BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY

Braz. J. Food Technol., v. 12, n. 2, p. 155-160, abr./jun. 2009
DOI: 10.4260/BJFT2009800900006

Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola

Extraction of antioxidants from agro-industrial acerola waste

Autores | Authors

Ana Carla da Silva CAETANO
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Departamento de Ciências Domésticas (DCD)
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PGCTA)
e-mail: carlla_br2004@yahoo.com.br

✉ **Enayde Almeida MELO**
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Departamento de Ciências Domésticas (DCD)
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PGCTA)
Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos
CEP: 52171-900
Recife/PE - Brasil
e-mail: eamelo@dcd.ufrpe.br

Vera Lúcia Arroxelas Galvão LIMA
Maria Inês Sucupira MACIEL
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Departamento de Ciências Domésticas (DCD)
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PGCTA)
e-mail: veraarroxelas@hotmail.com
m.ines@dcd.ufrpe.br

Cristiane Rodrigues de ARAÚJO
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Curso de Graduação em Economia Doméstica
Programa Institucinal de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC)
e-mail: cristiane_rodriguespenna@yahoo.com.br

✉ *Autor Correspondente | Corresponding Author*

Recebido | Received: 22/10/2008
Aprovado | Approved: 16/04/2009

Resumo

Com objetivo de determinar o procedimento para a extração dos polifenóis presentes em resíduo agroindustrial de acerola e investigar a sua capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foram elaborados de uma mesma amostra e com extração sequencial, extratos hidroacetônico, hidroetanólico e hidrometanólico. Os extratos obtidos, utilizando 03 ciclos de extração (20 min cada ciclo) e duas temperaturas (25 ± 2 °C e 50 ± 2 °C) para cada solvente, foram submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e da capacidade de sequestrar o radical DPPH. Dentre os extratos, independente da temperatura usada no processo de extração, destaca-se o hidroacetônico por ter apresentado o mais elevado teor de fenólicos totais. No entanto, quando utilizadas três diferentes concentrações de fenólicos totais (10, 15 e 30 $\mu g.mL^{-1}$), não foram evidenciadas diferenças na ação antioxidante entre os extratos obtidos a 25 e 50 °C, exceto o hidrometanólico na concentração de 10 $\mu g.mL^{-1}$. A cinética da reação dos extratos obtidos a 25 °C demonstrou a maior eficiência do extrato hidroetanólico, cuja ação foi semelhante a do ácido ascórbico, seguido pelo hidrometanólico e hidroacetônico. Assim, o procedimento envolvendo solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e a temperatura de 25 °C se mostrou eficaz na extração de significantes quantidades de fenólicos totais (1.780,6 a 5.954,2 µg em equivalente de catequina.mL^{-1}) e na obtenção de extratos com relevante capacidade de sequestrar o radical DPPH (>70%). O resíduo de acerola surge como uma fonte promissora de antioxidantes naturais.

Palavras-chave: *Capacidade antioxidante; DPPH; Fenólicos totais; Resíduo agroindustrial; Malpighia emarginata.*

Summary

This study was carried out to determine the procedure required to extract polyphenols from agro-industrial acerola waste, and verify their DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) scavenging capacity. For this hydroacetone hydroethanolic and hydromethanolic extracts were prepared from a single sample using a sequential extraction process. The extracts obtained using three extraction cycles (20 min each) and two temperatures (25 ± 2 °C and 50 ± 2 °C) for each solvent, were submitted to the determination of their total phenolic content and free DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) scavenging activity. Of these extracts, independent of the temperature used in the extraction process, the hydroacetone extract exhibited the highest total phenolic content. However, using three different phenolic compound concentrations (10, 15 and 30 $mg.mL^{-1}$) the antioxidant action of the extracts obtained at 25 and 50 °C were similar, except for the hydromethanolic extract with 10 µg. mL^{-1} of total phenolics. The reaction kinetics showed that of the extracts obtained at 25 °C, the hydroethanolic extract was the most efficient and its action was comparable with ascorbic acid, followed by the hydromethanolic and hydroacetone extracts. Thus the procedure involving aqueous-organic solvents, three extraction cycles and a temperature of 25 °C resulted in extracts with significant amounts of total phenolics (1,780.6 to 5,954.2 µg catechin equivalent.mL^{-1}) and extracts with good DPPH scavenging capacity (>70%), and acerola waste can be considered as a promising source of natural antioxidants.

