al. (2012), utilizando antocianinas de uvas (*Vitis Vinífera L.*), obteve-se diversas concentrações de antocianinas (de 3,6 até 203,7 mg/100g de uvas) em diferentes solventes (etanol e metanol/etanol), e pHs (2, 3 e 4), sendo a extração em pH 2 e solvente de etanol obteve-se a maior concentração. Já no estudo de Leidens (2011), obteve-se 2,7, 2,40 e 2,07 mg/L de cianidin-3-glucoside em corrente de concentrado em experimentos com membranas de 10, 30 e 50 kDa, respectivamente, com bagaço de uva. Ainda, no estudo de Rombaldi et al. (2004), foi quantificado 345 e 427 mg/L de antocianinas totais de uvas bordô. A partir disso, ressaltamos que as concentrações obtidas neste estudo podem ser em decorrência do pré-processamento e da composição do subproduto da produção de vinho, onde haviam cascas, sementes e até a fruta em sua totalidade.

### 3.2 Sensibilidade de cores em relação ao pH e espectro UV dos extratos ricos em antocianinas

A mudança de coloração das soluções do extrato rico em antocianinas em diferentes pHs estão apresentados na Figura 1. A cor dos extratos mudou de uma coloração com tons avermelhados em pH ácido, indicando conformidade com a teoria que diz que em pH ácido cátions flavílicos são formados, enquanto tons verdes terrosos são visualizados em pH básico (Figura 1). Em pH próximo do básico (pH 6, 7 e 8) houve uma diminuição da tonalidade das cores. Efeitos e cores semelhantes foram obtidos no estudo de Rawdkuen et al. (2020) com a utilização de antocianinas de batata-doce. Além disso, segundo Islam (2006), a cianidin-3-glucoside é a principal antocianina da batata-doce e também da uva, juntamente com a pelargonidin 3-O-glucoside (MEZARROBA, 2001). Por fim, através da sensibilidade de cores dos extratos ao pH, as antocianinas da casca de uva são potenciais fontes para indicar as condições de pH em embalagens inteligentes biodegradáveis.

Figura 1: Cor do extrato em diferentes pHs

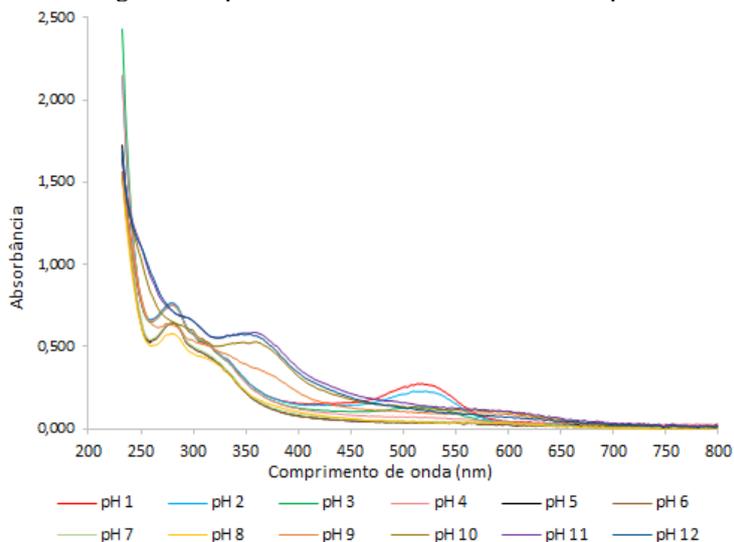


Fonte: Elaborado pelos autores (2020)

Os espectros de absorção máxima dos extratos ricos em antocianinas das cascas de uva estavam na faixa de comprimento de onda de 250-300 nm para forma ácida (pH 1, 2 e 3) (Figura 2), apresentando pico de absorção na faixa de 500-550 nm (pH 1, 2 e 3) (Figura 3). Para os extratos na forma básica (pH 10, 11 e 12) houve absorção na faixa de comprimento de onda entre 350-400 nm (Figura 2).