Key words: *Antioxidant capacity; DPPH; Total phenolics; Acerola; Agro-industrial waste; Malpighia emarginata.*

1 Introdução

A acerola (*Malpighia emarginata* DC), fruto delicado e originário das Antilhas, tem grande importância nutricional por ser fonte natural de vitamina C. No entanto, além desta vitamina, outros compostos bioativos, como os polifenóis, fazem parte da composição deste fruto. Estes compostos, por possuírem propriedade antioxidante, atuam minimizando os danos oxidativos causados ao organismo pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, prevenindo doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e aterosclerose, entre outras (JACOB e BURRI, 1996).

Aliado ao aspecto nutricional e funcional do fruto, a acerola apresenta uma elevada produção e um forte potencial para industrialização, gerando resíduo agroindustrial que, geralmente, resulta em acúmulo de lixo e impacto ambiental. Vale destacar que as cascas e as sementes são frequentemente os maiores componentes de vários frutos e geralmente não recebem a devida atenção. Neste sentido, não ocorre o reaproveitamento ou a reciclagem deste material, possivelmente, em decorrência da falta de valor comercial (SOONG e BARLOW, 2004). Merece destaque, também, o teor de compostos com ação antioxidante presente nesses resíduos, pois estudos têm revelado que as cascas e as sementes de certos frutos exibem atividade antioxidante mais elevada do que a polpa, e que o perfil dos fitoquímicos antioxidantes é diferenciado nestas partes do vegetal (GUO et al., 2003; SOONG e BARLOW, 2004; AJILA et al., 2007).

Outro aspecto importante é o emprego de antioxidantes sintéticos pela indústria de alimentos, como os inibidores da oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos que os contém, cuja inocuidade tem sido questionada, aliada ao fato de que os consumidores, preocupados com a saúde, têm demonstrado interesse por produtos naturais (PESCHEL et al., 2006). Desta forma, pesquisas estão voltadas para a busca de compostos naturais que apresentem esta propriedade funcional, com vistas a substituir ou reduzir o uso dos antioxidantes sintéticos. Neste contexto, tem sido investigada a ação antioxidante de sementes de citrus (BOCCO et al., 1998); de casca de maçã (WOLFE et al., 2003); de sementes de uvas (MIELNIK et al., 2006); entre outros. Entretanto, estudos relacionados à atividade antioxidante de resíduos de frutas tropicais e subtropicais são escassos.

Frente à elevada proporção de resíduos de frutas provenientes das indústrias processadoras de polpa de frutas e ao potencial antioxidante, torna-se relevante investigar a capacidade antioxidante deste material. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar procedimento para a extração dos polifenóis presentes no resíduo de acerola e investigar sua capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

2 Material e metódos

2.1 Material

Os resíduos do fruto de acerola (casca e semente) foram cedidos, no mês de março de 2008, por uma indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife/PE. Este material, coletado diretamente da linha de produção, foi imediatamente transportado para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE onde foi submetido à secagem a 50 °C em estufa com circulação de ar, até atingir umidade igual ou inferior a 10%. Em seguida, os resíduos desidratados foram triturados em multiprocessador, passados em tamis de 80 *mesh* para obtenção de um pó uniforme, acondicionados em sacos de polietileno e mantidos sob congelamento (–18 °C) durante o desenvolvimento dos experimentos.

2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção dos extratos

Os extratos hidroacetônico, hidrometanólico, hidroetanólico e aquoso foram obtidos de uma mesma amostra por extração sequencial, utilizando-se duas temperaturas (25 ± 2 °C e 50 ± 2 °C). Uma alíquota do resíduo desidratado (20 g) foi mantida por 20 min sob agitação permanente em acetona a 80% (30 mL) nas temperaturas testadas e, em seguida, filtrada. O resíduo desta filtração foi submetido ao mesmo processo de extração por mais dois períodos de 20 min, totalizando 60 min de extração. Os filtrados resultantes foram combinados e o volume ajustado para 100 mL. O resíduo foi reutilizado para a extração com metanol a 80% e, subsequentemente, com etanol a 80% e água nas condições acima descritas. Os extratos obtidos foram acondicionados em recipientes tampados e mantidos sob congelamento (–18 °C) até o momento das análises. O processo de extração foi efetuado em triplicata.

2.2.2 Fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, utilizando reagente Folin-Ciocalteau (Merck), segundo a metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de catequina. Os resultados foram expressos em µg de fenólicos totais em equivalente de catequina por mL do extrato.

2.2.3 Atividade antioxidante

A capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) dos extratos foi determinada utilizando-se o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Miliauskas et al. (2004). Extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram

adicionados à solução de DPPH em metanol a 0,1 M, atingindo a concentração final de fenólicos totais de 10, 15 e 30 µg.mL^{-1}. Em seguida, após repouso de 20 min, a absorbância foi medida a 515 nm. A capacidade de sequestrar o radical DPPH foi expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante).

Para avaliar a cinética da reação, os extratos nas diferentes concentrações de fenólicos totais (10, 15 e 30 µg.mL^{-1}), após a adição da solução de DPPH em metanol a 0,1 M, foram monitorados através do registro da absorbância até que a reação atingisse um platô de estabilidade, e os percentuais de sequestro calculados foram plotados em função do tempo da reação.

Como termo de comparação foi utilizada a capacidade de sequestro do radical DPPH do BHT e do ácido ascórbico, determinada nas condições descritas. Todas as determinações foram efetuadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância e teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa *Statistic for Windows*.

3 Resultados e discussão

O processo de extração sequencial utilizando solventes de diferentes polaridades e três ciclos de extração para cada solvente possibilitou a extração de compostos fenólicos em quantidade variada (Tabela 1). Evidencia-se que, independente da temperatura empregada no processo de extração, a maioria dos compostos fenólicos presentes no resíduo agroindustrial de acerola foi solubilizada em acetona a 80%. É possível que a superioridade da solução de acetona na extração destes fitoquímicos não seja mantida se a ordem dos solventes de extração for alterada. No entanto, isto não ocorreu na extração de fenólicos de *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz. A solução de acetona a 70% empregada em sequência à solução hidrometanólica conseguiu extrair o maior teor desses fitoquímicos (MANIAN et al., 2008)

A eficiência da acetona, na extração de fenólicos totais, também foi constatada por Xu e Chang (2007) ao evidenciarem que, em algumas variedades de ervilha, a acetona a 50% extraiu a maior quantidade destes compostos, enquanto que em lentilha, soja e duas variedades de feijão, os polifenóis foram mais eficientemente extraídos com acetona a 80%. Em cascas desidratadas de uma variedade de tubérculo (*Dioscorea alata)*, o etanol a 50% foi mais eficiente na extração dos fenólicos totais, e os compostos presentes em cascas de duas variedades de mangas foram mais bem extraídos com acetona a 80% (CHUNG et al., 2008; AJILA et al., 2007). Em resíduos agroindustriais de alcachofra, tomate e brócolis a maior extração de fenólicos também foi obtida com acetona a 80%, porém o metanol a 50% e o etanol a 50% foram mais eficazes na extração de fenólicos de resíduos agroindustriais de maçã, morango, pepino e chicória (PESCHEL et al., 2006).

A solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente é uma característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento universal e aponta para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante. Neste sentido, considerando que nos vegetais há polifenóis com polaridade diversificada, recomenda-se o uso de solventes com diferentes polaridades de modo a possibilitar a extração eficiente destes constituintes. Soluções aquosas de etanol, metanol e acetona, entre outras, são frequentemente usadas, em diferentes concentrações, e sua eficácia dependerá da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como do grau de polimerização e da interação com outros constituintes (NACZK e SHAHIDI, 2004). Pérez-Jiménez et al. (2008) ressaltam que para a eficiência do processo de extração deve-se combinar pelo menos dois ciclos de extração, utilizando-se soluções de solventes orgânicos aquosos, com diferentes polaridades, de modo a extrair compostos com diferentes estruturas químicas.