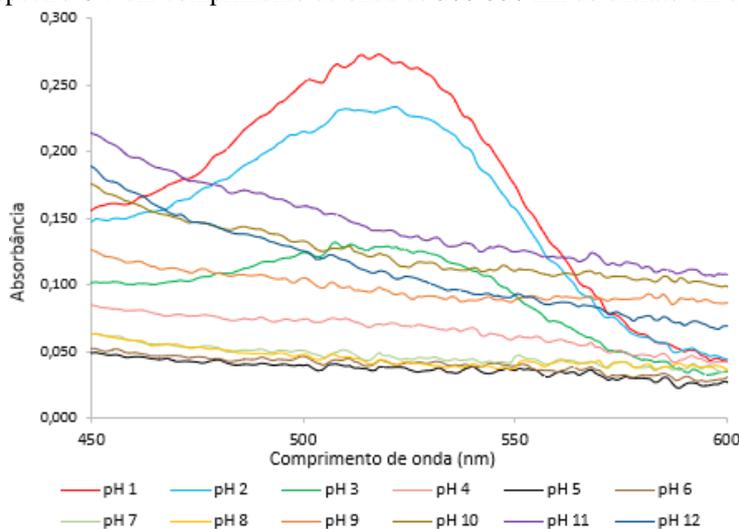


Figura 2: Espectro UV do extrato em diferentes pHs



Fonte: Elaborado pelos autores (2020)

Figura 3: Espectro UV em comprimento de onda de 500-550 nm do extrato em diferentes pHs



Fonte: Elaborado pelos autores (2020)

Segundo Levi et al. (2004), o deslocamento dos espectros pode ser em decorrência da conversão de formas químicas (cátions flavílio em pseudobase de carbinol) como resposta da mudança das cores das soluções, de tons de vermelho para tons verdes terrosos (Figura 2). Ainda, segundo Rawdkuen et al. (2020), o aumento nos valores de pH altera o pico máximo de absorção das soluções de antocianinas de *Clitoria ternatea* (ervilha borboleta). Anteriormente, Ma e Wang (2016) perceberam o mesmo comportamento em cascas de uva e Choi et al. (2017) em batata-doce roxa.

## 4 CONCLUSÃO

O extrato obtido do resíduo de vinificação apresentou ser ricos em antocianinas além de boa atividade antioxidante. Além disso, o teor de antocianinas foi de  $26 \pm 0,00017$  mg/L para antocianinas cianidin-3-glucoside e  $190 \pm 0,00661$  mg/L de pelargonidin 3-O-glucoside

O comportamento dos espectros UV de absorção máxima dos extratos ricos em antocianinas do resíduo de vinificação estava na faixa de comprimento de onda para condição de pH ácido e pH básico, conforme ocorria a conversão de cátions flavílio em pseudobase de carbinol. Por fim, os extratos contendo antocianinas derivados de subprodutos vinícolas apresentaram significativa mudança de cor em relação ao pH em que eram submetidos. Portanto, os extratos obtidos neste trabalho podem ser empregados como indicadores de pH, pois alteram seu comportamento em diferentes meios em que são submetidos.