Estatisticamente, não houve diferença entre os teores de fenólicos totais dos extratos hidroetanólico e hidrometanólico, porém o extrato aquoso exibiu a menor concentração destes constituintes, sendo, portanto, eliminado. A temperatura de 50 °C não incrementou a extração dos polifenóis, indicando como adequado o processo de extração efetuado a 25 ± 2 °C.

Segundo Spigno et al. (2007), de maneira geral, o tempo e a temperatura de extração são parâmetros a serem aperfeiçoados a fim de diminuir o tempo e custo do processo de extração. Alguns autores, embora

Tabela 1. Teor de fenólicos totais em extratos de resíduo agroindustrial de acerola obtido por três ciclos de extração sequencial para cada solvente e duas temperaturas (25 ± 2 °C e 50 ± 2 °C).

Temperatura de extração (°C)	Fenólicos totais (µg em equivalente catequina.mL^{-1})			
	Extrato hidroacetônico (80%)	Extrato hidrometanólico (80%)	Extrato hidroetanólico (80%)	Extrato aquoso (100%)
25	5.954,2^{aA}	1.408,4^{bA}	1.780,6^{bA}	922,17^{cA}
50	5.305,6^{aA}	1.248,3^{bA}	1.654,6^{bA}	952,73^{cA}

Os valores referem-se à média de três determinações; e médias seguidas por letras maiúsculas iguais, nas colunas, e minúsculas iguais, nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

concordem que a temperatura poderá favorecer a extração de alguns compostos, dentre eles os fenólicos, ressaltam que também poderá desencadear a sua degradação com possível prejuízo da ação antioxidante (YILMAZ e TOLEDO, 2006; PINELO et al., 2005).

Dentre os métodos químicos empregados para avaliar a atividade antioxidante, aquele que investiga a capacidade do composto ou do extrato em sequestrar o radical DPPH tem sido amplamente utilizado, por ser prático e rápido (BRAND WILLIAMS et al., 1995; BONDET et al., 1997; SANCHEZ-MORENO et al.,1998; ESPIN et al., 2000). Sendo assim, alíquotas de cada um dos extratos foram submetidas ao ensaio do DPPH. Inicialmente, foi investigado o efeito da temperatura empregada no processo de extração sobre a ação antioxidante dos extratos, cujo percentual de sequestro, atingido aos 20 min da reação, é apresentado na Tabela 2. Ao comparar a capacidade de sequestro dos extratos, obtidos a 25 e 50 °C, contendo a mesma concentração de fenólicos totais, evidencia-se que apenas o extrato hidrometanólico, na concentração de 10 μg.mL^{-1}, apresentou diferença significativa. Neste caso, o extrato obtido à temperatura de 50 °C exibiu significativamente maior percentual de sequestro do que o extrato obtido a 25 °C. O hidroetanólico, independente da concentração e da temperatura de obtenção do extrato, exibiu a maior capacidade de sequestro do radical DPPH. Assim, evidencia-se que a temperatura de obtenção dos extratos não influenciou de forma marcante a ação antioxidante dos extratos, corroborando para indicar como ideal o processo de extração efetuado a 25 °C.

Os extratos obtidos por extração a 25 °C foram analisados quanto à cinética da reação (Figura 1). A análise dos dados permite evidenciar que o extrato hidroetanólico, nas três concentrações, exibiu o mais elevado percentual de sequestro, estatisticamente igual ao do ácido ascórbico. Este extrato, aos 10 min da reação, atingiu valores superiores a 90% de sequestro do radical DPPH. Os extratos hidroacetônico e hidrometanólico exibiram capacidade antioxidante semelhante entre si, e os percentuais de sequestro do radical DPPH, nos primeiros minutos de reação, foram inferiores a 50%, atingindo, aos 70 min da reação, valores superiores a