## 5 REFERÊNCIAS

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma as a power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239, 70–76, 1999.
- BOCANEGRA, B. B.; HIERRO, J. M. H.; BUENO, F. J. N. H. Feasibility study on the use of a portable micro near infrared spectroscopy device for the “in vineyard” screening of extractable polyphenols in red grape skins, **Talanta** 192 (2019) 353–359.
- CASTAÑEDA-OVADO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. de L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, 113(4), 859–871.
- CHOI, I.; LEE, J. Y.; LACROIX, M.; HAN, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, 218, 122-128, 2017.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. London: Academic Press, 1982. p.181-206.
- GE, J.; YUE, P.; CHI, J.; LIANG, J.; GAO, X. Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan. **Food Hydrocolloids**, 74, 23–31. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.07.029, 2018.
- GUEDES, M., C. Antocianinas: pigmento natural ou remédio. **Revista Científica do IMAPES**, p. 71-73, 2004.
- HALÁSZ, K.; CSÓKA, L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. **Food Packaging and Shelf Life**, 16(), 185–193. doi:10.1016/j.foodpsl.2018.03.002, 2018.
- HE, B.; GE, J.; YUE, P.; YUE, X.; FU, R.; LIANG, J.; GAO, X. Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. **Food Chemistry**, 221, 1671–1677. doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.120, 2017.
- JAYAPRAKASH, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chem.**, 73:285–290, 2001.
- KATO, C. TONHI, C. D. CLEMENTE, E. Antocianinas de uvas (*vitis vinifera* L.) Produzidas em sistema convencional. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. 6. 10.3895/S1981-36862012000200007, 2012.
- LEIDENS, N. **Extração, purificação e fracionamento das antocianinas do bagaço de uva**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 2011.
- LENQUISTE, S. A.; MARINELLI, R. S.; MORAES, É. A.; DIONÍSIO, A. P.; BRITO, E. S.; MARÓSTICA Jr., M. R. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model, **Food Res. Int.** 77 162–170, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>, 2015.
- LEVI, M. A.; SCARMINIO, I. S.; POPPI, R. J.; TREVISAN, M. G. Three-way chemometric method study and UV-Vis absorbance for the study of simultaneous degradation of anthocyanins in flowers of the *Hibiscus rosa-sinensis* species. **Talanta**, 62, 299-305, 2004.
- MA, Q.; WANG, L. Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 235, 401-407, 2017.
- MEZARROBA, M. E. P. **Extração de antocianina de casca de uva Isabel**. Universidade Federal de Santa Catarina. Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química. Florianópolis, 2001.
- PAES, J. **Concentração de compostos bioativos de resíduos de mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) usando extração com CO<sub>2</sub> supercrítico e nanofiltração**. Faculdade de Engenharia de Alimentos/Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2016.
- PALUDO, M. C. **Estudo da capacidade antioxidante (in vitro), quantificação das antocianinas e compostos fenólicos totais da jaboticaba sabará *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg e sua geléia**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-São Paulo, 2013.
- RAWDKUEN, S.; FASEHA, A.; BENJAKUL, S.; KAEWPRACHU, P. Application of anthocyanin as a color indicator in gelatin films. **Food Bioscience**. 36 100603, 2020.
- RECORD, I. R.; DREOSTI, I. E.; McINERNEY, J. K. Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture. **British Journal of Nutrition**, 85(04), 459, 2001.
- RIGOLON, T. C. B. **Predição do conteúdo de antocianinas, fenólicos totais e capacidade antioxidante dos frutos de amora (*Rubus* sp.), mirtilo (*Vaccinium* sp.) e casca de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) usando parâmetros colorimétricos**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-Minas Gerais, 2017.
- RODRIGUES, M. Á. V.; BERTOLO, M. R. V.; MARANGON, C. A.; MARTINS, V. C. A.; de GUZZI PLEPIS, A. M. Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jaboticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.240.
- ROMBALDI, C. V.; FERRI, V. C.; BERGAMASQUI, M.; LUCHIETTA, L.; ZANUZO, M. R. Produtividade e qualidade de uva, cv. Bordo (ives), sob dois sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 04, p. 519-521, 2004.



- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, **Methods Enzymol.** 299. 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1), 1999.
- SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B.R. Harte, Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract, **Food Hydrocoll.** 24, 770–775, 2010.
- SOBRATTEE, M., A., NEERGHEEN, V., S, LUXIMON-RAMMA, A., ARUOMA, O., I., BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutat. Res.** v. 579, p. 200-213, 2005
- TONG, C.; WU, Z.; SUN, J.; LIN, L.; WANG, L. GUO, Y.; HUANG, Z.; PANG, J. Effect of carboxylation cellulose nanocrystal and grape peel extracts on the physical, mechanical and antioxidant properties of konjac glucomannan films. **International Journal of Biological Macromolecules.** doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.051, 2020.
- YONG, H.; WANG, X.; BAI, R.; MIAO, Z.; ZHANG, X.; LIU, J. Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. **Food Hydrocolloids**, 90, 216–224, 2019.