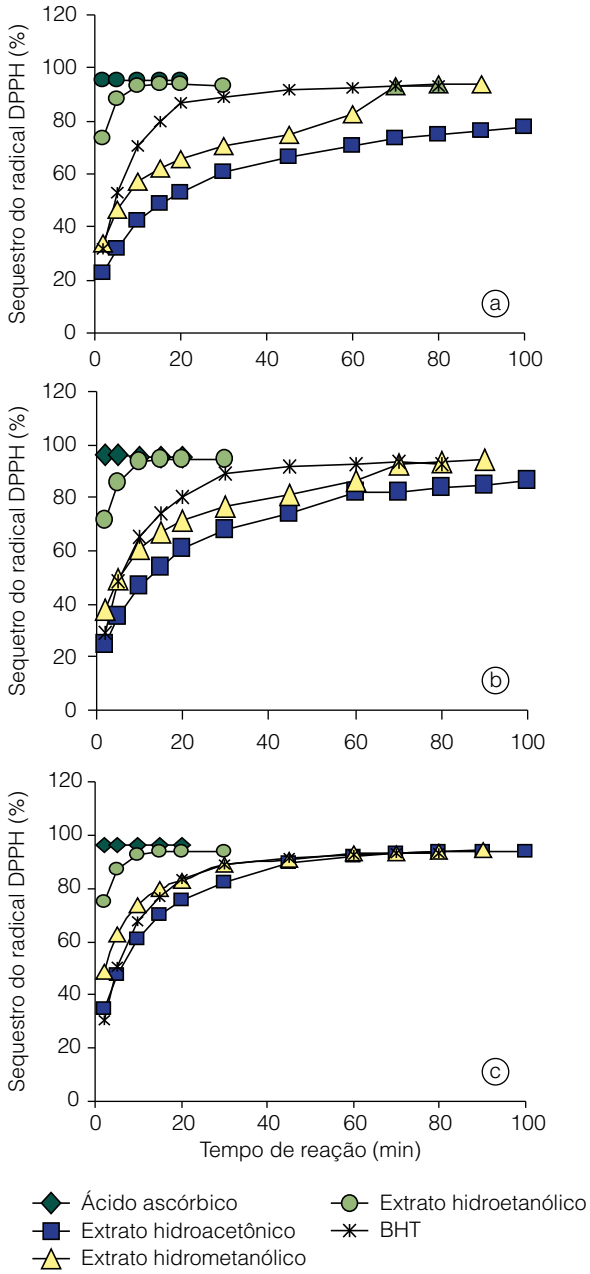

Figura 1. Cinética da capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos hidroacetônico, hidrometanólico e hidroetanólico de resíduo agroindustrial de acerola e do ácido ascórbico e BHT, como controle, na concentração final de 10 μg.mL^{-1} (a); de 15 μg.mL^{-1} (b) e de 30 μg.mL^{-1} (c) de fenólicos totais, obtidos com três ciclos de extração a 25 °C.

Tabela 2. Capacidade de sequestro do radical DPPH (%) pelos extratos hidroacetônico, hidroetanólico e hidrometanólico de resíduo agroindustrial de acerola obtida com três ciclos de extração e duas temperaturas (25 e 50 °C).

Extratos	10 μg.mL^{-1}		15 μg.mL^{-1}		20 μg.mL^{-1}	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
Hidroacetônico	52,99^{b}	59,39^{b}	60,79^{b}	73,01^{ab}	75,43^{ab}	90,13^{a}
Hidrometanólico	65,86^{b}	92,81^{a}	71,23^{ab}	92,68^{a}	83,11^{ab}	91,08^{a}
Hidroetanólico	93,78^{a}	94,30^{a}	94,10^{a}	93,52^{a}	93,65^{a}	91,00^{a}

Percentual de sequestro exibido pelos extratos aos 20 min de reação; os valores referem-se à média de três determinações; e médias do mesmo extrato, contendo a mesma concentração de fenólicos totais, seguidas de pelo menos uma letra minúscula igual, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

80%. A ação destes dois extratos foi inferior a do BHT que, embora tenha também exibido nos primeiros minutos da reação percentual de sequestro abaixo de 50%, atingiu aos 20 min percentual superior a 80%. Assim, considerando que o tempo de reação é um parâmetro importante na avaliação da capacidade antioxidante (SÁNCHEZ-MORENO et al.,1998), pode-se afirmar que o extrato hidroetanólico é mais eficiente em sequestrar o radical DPPH do que o hidrometanólico e o hidroacetônico.

A eficiência do extrato hidroetanólico dos resíduos de acerola foi superior a de outros resíduos relatados na literatura. O extrato aquoso e etanólico de bagaço do pendúculo do caju, nas concentrações de 0,25 e 0,50 mg, após 30 min, exibiram capacidade de sequestro do radical DPPH superior a 80%, enquanto que na concentração de 0,125 mg esta ação foi de 54 e 57%, respectivamente (BROINIZI et al., 2007). Nadhlala et al.(2008), averiguando a capacidade de sequestro do radical DPPH de extrato da casca de alguns frutos (*Flacourtia* indica, *Uapaca kirkiana* e *Ziziphus mauriatina*), detectaram que, aos 20 min da reação, o percentual de sequestro foi de 7,50%; 7,00% e 6,85%, respectivamente. Assim, evidencia-se que os extratos dos resíduos agroindustriais de acerola, em especial o hidroetanólico, exibem um forte potencial antioxidante. No entanto, estudos adicionais são necessários para testar a ação antioxidante destes extratos em outras condições experimentais.

4 Conclusões

O procedimento metodológico que envolve solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e temperatura de 25 ± 2 °C mostrou-se eficaz para extrair quantidade significativa de polifenóis a partir de resíduos de acerola. Todos os extratos exibiram ação antioxidante, com destaque para o extrato hidroetanólico que se mostrou mais eficiente em sequestrar o radical DPPH. Frente ao potencial antioxidante exibido, resíduos de acerola surgem como uma fonte promissora de antioxidante natural.

Agradecimentos

Ao CNPq (Edital MCT/CNPq 15/2007-Universal) pelo auxílio financeiro.

Referências

AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, Washington, v. 102, n. 4, p. 1006-1011, 2007.

BOCCO, A.; CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 6, p. 2123-2129, 1998.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v. 30, n. 6, p. 609-615, 1997.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WHARTA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. L.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (Anacartium occidentale L.). **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

CHUNG, Y. C.; CHIANG, B. H.; WEI, J. H.; WANG, C. K.; CHEN, P. C.; HSU, C. K. Effects of blanching, drying and extraction processes on the antioxidant activity of yam (*Dioscorea alata*). **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 5, p. 859-864, 2008.

ESPIN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 5, p. 1588-1592, 2000.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, Washington, v. 23, n. 12, p. 1719-1726, 2003.

JACOB, R. A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Clinical Nutrition,** Bethesda, v. 63, n. 6, p. 985-990, 1996.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidante activity and free radical scavenging potencial of two different solvent extracts os *Camellia sinensis* (L) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, Washington, v. 107, n. 3, p. 1000-1007, 2008.

MIELNIK, M. B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELINE, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v. 39, n. 3, p. 191-198, 2006.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, Washington, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NADHLALA, A. R.; CHITINDINGU, K.; MUPURE, C.; MURENJE, T.; NADHLALA, F.; BENHURA, M. A.; MUCHUWETI, M. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Diospyros mespiliformia* (jackal Berry), *Flacourtia indica*(Batoka plum), *Uapaca kirkiana* (wild ioquat) and *Ziziphus mauritiana* (yellow Berry) fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 2, p. 284-288, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GONI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Toronto, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, Washington, v. 97, n. 1, p. 137-150, 2006.

PINELO, M.; RUBILAR, M.; JEREZ, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 6, p. 2111-2117, 2005.

SANCHEZ-MORENO, C.; LAURRAURI, J. A.; SAURA–CALIXTO, F. A. Procedure to measure the anti-radical efficiency of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 76, n. 10, p. 270-276, 1998.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, Washington, v. 88, n. 3, p. 411-417, 2004.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, Davis, v. 81, n. 1, p. 200-208, 2007.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 5, p. 1801-1812, 1999.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, v. 51, n. 3, p. 609-614, 2003.

XU, B. J.; CHANG, S. K. C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 159-166, 2007.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis,** Rome, v. 19, n. 1, p. 41-44, 2006.